

YNARA BOSCO DE OLIVEIRA LIMA ARSATI

**A UNHA COMO INDICADOR BIOLÓGICO DE
EXPOSIÇÃO A FLUORETO PARA PREVER
RISCO DE FLUOROSE DENTAL**

Tese apresentada à Faculdade de
Odontologia de Piracicaba, da Universidade
Estadual de Campinas, para obtenção de
título de Doutor em Odontologia, Área de
Cariologia.

**PIRACICABA
2003**

YNARA BOSCO DE OLIVEIRA LIMA ARSATI

**A UNHA COMO INDICADOR BIOLÓGICO DE
EXPOSIÇÃO A FLUORETO PARA PREVER
RISCO DE FLUOROSE DENTAL**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba, da Universidade Estadual de Campinas, para obtenção de título de Doutor em Odontologia, Área de Cariologia.

Orientador: Prof. Dr. Jaime A. Cury

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Jaime A. Cury
Prof. Dr. José Mauro Granjeiro
Profa. Dra. Maria da Luz Rosário de Souza
Prof. Dr. Paschoal Laércio Armonia
Prof. Dr. Pedro Luiz Rosalen

**PIRACICABA
2003**

Ficha Catalográfica

Ar71u

Lima-Arsati, Ynara Bosco de Oliveira.

A unha como indicador biológico de exposição a fluoreto para prever risco de fluorose dental. / Ynara Bosco de Oliveira Lima Arsati. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2003.

vii, 77f. : il.

Orientador : Prof. Dr. Jaime A. Cury.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Flúor. 2. Fluorose dentária. 3. Biomarcadores. 4. Água – Fluoretação – Brasil. 5. Dentifrícios. I. Cury, Jaime A. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

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

DEDICATÓRIA

Aos meus queridos pais Elza e Sebastião, que me ensinaram o valor do estudo e me incentivaram sempre a seguir em frente;

ao meu querido marido Franco, por nosso amor e companheirismo,
que tanto me ajudaram a ter mais força e segurança;

à minha querida irmã Mariana, pelo seu apoio incondicional, mesmo de longe,

dedico este trabalho.

AGRADECIMENTOS

Agradeço especialmente ao Prof. Jaime Cury, pela orientação sábia, e a quem sempre admirarei, pela inteligência, integridade e generosidade.

"A razão cardeal de toda superioridade humana é, sem dúvida, a vontade. O poder nasce do querer. Sempre que um homem aplica a veemência e a perseverante energia de sua alma a um fim, ele vencerá os obstáculos, e se não atingir o alvo, fará pelo menos coisas admiráveis". (J. A.)

À Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, na pessoa de seu Magnífico Reitor, Prof. Dr. Carlos Henrique de Brito Cruz.

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba - FOP, na pessoa de seu Diretor, Prof. Dr. Thales Rocha de Mattos Filho.

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP, pela concessão da bolsa de Doutorado (Processo nº 99/12239-9).

Ao Coordenador Geral dos Cursos de Pós-Graduação da FOP, Prof. Dr. Lourenço C. Sobrinho.

À Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da FOP, Profa. Dra. Maria Cristina Volpato.

Aos professores Altair Antoninha Del Bel Cury, Cíntia Pereira Machado Tabchoury, Maria Cristina Volpato, Maria da Luz Rosário de Souza e Pedro Luiz Rosalen, pela valiosa colaboração não só durante os exames de Pré-Qualificação e Qualificação, mas também durante o curso.

À Profa. Dra. Marília Afonso Rabelo Buzalaf, pela gentileza no ensinamento de uma nova técnica analítica.

À Profa. Gláucia M. Bovi Ambrosano, pelo auxílio na análise estatística dos resultados.

À Aliete Adeli Otta Rui, pela oportunidade de trabalharmos juntas.

À Lília Alves Rocha, pela valiosa ajuda e maravilhosa convivência.

Aos técnicos do Laboratório de Bioquímica Oral, Mariza de Jesus Carlos Soares, José Alfredo da Silva e Waldomiro Vieira Filho, pelo auxílio laboratorial e por tornarem o nosso dia a dia tão agradável.

Às secretárias da Coordenadoria de Pós Graduação da FOP, Érica Alessandra Pinho e Sônia Maria Lordello Arthur, pela boa vontade e simpatia .

À Maria Elisa dos Santos, querida secretária do PPG em Odontologia da FOP.

À Eliete Righetto, atenciosa secretária do Departamento de Ciências Fisiológicas da FOP.

À Heloísa Maria Ceccotti e Marilene Girello, responsáveis pela Biblioteca da FOP.

À Cátia H. Zambello Santos, Diretora da Creche da FOP e Irene Corazza, Diretora da Creche São Vicente de Paulo, por permitirem e apoiarem a realização dos estudos.

Aos funcionários das creches, pais e crianças, pela fundamental colaboração.

À Lívia Andaló Tenuta, pela ajuda com as fotos.

Ao Guto, pelos momentos de descontração, pelo apoio e pela amizade.

À minha querida tia Belinha, pelo incentivo.

Aos amigos do Laboratório de Bioquímica Oral, Adriana, Carol Aires, Cecília, Celso, Giovana, Léa, Lívia, Mitsue, Nilza, Paulo, Roberta, Rosane, Silvana, pelos momentos tão agradáveis, mesmo durante a correria diária.

Sumário

RESUMO	1
ABSTRACT	2
1. INTRODUÇÃO	3
2. REVISÃO DA LITERATURA	6
3. METODOLOGIA	21
4. RESULTADOS	42
5. DISCUSSÃO	52
6. CONCLUSÃO	57
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	58
ANEXOS	65

Resumo

O objetivo deste trabalho foi avaliar se a unha poderia ser utilizada como indicador biológico de exposição ao fluoreto para prever o risco de fluorose dental. Dois estudos foram realizados com crianças na faixa etária crítica para o desenvolvimento de fluorose. O Estudo I verificou a relação entre concentração de fluoreto nas unhas e na água de abastecimento de três localidades paulistas: Cordeirópolis (n = 17), Piracicaba (n = 20) e Assistência (n = 16), que possuem respectivamente 0,03, 0,64 e 1,53 µg F/mL na água. O Estudo II avaliou, em crianças de Piracicaba (n = 23), se a unha poderia diferenciar a exposição ao fluoreto pela dieta e dentifrício. O fluoreto das amostras da dieta e unhas foi extraído através da microdifusão facilitada por HMDS. Nos produtos da escovação e nos dentifrícios foi feita a determinação direta da concentração de fluoreto. Todas as análises foram feitas com eletrodo íon-específico. Os resultados do Estudo I foram: $1,65 \pm 1,03^a$; $2,85 \pm 1,54^b$ e $4,14 \pm 1,91^c$ µg F/g, respectivamente nas unhas das crianças de Cordeirópolis, Piracicaba e Assistência ($p < 0,01$). No estudo II, as doses foram $0,084 \pm 0,032^a$ (exposição ao F pela dieta + dentifrício) e $0,040 \pm 0,009^b$ mg F/kg/dia (exposição ao F apenas pela dieta) ($p < 0,01$); e as concentrações de F nas unhas formadas sob exposição ao F pela dieta + dentifrício ou apenas pela dieta foram respectivamente de $2,64 \pm 0,91^a$ e $2,80 \pm 0,94^a$ µg F/g ($p = 0,1805$). Os dados sugerem que a unha pode ser um indicador para diferenciar a exposição a fluoreto pela água de abastecimento consumida, mas não pelo dentifrício.

Abstract

The aim of the present work was to evaluate fingernails as a biomarker of fluoride exposure in order to preview dental fluorosis risk. Two studies were conducted with children in the critical age for dental fluorosis development. Study I: it verified the relationship between fluoride concentration in fingernails and in the public water supply, from three communities of São Paulo State, Cordeirópolis (n = 17), Piracicaba (n = 20) and Assistência (n = 16), with respectively 0.03, 0.64 and 1.53 µg F/ mL in water. Study II: it evaluated if fingernail could differentiate fluoride exposure from diet and dentifrice, in children living at Piracicaba (n = 23). Fluoride from diet and fingernails samples was extracted by HMDS-facilitated diffusion. Fluoride concentrations in dentifrice and dentifrice recovery samples were directly determined. For all analyses, a fluoride specific electrode was used. The results from Study I were: 1.65 ± 1.03^a ; 2.85 ± 1.54^b and 4.14 ± 1.91^c µg F/g, respectively in nails of children from Cordeirópolis, Piracicaba and Assistência (p < 0.01). In Study III, fluoride doses from diet + dentifrice and just from diet were respectively 0.084 ± 0.032^a and 0.040 ± 0.009^b mg F/kg/day (p < 0.01). Fluoride concentrations in nails formed under F exposure from diet + dentifrice and diet were respectively 2.64 ± 0.91^a and 2.80 ± 0.94^a µg F/g (p = 0.1805). Data suggest that fingernails can be used as a biomarker of fluoride exposure from public water supply, but not for fluoride exposure from dentifrice.

1. INTRODUÇÃO

A ampla utilização do fluoreto foi fator fundamental para o declínio da cárie relatado mundialmente, tanto nos países desenvolvidos (BRATTHALL, 1996), quanto nos em desenvolvimento (NARVAI et al., 1999). Entretanto a sua utilização tem sido acompanhada de um aumento na prevalência de fluorose dental (SZPUNAR & BURT, 1987; CLARK, 1994).

Fluorose dental é um defeito de formação do esmalte, resultante da ingestão de fluoreto durante o desenvolvimento do dente (HOLLOWAY & ELLWOOD, 1997). Sua maior relevância é no aspecto estético, quando ocorre em incisivos superiores permanentes. Estes são mineralizados principalmente entre os 20 e 30 meses de idade (EVANS, 1997), o que torna esta faixa etária crítica para o desenvolvimento de fluorose dental. Também deve ser ressaltado que, nesta idade, as crianças já começaram a escovar os dentes (DOWELL, 1981), deglutindo inadvertidamente considerável quantidade de dentífrico durante a escovação (SIMARD et al., 1989; LIMA & CURY, 2001).

O comprometimento estético depende da dose a que a criança é submetida, pois a relação entre dose de fluoreto e fluorose é linear (FEJERSKOV et al., 1990). Desta maneira, torna-se importante monitorar a ingestão e a absorção de fluoreto. Nesse contexto surgem os marcadores ou indicadores biológicos, que são amostras de material biológico que podem refletir a exposição do organismo à

determinada substância, determinar relações de dose-resposta e até mesmo estimar riscos (DeCAPRIO, 1997). Cada material orgânico pode refletir uma exposição ao fluoreto referente a diferentes períodos, em função do metabolismo. O plasma, a saliva ductal e a urina podem refletir exposição recente, enquanto uma exposição crônica ao fluoreto pode ser refletida pelo osso e dentina. Em 1985, SCHAMSCHULA et al. consideraram também a unha e o cabelo como bons indicadores de exposição crônica, além de serem facilmente coletados. Mais recentemente, WHITFORD et al.(1999b) relataram que a concentração de fluoreto nas unhas estava diretamente relacionada à concentração de fluoreto na água de abastecimento, num estudo realizado com crianças entre 6 e 7 anos de idade. E que uma ingestão adicional de fluoreto por um adulto, representando uma alteração na dose de 0,04 mg F/kg, foi refletida pela unha.

Entretanto ainda não foi demonstrada a relação entre concentração de fluoreto nas unhas e na água, com crianças na faixa etária crítica para o desenvolvimento da fluorose dental, que é de 20 a 30 meses de idade. Isso seria relevante, principalmente em regiões em que a água de abastecimento não atinge toda a população e esta acaba consumindo água de diversas fontes, com diversas concentrações de fluoreto.

Em acréscimo, a água fluoretada não é mais a única fonte de exposição sistêmica coletiva ao fluoreto, como era até a década de 70, mesmo no Brasil (PAIVA et al., 2003). No presente, os dentifícios fluoretados têm tido participação significativa

(PENDRYS et al., 1996; LIMA & CURY, 2001). Por isso, também se torna importante verificar a relação entre concentração de fluoreto nas unhas e dose de exposição ao mesmo, considerando as múltiplas fontes de exposição ao fluoreto.

A capacidade da unha em refletir variações na exposição ao fluoreto seria importante para se considerá-la como um indicador biológico confiável, a fim de utilizá-la para prever o risco de fluorose dental em indivíduos vulneráveis, podendo-se inclusive tomar medidas para reduzir a ingestão de fluoreto e, quem sabe, reduzir a prevalência de fluorose nos dentes permanentes.

Desta maneira o presente trabalho teve como objetivo avaliar a unha como indicador biológico de exposição crônica/ sub-crônica a fluoreto, para prever risco de fluorose dental. Para isso, foram realizados dois estudos com os seguintes objetivos específicos:

- ☆ Estudo 1: verificar se há relação entre a concentração de fluoreto na água de abastecimento e nas unhas de crianças, residentes em três localidades brasileiras, com diferentes concentrações de fluoreto na água;
- ☆ Estudo 2: verificar se a unha pode ser indicador biológico para diferenciar a somatória da exposição a fluoreto pela água mais dentifício fluoretados.

2. REVISÃO DA LITERATURA

Nesta Revisão da Literatura, serão abordados os temas abaixo relacionados :

2.1 FLUORETOS E FLUOROSE DENTAL

2.2 INGESTÃO DE FLUORETOS: MÚLTIPLAS FONTES E FATORES A CONSIDERAR

2.3 INDICADORES BIOLÓGICOS DE EXPOSIÇÃO A FLUORETOS

2.4 UNHA COMO INDICADOR BIOLÓGICO DE EXPOSIÇÃO CRÔNICA/ SUB-CRÔNICA A FLUORETOS

2.1 FLUORETOS E FLUOROSE DENTAL

Fluorose dental é um defeito do esmalte resultante da ingestão de fluoreto durante o período de desenvolvimento do dente (HOLLOWAY & ELLWOOD, 1997). É o único efeito colateral conhecido associado à exposição freqüente ao fluoreto em baixas doses. Ela é decorrente de um distúrbio de desenvolvimento de natureza sistêmica, podendo afetar os dentes decíduos e permanentes em seu estágio formativo (fase secretória) ou de maturação (mineralização) (EKSTRAND, 1989). Segundo CLARK (1994), a fluorose dental está associada a altas concentrações teciduais de fluoreto durante a formação do dente, que resultam numa hipomineralização de esmalte. A severidade da fluorose está diretamente relacionada à dose de exposição ao fluoreto.

A presença do fluoreto inibe parcialmente as enzimas responsáveis pela clivagem das amelogeninas (principais proteínas da matriz do esmalte). Assim, há um

atraso na remoção das proteínas durante a maturação do esmalte, prejudicando a sua subsequente substituição por minerais, resultando em alterações na morfologia do mesmo (BAWDEN et al., 1995; AOBA, 1997).

Clinicamente, o esmalte fluorótico é caracterizado por estriações brancas e opacas quase imperceptíveis, que podem fundir-se formando faixas e chegando a possuir cavitações (perda de estrutura hipomineralizada) e pigmentação (devido à porosidade aumentada).

Histologicamente, o esmalte fluorótico é caracterizado por uma subsuperfície hipomineralizada recoberta por uma superfície normalmente mineralizada (FEJERSKOV et al., 1990). A fluorose afeta os dentes em desenvolvimento, sendo o período de maturação do esmalte (mineralização) crítico para o seu desenvolvimento. Desta maneira, torna-se importante monitorar a ingestão de fluoreto durante o mesmo (BURT, 1992).

Em termos de fluorose clinicamente aceitável (categorias muito leve e leve, do índice de Dean), o problema é muito mais estético que de saúde, apesar de alterar a estrutura do esmalte. Então a preocupação é com a sua ocorrência nos dentes anteriores superiores permanentes, cuja maturação ocorre entre o segundo e terceiro ano de vida (BURT, 1992). Segundo a Organização Mundial de Saúde (WORLD HEALTH ORGANIZATION - WHO, 1994), o período entre 18 e 36 meses de idade é crítico para fluorose dental, em termos estéticos, pois corresponde a um estágio de transição entre o fim da fase secretória e início da fase de

maturação dos incisivos permanentes. Já EVANS & DARVELL (1995), em estimativas mais precisas, afirmaram que os incisivos centrais superiores são mais susceptíveis à fluorose entre 15 e 24 meses para crianças do sexo masculino e entre 21 e 30 meses para crianças do sexo feminino. Posteriormente, EVANS (1997) considerou a faixa etária de 20 a 30 meses a de maior risco para o desenvolvimento de fluorose dental nos incisivos superiores permanentes .

Mundialmente é relatada uma redução de cárie dental e, paralelamente, um aumento na prevalência de fluorose dental em relação aos dados de Dean, na década de 1940 (SZPUNAR & BURT, 1987; CLARK, 1994). Segundo LEVERETT (1991), este aumento na prevalência não foi acompanhado, entretanto, por um aumento na sua severidade, predominando as formas leve e muito leve. Já LEWIS & BANTING (1994) afirmam que tanto a prevalência quanto a severidade de fluorose aumentaram desde 1945, quando implantou-se fluoretação da água. O registro destes fatos é mais abundante na América do Norte, onde se pode efetivamente verificar redução de cárie e aumento de fluorose. É importante ressaltar a inexistência de estudos epidemiológicos longitudinais sobre fluorose dental, no Brasil em geral, impossibilitando afirmar que esta tenha efetivamente aumentado no país. Observam-se indivíduos com fluorose nas formas moderada e severa em locais de fluorose endêmica, devido à alta concentração de fluoreto nas fontes naturais de água (CANGUSSU et al., 2002).

A redução de cárie e aumento de fluorose foram verificados tanto em regiões com água de abastecimento otimamente fluoretada, quanto nas com níveis desprezíveis de fluoreto (BURT, 1992; PENDRYS, 1995; PEREIRA et al., 1998).

Isso pode evidenciar o fato de que a água fluoretada não é mais a única fonte de fluoreto, como na época de Dean (HELLER et al., 1997). O uso de suplementos e dentifrícios fluoretados, bem como o consumo de alimentos contendo fluoreto (naturalmente ou após o preparo com água fluoretada), mesmo em regiões sem água fluoretada (caracterizando o efeito 'halo' ou de dispersão), podem estar contribuindo para o aumento da fluorose (SILVA & REYNOLDS, 1996) e devem, portanto, ser considerados na determinação da dose diária de exposição ao fluoreto.

Dependendo da sociedade em questão, os níveis de fluorose serão considerados ou não um problema de saúde pública (FEJERSKOV et al., 1990). No Brasil, a fluorose dental deve ser objeto de vigilância, porém não pode ser considerado um problema grave (CANGUSSU et al., 2002). Um estudo recente em escolares de Piracicaba mostrou que a fluorose dental apresentada pelos mesmos, independente da severidade, não lhes causou qualquer incômodo, ao contrário de dentes "amarelados ou tortos" (MENEZES et al., 2002).

Considera-se que a fluorose dental decorrente de água 'otimamente' fluoretada não tem significado em termos de saúde pública. É esperada uma certa prevalência, porém nas formas muito leve e leve, sem prejuízos estéticos.

Atualmente, cerca de 77% dos municípios brasileiros recebem água tratada e cerca de 33% recebem água fluoretada.

2.2 INGESTÃO DE FLUORETOS: MÚLTIPLAS FONTES E FATORES A CONSIDERAR

Qualquer utilização de fluoreto por crianças, seja sistêmica ou tópica, resulta em ingestão e absorção do mesmo, sendo relevante em relação à fluorose dental (FEJERSKOV et al., 1990).

Tendo como base os dados de DEAN et al. (1942), considerou-se que a relação entre concentração de fluoreto na água e fluorose dental obedecia a uma escala logarítmica. Desta maneira, somente em concentrações acima de 1,0 ppm F na água haveria aumento considerável de fluorose (HODGE, 1950).

Mas, reavaliando estes mesmos dados e outros mais recentes, FEJERSKOV et al. (1990) verificaram que existia uma relação linear entre concentração de fluoreto na água e fluorose. Assim, não existe um valor crítico abaixo do qual o efeito do fluoreto no esmalte não se manifestará. Os autores também calcularam a dose de exposição ao fluoreto proveniente da ingestão de água com diferentes concentrações de fluoreto, utilizando-se da fórmula de GALAGAN & VERMILLION (1957). Através destes cálculos, concluíram que para cada aumento de 0,01 mg F/kg de peso corpóreo, na dose, espera-se um aumento de 0,2 no índice de fluorose da comunidade (IFC). Isso significa que qualquer ingestão de fluoreto acarreta em fluorose, sendo a manifestação dependente da dose. E que mesmo pequenas

variações nesta podem afetar significativamente o índice de fluorose da comunidade, que considera tanto a prevalência quanto a sua severidade. Desta maneira é importante conhecer e monitorar todas as formas de ingestão de fluoreto, bem como os fatores que interferem na mesma. Por outro lado, esta relação dose-resposta foi estimada e não determinada, devendo ser considerada com ressalvas.

Além da dose de exposição ao fluoreto, a manifestação de fluorose depende diretamente da duração desta exposição e do estágio de desenvolvimento dental, já que afeta os dentes em formação.

A dose de fluoreto ideal em termos de controle e prevenção de cárie não é definida, já que depende da sua ação tópica, mesmo que utilizado sistemicamente. Tampouco foi definida a dose em que os benefícios do fluoreto ocorram sem causar fluorose (GUHA-CHOWDHURY et al., 1996). Sendo o fluoreto sistêmico necessário, BURT (1992) considera adequada, apesar de empiricamente estabelecida, a faixa de exposição de 0,05 a 0,07 mg F/ kg/ dia. Estes valores têm sido os mais utilizados em termos de dose-limite, considerando o risco de fluorose dental. Porém, não há dados experimentais sobre os mesmos, devendo ser vistos com cautela.

O fluoreto pode ser ingerido direta (água, comprimidos, sal) ou indiretamente (dentifrícios, bochechos deglutidos durante o uso). As fontes de fluoreto mais comuns, ou seja, a que a maioria das crianças está exposta, são a água (incluída

na dieta) e os dentifrícios fluoretados. Para determinar a dose total diária de exposição ao fluoreto é adequado, portanto, considerar a ingestão do mesmo através da água/ dieta e dos dentifrícios fluoretados.

Em termos populacionais, uma única fonte de fluoreto isolada, seja água 'otimamente' fluoretada, suplementos adequadamente prescritos, dentifrícios ou alimentos, dificilmente será preocupante em termos de fluorose clinicamente aceitável. O perigo está na associação destas fontes (CLARK et al., 1994; SHULMAN et al., 1995).

BRUNETTI & NEWBRUN (1983) determinaram a ingestão diária de fluoreto através da alimentação por crianças entre 3 e 4 anos de idade, fazendo a coleta da dieta-duplicada. Verificaram uma ingestão diária de 0,33 mg F, que corresponde a uma dose aproximada de 0,02 mg F/ kg. Dose semelhante (0,019 mg F/ kg/ dia) foi encontrada por GUHA-CHOWDHURY et al. em 1996, através da coleta da dieta duplicada em regiões de água 'otimamente' fluoretada. Já em regiões com pouco fluoreto na água, esta dose foi 0,008 mg F/ kg/ dia. Os autores observaram que o método da dieta-duplicada resulta em doses bem menores que as obtidas através de estimativas (diários de dieta e tabelas de consumo de alimentos).

Por outro lado, o uso precoce de dentifrícios fluoretados por crianças pequenas (menores que 14 meses de idade) é um fator de risco para fluorose dental (WANG

et al. 1997), visto que estas deglutem grande parte do dentífrico por não conseguirem expectorar adequadamente.

HARGREAVES et al. (1972) estudaram a ingestão de dentífricos durante a escovação por crianças entre 4 e 6 anos. Sua metodologia foi a do “princípio da diferença”, considerando ingerido todo o fluoreto que não foi recuperado (expectorado e restante na escova). Porém este método pode superestimar a ingestão pois todo o dentífrico perdido (retido no rosto, na pia...) é considerado como ingerido. Outro método é através da coleta de materiais que funcionam como indicadores biológicos de exposição aguda ao fluoreto, como urina e fezes; porém este método, além de certa não-praticidade de coleta, pode subestimar a ingestão de fluoreto pois este pode ficar retido no organismo. O autor sugere que a real ingestão de fluoreto durante a escovação deve ser em valores intermediários aos determinados por estas duas metodologias.

Em 1974, BARNHART et al. utilizaram-se de metodologia semelhante e verificaram que, em média, crianças de 2 a 4 anos utilizaram 0,86 g de dentífrico e ingeriram 34,9% do dentífrico inicialmente colocado na escova.

PAIVA & CURY (2001), em seu estudo de ingestão de fluoreto por crianças na idade de risco para fluorose dental, verificaram que escovando em média 2,2 vezes ao dia os dentes, utilizando 0,52 g de dentífrico e ingerindo 64,4% deste, as crianças estavam sendo submetidas a uma dose de 0,061 mg F/kg através dos dentífricos fluoretados. E também que esta dose, que estava correlacionada tanto

à frequência diária de escovação quanto à quantidade de dentífrico utilizada, sozinha já contra-indicava a suplementação de fluoreto.

A ingestão inadvertida de fluoreto por crianças pequenas através dos dentífricos foi considerada fator de risco para fluorose dental, em regiões com ou sem água fluoretada. São agravantes a utilização precoce e excessiva de dentífricos pois quanto mais nova for a criança, mais estará propensa a ingeri-lo. NACCACHE et al. (1992) observaram que a idade, quantidade de dentífrico utilizada e enxágüe (ou não) da boca após a escovação explicaram, juntos, 66% da variação na quantidade de fluoreto ingerida. Mas que o fator mais importante foi a quantidade de dentífrico utilizada.

Diante disso, são feitas recomendações para diminuir a ingestão de fluoreto durante a escovação com dentífricos fluoretados (BURT, 1992; NACCACHE et al., 1992; PENDRYS et al., 1996; ROJAS-SANCHEZ et al., 1999):

- diminuir a quantidade de dentífrico colocada na escova;
- supervisionar a escovação para crianças em idade pré-escolar, visando encorajar a expectoração e o enxágüe da boca;
- controlar a frequência de escovação;
- desenvolver dentífricos para crianças pequenas, com concentrações reduzidas de fluoreto.

Segundo FEJERSKOV et al. (1996), diante da ingestão inadvertida de dentífricos durante a escovação por crianças pequenas, esperava-se uma prevalência de

fluorose dental bem maior. Porém há dois fatores que podem explicar a não ocorrência disso:

- a frequência de escovação não deve ser tão alta quanto a relatada ou estimada;
- fato de escovar os dentes após as refeições diminuir a absorção do flúoreto.

Já em relação à água de abastecimento público fluoretada, observa-se que continua sendo a principal forma sistêmica de exposição ao flúoreto. Entretanto o seu impacto sobre a redução de cárie não é o mesmo que no passado. Não se pode considerá-la a única responsável por esta, visto que a água fluoretada não é a única fonte de flúoreto a que as pessoas estão expostas e foram tomadas outras medidas preventivas (HOROWITZ, 1996).

Já em termos de prevalência de fluorose dental, sendo esta diferente entre indivíduos mesmo diante de semelhante consumo de flúoreto, é importante intensificar estudos sobre os fatores que, sozinhos ou combinados, podem aumentar ou diminuir a susceptibilidade a ela (FEJERSKOV et al., 1990).

Em regiões montanhosas, por exemplo, a altitude pode provocar alterações metabólicas (hipóxia e acidose) no organismo que aumentam a absorção de flúoreto e diminuem a sua excreção, o que pode explicar a alta prevalência de fluorose nestas regiões mesmo a água não sendo excessivamente fluoretada (FEJERSKOV et al., 1990). Em 1986, MANJI et al. verificaram uma associação positiva entre flúoreto, altitude e fluorose dental no Quênia.

A biodisponibilidade do fluoreto também é muito importante, pois interfere em sua farmacocinética. Sabe-se que 90% do fluoreto solúvel ingerido é absorvido por difusão simples (na forma de ácido fluorídrico), no trato gastrointestinal, principalmente no duodeno e início do jejuno. A absorção intestinal é favorecida pela acidez gástrica e proporcional à solubilidade do composto fluoretado (MELSEN et al., 1996). O conteúdo estomacal pode reduzir a sua absorção por alterar o pH ou possuir cátions bi e trivalentes que formarão complexos insolúveis com o fluoreto. A ingestão de dentifrícios durante a escovação após as refeições resulta numa redução de cerca de 40 a 50 % da absorção do fluoreto. Cerca de 50% do fluoreto absorvido se deposita nos ossos, sendo essa absorção inversamente proporcional à idade do indivíduo. A excreção do fluoreto é feita principalmente pelos rins, através da urina (EKSTRAND et al., 1990).

A desnutrição parece estar relacionada à maior susceptibilidade de fluorose pois provavelmente é associada a grandes períodos com baixo conteúdo estomacal, facilitando a absorção do fluoreto. A acidose metabólica, característica da diabetes, também facilita este processo (FEJERSKOV et al., 1990).

Além disso, sendo o consumo de líquidos afetado pela temperatura, a adição de fluoreto à água de abastecimento leva este fator em consideração. Entretanto, a quantidade de fluoreto adicionada considerava a ingestão diária deste apenas através da água. Hoje, considerando as diversas fontes de fluoreto, esta indicação precisa ser reconsiderada; já há evidências de prevalência de fluorose acima da

esperada em função da concentração de fluoreto na água de abastecimento (WHO, 1994).

2.3 INDICADORES BIOLÓGICOS DE EXPOSIÇÃO A FLUORETO

Os indicadores biológicos, ou biomarcadores, sinalizam eventos nos sistemas biológicos. Eles não devem ser utilizados para diagnosticar uma doença, mas sim para indicar alterações no organismo que poderiam levar a ela (GRANDJEAN, 1995).

Um indicador biológico, devidamente validado, pode ser utilizado para monitorar a saúde, determinar relação dose-resposta e também estimar risco de desenvolver uma doença (DeCAPRIO, 1997), em nível populacional ou mesmo individual.

Sua utilização em termos de exposição a fluoreto é muito interessante por dois motivos: o mecanismo pelo qual ocorre a fluorose dental ainda não é completamente conhecido e as estimativas de ingestão de fluoreto são geralmente imprecisas.

Os Indicadores Biológicos ou Biomarcadores são classificados em três tipos (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1987):

- 1- Indicadores Biológicos de Efeito: fluorose dental, por exemplo, é um indicador de que houve exposição a fluoreto;
- 2- Indicadores Biológicos de Susceptibilidade: alta altitude, por exemplo, pois pode afetar a resposta do indivíduo à exposição ao fluoreto;

3- Indicadores Biológicos de Exposição: a determinação da concentração de uma substância em um material orgânico pode refletir que houve exposição à mesma. Eles se diferenciam entre si quanto ao período de exposição que podem refletir, em função do metabolismo. Por exemplo, o plasma, a saliva e a urina indicam exposições recentes ao fluoreto, enquanto que o osso e a dentina indicam exposição crônica ao fluoreto, pois este se agrega aos mesmos permanentemente. Já as unhas podem refletir uma exposição de meses antes, durante a sua formação, já que elas constantemente se renovam. A simplicidade de coleta é fundamental na escolha de um Indicador Biológico de Exposição.

Alguns indicadores biológicos de exposição estão relacionados entre si, como a saliva ductal (coletada diretamente da parótida) e o plasma sanguíneo (WHITFORD et al., 1999a), dentina e osso (WHITFORD, 1994) e cabelos e unhas (CZARNOWSKI & KRECHNIAK, 1990).

Já que a relação entre dose de fluoreto e fluorose é linear (FEJERSKOV et al., 1990), torna-se importante monitorar a ingestão de fluoreto. Isto pode ser feito analisando-se a concentração de fluoreto nestes indicadores biológicos de exposição.

2.4 UNHA COMO INDICADOR BIOLÓGICO DE EXPOSIÇÃO CRÔNICA/ SUB-CRÔNICA A FLUORETOS

As unhas são anexos da pele, compostas principalmente por queratina. Elas se formam na chamada raiz ou matriz da unha e, conforme crescem, deslizam pelo leito ungueal, até atingirem a extremidade do dedo.

As unhas têm sido consideradas um confiável indicador biológico de exposição a diversas substâncias, como selênio (LONGNECKER et al., 1996; GHADIRIAN et al., 2000), arsênico (LIN et al., 1998), zinco, cobre e cádmio (MAJUMDAR et al., 1999) e nicotina (AL-DELAIFY et al., 2002), que são substâncias relacionadas a variadas patologias. Verifica-se que os teores destas substâncias nas unhas, por estas refletirem exposição a relativo longo prazo, não estão sujeitos a variações diárias de exposição/ingestão. E que, apesar da variabilidade dos resultados entre os indivíduos poder atenuar um pouco a sua efetividade como biomarcador, uma única coleta é capaz de refletir essa exposição (GARLAND et al., 1993).

Em 1985, SCHAMSCHULA et al. consideraram a unha e o cabelo como bons marcadores biológicos de exposição a fluoreto, além de serem facilmente coletados. Entretanto isso foi questionado por OPHAUG em 1994, quando supôs que não era possível distinguir o fluoreto incorporado às unhas durante a sua formação (endógeno) ou vindo do ambiente (exógeno).

Então WHITFORD et al. (1999b), realizaram um estudo a fim de verificar os fatores que afetam a concentração de fluoreto nas unhas, baseados na hipótese de que podem indicar exposição subcrônica ao fluoreto. Constataram que:

- a) a concentração de fluoreto nas unhas das mãos é 50% maior que nas dos pés. Assim é preciso padronizar a coleta (mãos ou pés) para que se possa obter resultados comparáveis entre os estudos;
- b) há uma relação direta entre concentração de fluoreto na água de abastecimento e nas unhas das mãos de crianças brasileiras, de 6 e 7 anos de idade. Nas crianças residentes em comunidades com 0,1, 1,6 e 2,3 µg F/mL na água, as concentrações de fluoreto nas unhas eram respectivamente 1,85, 5,28 e 7,52 µg F/g;
- c) uma ingestão de fluoreto por indivíduo adulto aumentada (de 3 mg F/dia) durante um mês foi detectada nas unhas das mãos após um intervalo de cerca de 3,5 meses. Assim, o fluoreto da unha é proveniente da sua incorporação na matriz da unha durante a formação (o que ocorreu, no caso, cerca de 100 dias antes da mesma poder ser coletada, quando chegou à extremidade dos dedos), e não pela exposição ao ambiente.

Em acréscimo, se as unhas forem coletadas continuamente, elas podem não só indicar exposição passada ao fluoreto, bem como monitorar essa exposição ao longo do tempo.

3. METODOLOGIA

O presente trabalho foi composto de dois estudos:

- ☆ **Estudo I:** "Relação entre concentração de fluoreto nas unhas de crianças e na água de abastecimento".
- ☆ **Estudo II:** "Concentração de fluoreto em unhas formadas quando da exposição ao fluoreto pela água e água mais dentifício".

- ☆ **Estudo I:** "Relação entre concentração de fluoreto nas unhas de crianças e na água de abastecimento".

Aspectos Éticos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FOP/UNICAMP (Anexo 01). Os pais e/ou responsáveis pelos voluntários leram e assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 03), após serem devidamente informados sobre os procedimentos da pesquisa.

Seleção dos voluntários

Os 53 voluntários foram selecionados em três localidades brasileiras: Cordeirópolis/SP (n = 17), Piracicaba/SP (n = 20) e Assistência (n = 16). Para participarem do estudo, as crianças deveriam estar na faixa etária crítica para o desenvolvimento de fluorose dental e consumir água de abastecimento público. As crianças de Cordeirópolis e de Piracicaba freqüentavam uma creche, durante o dia, enquanto que as de Assistência, não. As idades dos voluntários, bem como a

concentração de fluoreto na água de abastecimento das localidades em que eles residem, estão apresentadas na tabela 3.1.

Delineamento Experimental

Foram selecionadas 53 crianças em localidades do Estado de São Paulo que possuem diferentes concentrações de fluoreto na água de abastecimento público, previamente determinadas (MENEZES, 2001): Cordeirópolis (não se adiciona fluoreto à água), Piracicaba (água 'otimamente' fluoretada) e Assistência (Distrito de Rio Claro/SP; alta concentração de fluoreto natural na água). Foi feita coleta de unhas das mãos de cada criança e determinação da concentração de fluoreto nas mesmas.

Tabela 3.1 - Média \pm desvio padrão e faixa de variação da concentração de fluoreto na água de abastecimento e da idade dos voluntários, em Cordeirópolis (n = 17), Piracicaba (n = 20) e Assistência (n = 16).

Localidade	$\mu\text{g F/ mL na água}$	Idade (meses)
Cordeirópolis, SP	0,03 \pm 0,01 (0,02 a 0,04)	24,4 \pm 7,2 (11 a 37)
Piracicaba, SP	0,64 \pm 0,01 (0,61 a 0,66)	32,3 \pm 9,3 (21 a 50)
Assistência, SP	1,53 \pm 0,09 (1,34 a 1,69)	29,7 \pm 8,0 (18 a 40)

Coleta das unhas e determinação da sua concentração de fluoreto

As unhas das mãos das crianças foram aparadas com tesoura apropriada (limpa com álcool a 70%, entre uma criança e outra). No laboratório de Bioquímica Oral da FOP/UNICAMP, as unhas foram então limpas da seguinte maneira: em um frasco plástico com tampa colocou-se as unhas (uma coleta de cada criança), detergente especial (Ultramet® Sonic, Buehler) e água destilada e deionizada. Os frascos foram colocados em um aparelho de ultra-som por 6 minutos. Em seguida, as unhas foram despejadas sobre uma peneira e enxaguadas com água destilada e deionizada; caso alguma sujeira ainda permanecesse, utilizou-se uma espátula de *Lecron* para retirar. As unhas foram então colocadas na tampinha do frasco e levadas à estufa por 2 horas a 60°C. Depois de secas, as unhas foram armazenadas em papel alumínio para serem analisadas posteriormente.

Para se determinar a concentração de fluoreto nestas unhas, utilizou-se a técnica da microdifusão facilitada por HMDS (hexametildisiloxano), descrita por TAVES (1968). Para a sua realização, foram utilizados os seguintes reagentes: NaOH 1,65N (hidróxido de sódio), CH₃COOH 0,66N (ácido acético = HAc) e HCl 6N/HMDS (ácido clorídrico saturado com hexametildisiloxano). Em uma placa de petri (*Falcon* 1007), previamente preparada (Fig. 3.1), foram colocados os fragmentos de unha previamente pesados, juntamente com 3,0 mL de água destilada e deionizada. Na tampinha plástica que estava no centro da placa, fixada com vaselina, foi adicionado 0,1 mL de NaOH 1,65N. As placas foram fechadas e

através do orifício feito nas tampas, 1,0 mL de HCl 6N/HMDS foi adicionado a cada uma das amostras. Os orifícios foram rapidamente fechados com vaselina sólida e *Parafilm* (American National Can TM) e as placas foram colocadas em uma mesa agitadora horizontal (Nova Técnica) para agitação a uma velocidade de 85 rpm, durante a noite (no mínimo 12 horas e, no máximo, 15 horas). O fluoreto contido nas amostras reagiu com o HMDS, formando um composto volátil (trimetilfluorsilano), que se difundiu para o NaOH presente na tampa fixada no centro da placa, onde se transformou em trimetilsilanol e fluoreto. No dia seguinte, as placas foram abertas, a tampa central de cada uma foi removida e levada à estufa a 60°C por 2 horas, para que restassem apenas os cristais de NaF. A seguir, adicionou-se 0,4 mL de HAc 0,66 N num tubo de ensaio plástico (*Falcon 2017*) que foi fechado com a tampa contendo o fluoreto da amostra. Inverteu-se o tubo e agitou-se vigorosamente (agitador de tubos PA - 162). O HAc dissolveu os cristais de NaF e também deixou a amostra com pH ideal para ser analisada (entre 5 e 5,5). A concentração de fluoreto no tubo foi determinada por eletrodo específico para fluoreto (Orion 96-09), acoplado ao analisador de íons (Orion EA-940), previamente calibrado com padrões contendo 0,01 a 0,8 µg F, preparados nas mesmas condições das amostras. As leituras foram obtidas em mV e transformadas para µg de fluoreto usando o programa Excel (Microsoft). A concentração de F nas amostras de unha (µg F/g ou ppm = partes por milhão) foi obtida dividindo-se µg F encontrado pelo peso de unha (g).

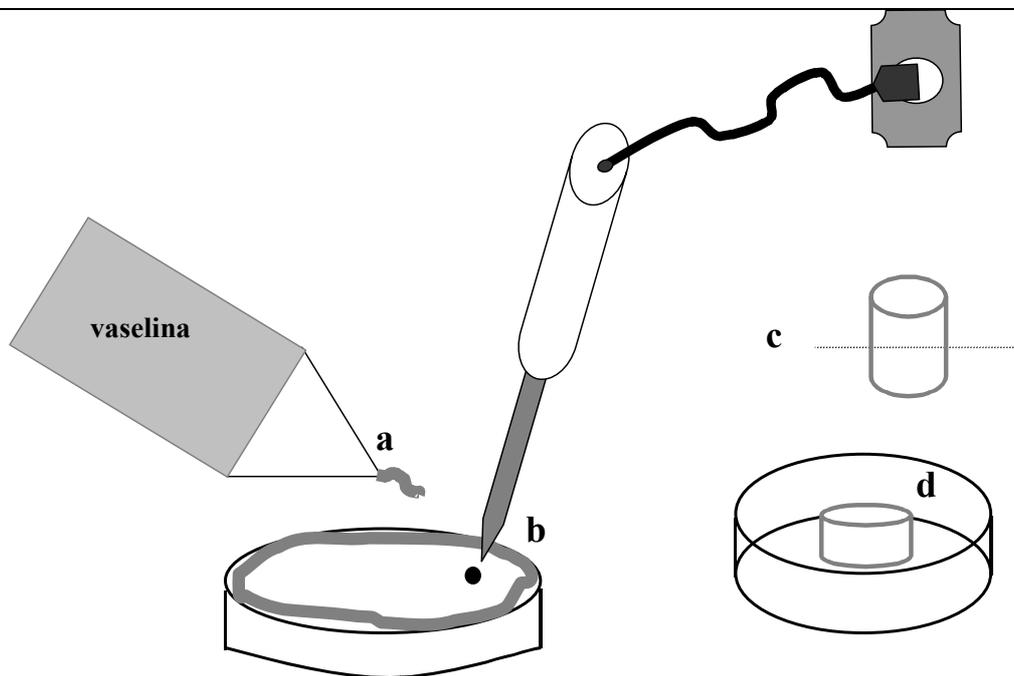


Figura 3.1 - Preparo da placa de petri para a microdifusão facilitada por HMDS (a = vedamento da borda interna com vaselina sólida; b = perfuração da tampa da placa com ferro de solda; c = ajuste de altura da tampinha plástica; d = fixação da tampinha plástica no centro da base da placa de Petri com vaselina).

Análise Estatística

Para a análise estatística dos resultados foi utilizado o programa BioEstat 2.0 (AYRES et al., 2000). Foi utilizada a Análise de Variância, seguida pelo Teste de Newman-Keul, para comparar a concentração de fluoreto nas unhas das crianças residentes nas três localidades estudadas. Também foi calculada a correlação entre concentração de fluoreto na água e nas unhas. O limite de significância estabelecido foi 5% ($p < 0,05$).

- ☆ **Estudo II**: "Concentração de fluoreto em unhas formadas quando da exposição ao fluoreto pela água e água mais dentifrício".

Estudo piloto

Para ser possível relacionar a concentração de fluoreto nas unhas com a quantidade de fluoreto ingerida durante a sua formação, foi preciso determinar qual o tempo necessário para a unha recém formada na matriz atravessar o leito ungueal e atingir a extremidade do dedo, quando então pode ser coletada.

Por isso foi realizado um estudo piloto, com três crianças, entre 20 e 30 meses de idade, que freqüentavam a creche da Faculdade de Odontologia de Piracicaba. Suas unhas foram inicialmente aparadas e o comprimento do leito ungueal de cada dedo foi medido. A cada dez dias as unhas eram novamente aparadas e a largura dos fragmentos coletados era medida com paquímetro digital. Ao final de 30 dias pode-se determinar a velocidade média de crescimento das unhas, que foi de $0,10 \pm 0,02$ mm/dia. E o tempo médio necessário para a renovação da unha foi $58,3 \pm 10,8$ dias. Estes valores assemelham-se aos relatados por McDONNELL & O'MULLANE (2001), que foram respectivamente 0,1 mm/dia e 75 dias. Assim, estimou-se que a concentração de fluoreto na unha poderia estar relacionada à quantidade de fluoreto ingerida por volta de dois meses antes.

Aspectos Éticos

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FOP/UNICAMP (Anexo 02). Os pais e/ou responsáveis pelos voluntários leram e assinaram um Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo 04), após serem devidamente informados sobre os procedimentos da pesquisa.

- ☆ Ressarcimento: a fim de repor os gastos com a coleta da dieta-duplicada, nas duas fases do estudo foi feito o ressarcimento às famílias dos voluntários e à creche, na forma de alimentos não-perecíveis.
- ☆ Aplicação de verniz de clorexidina: para compensar a não-utilização de fluoreto tópico através de dentifrício em uma das fases do estudo, e garantir a proteção dos voluntários em relação à cárie, foi feita a aplicação de verniz de clorexidina (Cervitec[®], Vivacare, Schaan, Liechtenstein: contendo 1% de clorexidina e 1% de timol), nas superfícies oclusais dos seus molares decíduos. Esta medida foi baseada na eficácia deste verniz em reduzir o desenvolvimento de cárie em fissuras (BRATTHALL et al., 1995), na sua vantagem de não depender de cooperação do paciente para agir (IE & SCHAEKEN, 1993) e no fato de que MATTOS-GRANER (1999) verificara em um estudo com crianças entre 12 e 30 meses de idade, que só houve incremento de cárie, no decorrer de 12 meses, em superfícies oclusais. A aplicação foi feita segundo as instruções do fabricante: após limpeza dos dentes, foi feito isolamento relativo com rolos de

algodão, o dente foi seco com jato de ar, aplicou-se o verniz na superfície oclusal com “microbrush”, esperou-se 30 segundos e secou-se novamente. Foi recomendado (à professora e à mãe) para que a criança não escovasse os dentes neste dia. A aplicação de verniz de clorexidina foi precedida por um exame clínico visual, com iluminação artificial, após limpeza dos dentes com pasta profilática (Odhacan[®]) e escova de Robinson. As informações foram anotadas em fichas apropriadas e as crianças que apresentaram algum tipo de lesão cariosa foram encaminhadas para a dentista responsável pela creche e tratadas. Ao término da fase em que as crianças utilizaram dentifrício sem fluoreto, foi feito novamente um exame clínico, onde se verificou que não houve incremento de cárie no período.

- ☆ Ao final do estudo, foi realizada na creche uma palestra para as mães e professoras das crianças sobre saúde bucal e foi distribuído às mesmas um folheto educativo (Anexo 06).

Seleção dos voluntários

Os voluntários (23 crianças, sendo 14 do sexo feminino e 9 do sexo masculino) foram selecionados em uma creche da cidade de Piracicaba, SP, que possui água de abastecimento 'otimamente' fluoretada. As crianças estavam na faixa etária crítica em termos de fluorose dental (Tab. 3.2), em bom estado de saúde geral e consumiam água de abastecimento público.

Delineamento Experimental

O estudo foi dividido em duas fases (Fig. 3.2), que duraram cerca de três meses cada. Na primeira (Fase A = dieta-F + dentífrico-F), as crianças estiveram expostas normalmente ao fluoreto, através da alimentação e da escovação com dentífrico fluoretado. Na segunda (Fase B = dieta-F), as crianças passaram a escovar os dentes com um dentífrico sem fluoreto. Este dentífrico foi preparado por uma farmácia de manipulação e entregue quinzenalmente às mães das crianças e às professoras da creche, que foram instruídas a escovarem os dentes das crianças apenas com aquele dentífrico, durante os três meses que duraram a Fase B. Essa instrução era reforçada quinzenalmente, através de bilhetes entregues junto com o dentífrico. No final da Fase B, os dentífricos sem fluoreto que restaram foram recolhidos da creche e das residências e foi entregue às professoras e às mães um dentífrico fluoretado (Sorriso[®], 1500 ppm F- na forma de MFP) . Durante as duas fases, e após dois meses do término da fase B, foram coletadas semanalmente amostras de unhas das mãos das crianças e da água de abastecimento, para determinação da concentração de fluoreto.

A dose total de fluoreto a que as mesmas estiveram expostas foi determinada nas duas fases (A e B), considerando-se a dieta (sólidos e líquidos) e os dentífricos como fontes de fluoreto. Para determinar a dose proveniente da dieta, o equivalente a tudo que a criança ingeria ou bebia (dieta-duplicada) por dia foi coletado para análise laboratorial de fluoreto total. Essa coleta foi feita durante

dois dias, em cada fase. Já a determinação da dose de fluoreto devido aos dentífricos foi feita estimando-se a quantidade de dentífrico ingerida durante a escovação. A dose de fluoreto foi calculada dividindo-se a quantidade ingerida (mg) pelo peso dos voluntários (kg), que foi determinado em cada fase. Também foram coletadas amostras da água de abastecimento entre Junho de 2001 e Fevereiro de 2002.

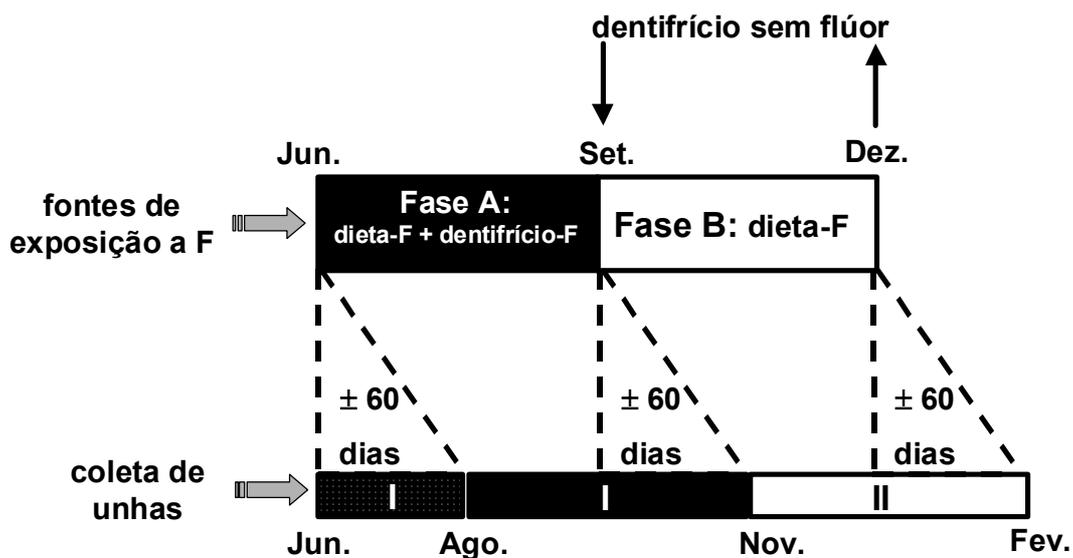


Figura 3.2 - Esquema geral do Estudo II. Cada fase (A e B) durou três meses, entretanto as unhas foram coletadas desde o início da Fase A (junho 2001) até dois meses após o término da Fase B (fevereiro 2002). Estimou-se que a unha que começou a se formar em cada período levou cerca de 60 dias para poder ser coletada. Assim, o numeral I representa as unhas formadas antes do início do estudo e durante a Fase A, onde a dieta e os dentífricos fluoretados contribuíram para a dose total de fluoreto. E II representa as unhas formadas durante a Fase B, onde as crianças utilizaram um dentífrico sem fluoreto.

Tabela 3.2 - Média \pm desvio padrão e intervalo de 95% de confiança da idade e peso dos voluntários de Piracicaba, SP, quando expostos ao fluoreto pela dieta + dentifrício (Fase A) ou apenas pela dieta (Fase B) (n=23).

Fontes de Exposição ao F	Idade (meses)	Peso (kg)
Dieta + Dentifrício (Fase A)	30,1 \pm 5,8 (27,7 a 32,5)	13,1 \pm 1,6 (12,5 a 13,8) ^a
Dieta (Fase B)	33,1 \pm 5,8 (30,7 a 35,5)	13,9 \pm 1,7 (13,2 a 14,6) ^b

* valores seguidos por letras distintas indicam diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

Dose de fluoreto devido à dieta

Foi realizada a coleta da dieta-duplicada, descrita por GUHA-CHOWDHURY et al. (1996), sendo coletados na mesma quantidade em que foram consumidos todos os componentes da dieta – sólidos e líquidos (inclusive água) – ingeridos pelas crianças. Para a realização das coletas, as mães das crianças receberam um pote plástico (capacidade de 3 litros) ao buscarem seus filhos à tarde na creche e foram instruídas a colocar porções idênticas de tudo aquilo que as crianças comessem e bebessem em casa. Os potes foram trazidos à creche no dia seguinte de manhã, onde este mesmo procedimento de coleta foi realizado pela pesquisadora, durante todo o dia. Terminada a coleta, os potes contendo a dieta de 24 horas das crianças foram levados para o Laboratório de Bioquímica Oral da FOP/UNICAMP. Cada dieta colhida foi homogeneizada em um liquidificador

durante 30 segundos e essa mistura homogênea foi transferida para uma proveta de 2.000 mL com o auxílio de um funil plástico. O volume final foi medido e uma amostra de aproximadamente 30,0 mL foi retirada do volume final, para ser armazenada a -4°C até a análise.

Para se determinar a concentração de fluoreto nas amostras de dieta, utilizou-se a microdifusão facilitada por HMDS (TAVES, 1968), já descrita no Estudo I. Mas com a diferença de que na base da placa de petri foi adicionado 3,0 mL da suspensão homogeneizada de alimentos. E para calibração do eletrodo, utilizaram-se padrões contendo 0,2 a 3,2 µg F, preparados nas mesmas condições das amostras. As análises foram feitas considerando-se cada dia, individualmente, sendo calculada a média das duas coletas para cada fase (A e B).

Dose de fluoreto devido aos dentifrícios

Na primeira fase do Estudo II, foi acompanhada a escovação dos dentes realizada pela professora e pela mãe de cada criança; ambas foram realizadas na creche, simulando as escovações habituais. Inicialmente foi questionada a frequência diária de escovação. Em seguida, a escova dental da criança foi pesada em balança digital (AND SV-200; $\pm 0,01$ g) antes e após a colocação do dentifrício (pela professora ou mãe), para obter a quantidade utilizada. A escovação foi feita de acordo com os hábitos rotineiros da criança. Se ela expectorou ou enxaguou a boca (para o qual havia água destilada e deionizada), tudo foi coletado num copo plástico. Também foi coletada, no mesmo copo plástico, a água destilada e

deionizada utilizada para lavar vigorosamente a escova. Chamou-se de produtos da escovação a essa suspensão coletada, a qual foi homogeneizada, sendo seu volume total medido. Deste, uma amostra de cerca de 15 mL foi armazenada a -4 °C para determinação da concentração de fluoreto. Para isso, a amostra foi centrifugada (3.000 g/10 min.) e, no sobrenadante, determinou-se a concentração de flúor solúvel total (iônico + ionizável), após hidrólise do fluoreto ionizável em HCl 1M por 1h a 45°C, neutralização com NaOH 1M e tamponamento com TISAB II (Total Ionic Strength Adjustor Buffer: tampão acetato 1,0 M pH 5,0, contendo cloreto de sódio 1M, hidróxido de sódio 0,5 M e ácido 1,2-ciclohexanodiaminotetracético a 0,4%). Essas análises foram feitas com o eletrodo fluoreto-específico já descrito, previamente calibrado com padrões de 0,125 µg F/mL a 2,0 µg F/mL nas mesmas condições das amostras. As concentrações de flúor total (FT), flúor solúvel total (FST) e flúor iônico (Fi) presentes nos dentifrícios utilizados pelas crianças, também foram determinadas (Fig. 3.3). O valor de FST foi utilizado nos cálculos por ser esse o fluoreto biodisponível para ser absorvido pelo organismo. Assim, para estimar a quantidade de fluoreto ingerida durante a escovação, subtraiu-se a quantidade de fluoreto recuperada (análise de FST nos produtos da escovação) da quantidade inicialmente utilizada (peso de dentifrício vezes sua concentração de FST). Para se determinar a dose diária de fluoreto devido aos dentifrícios, multiplicou-se a quantidade de fluoreto ingerida por escovação pela frequência diária de escovação relatada, tanto para a escovação

conduzida pela mãe, quanto pela professora. Essa quantidade total de fluoreto ingerida (mg F) foi dividida pelo peso da criança (kg).

A concentração de fluoreto (FT, FST e Fi) nos dentifrícios não-fluoretados, preparados pela farmácia de manipulação, também foi determinada para assegurar que durante a Fase B as crianças estivessem expostas ao fluoreto apenas pela dieta. Para as dosagens de fluoreto em dentifrícios, utilizaram-se três tubos de cada tipo, coletando-se duas amostras de cada tubo, sendo cada análise feita em duplicata.

PREPARO DAS AMOSTRAS DE DENTIFRÍCIOS:

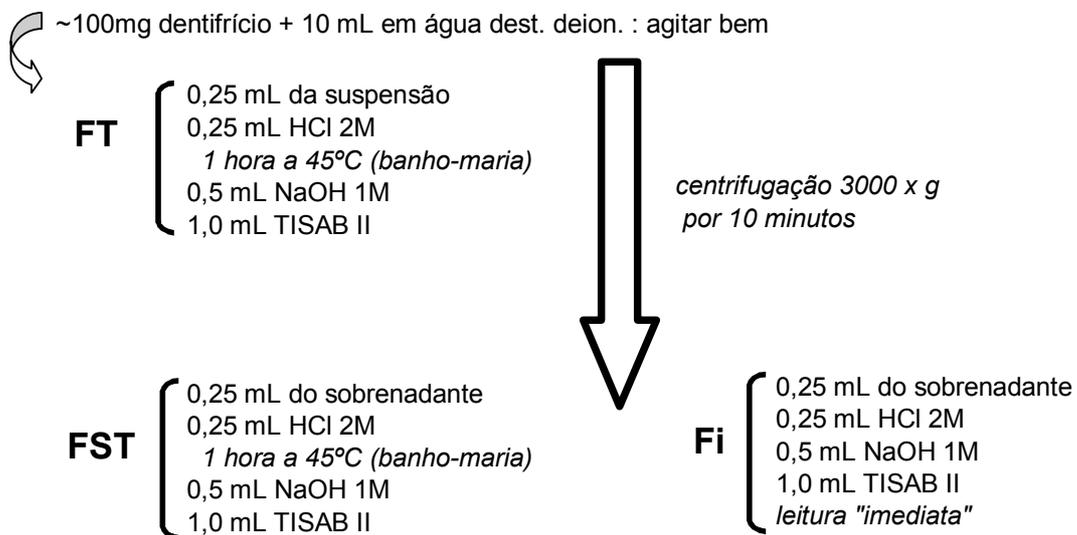


Fig. 3.3 - Fluxograma da análise de fluoreto em dentifrícios.

Coleta das unhas e determinação da sua concentração de fluoreto

A coleta das unhas iniciou-se junto com a fase A, em junho de 2001. A cada 7-10 dias, as unhas das mãos das crianças foram aparadas com tesoura apropriada (limpa com álcool a 70%, entre uma criança e outra) e armazenadas em papel alumínio. No laboratório de Bioquímica Oral da FOP/UNICAMP, as unhas foram então limpas da mesma maneira descrita no Estudo I.

Para se determinar a concentração de fluoreto nas unhas, utilizou-se a técnica da microdifusão facilitada por HMDS, descrita por WHITFORD em 1996 (Fig. 3.4), que é uma modificação da técnica original descrita por TAVES (1968) e possui vantagens como menor custo e maior sensibilidade analítica. Entretanto esta técnica possui a desvantagem de estar susceptível a uma grande variabilidade e erro pois possui um passo muito crítico: completa-se o volume final de amostra a ser levado ao eletrodo (75 μ L) com água destilada e deionizada, utilizando-se uma micropipeta automática regulada neste volume, após a amostra ser aspirada e ainda restar espaço a ser preenchido na ponteira. Assim, foi feita uma modificação na técnica de WHITFORD (1996): ao invés do NaOH ser disposto em gotas no teto da placa de petri, ele foi colocado sobre uma tampinha plástica fixada no centro da base da placa de petri, que posteriormente foi levada à estufa para secagem e então, aos cristais de NaF, adicionou-se 25 μ L de HAc e 50 μ L de água destilada e deionizada, para ser então feita a leitura em eletrodo. Esta

tampinha plástica não é a mesma utilizada por TAVES (1968), já que necessita-se de uma superfície plana para que os eletrodos (de fluoreto e de referência) entrem em contato com a gota de amostra simultaneamente. A tampinha necessita ser previamente preparada (Fig. 3.5): a sua altura foi diminuída utilizando-se um estilete, para poder ficar dentro da placa de petri, abaixo do teto da mesma; e no centro da superfície plana (externa), para que o NaOH não fosse perdido durante a agitação das placas, fez-se uma concavidade utilizando-se uma espátula para cera, aquecida. A borda desta concavidade foi aparada com estilete, para facilitar o contato dos eletrodos com a amostra (Fig. 3.6).

Para a sua realização, foram utilizados os seguintes reagentes: NaOH 0,05N (hidróxido de sódio), CH₃COOH 0,2N (ácido acético = HAc), H₂SO₄ 6N/HMDS (ácido sulfúrico saturado com hexametildisiloxano). Em uma placa de petri (*Falcon* 1007), previamente preparada (Fig. 3.5), foram colocados os fragmentos de unha juntamente com 2,0 mL de água destilada e deionizada. Na tampinha plástica que estava no centro da placa, fixada com vaselina, foi adicionado 50µL de NaOH. As placas foram fechadas e através do orifício feito nas tampas, 2,0 mL de H₂SO₄ 6N/HMDS foram adicionados a cada uma das amostras. Os orifícios foram rapidamente fechados com vaselina sólida e *Parafilm* (American National Can TM) e as placas foram colocadas em uma mesa agitadora horizontal (Nova Técnica) para agitação a uma velocidade de 85 rpm, por 12 a 15 horas (durante a noite). No dia seguinte, as placas foram abertas, a tampinha central de cada uma foi

removida e levada à estufa a 60°C por 2 horas, para que toda a água evaporasse e restassem cristais de NaF. Então em cada tampinha são adicionados 25 µL de ácido acético 0,2N e 50 µL de H₂O destilada e deionizada. Este conteúdo sobre a tampinha plástica é vigorosamente homogeneizado com a ponteira descartável da pipeta. A análise de fluoreto é feita nesta gota de 75µL, utilizando-se um eletrodo simples específico para íon fluoreto (Orion 9409) e um mini-eletrodo de referência de calomelano (Accumet, nº 13-620-79), acoplados ao analisador de íons (Orion EA - 940). O eletrodo é previamente calibrado por padrões contendo entre 0,25 e 5,0 nmol NaF, preparados nas mesmas condições das amostras.

Além destes padrões, chamados de Padrões Difundidos, são preparados no momento da leitura em eletrodo, Padrões Não-Difundidos. Estes contêm 0,1 mL do padrão de fluoreto + 0,4 mL HAc 0,2N + 1,0 mL de NaOH 0,05N. O H₂SO₄ 6N/HMDS não é adicionado a estes padrões e a concentração de fluoreto destes padrões deve ser equivalente à concentração de fluoreto encontrada nos Padrões Difundidos. Desta forma é possível verificar se todo o fluoreto contido nas amostras será totalmente difundido e reagirá com os 50 µL de NaOH. Os Padrões Difundidos e Não-Difundidos são preparados em triplicata. São feitas três leituras das curvas de calibração: antes, durante e depois da leitura das amostras, sendo primeiro os Padrões Não-Difundidos e depois os Difundidos. Desta forma, pode-se verificar a calibração do eletrodo durante todo processo de leitura. Antes de cada seqüência de padrões, deixa-se os eletrodos imersos numa amostra chamada de

“warm-up” por 30 minutos; esta amostra tem a mesma composição do primeiro Padrão Não-Difundido (0,25 nmol NaF). Depois de lidas as amostras, faz-se a conversão dos valores obtidos em mV para μg de fluoreto através do programa Excel (Microsoft). Dividindo-se μg F encontrado pelo peso de unha (g), obteve-se a concentração de F nas amostras de unha (μg F/ g ou ppm F).

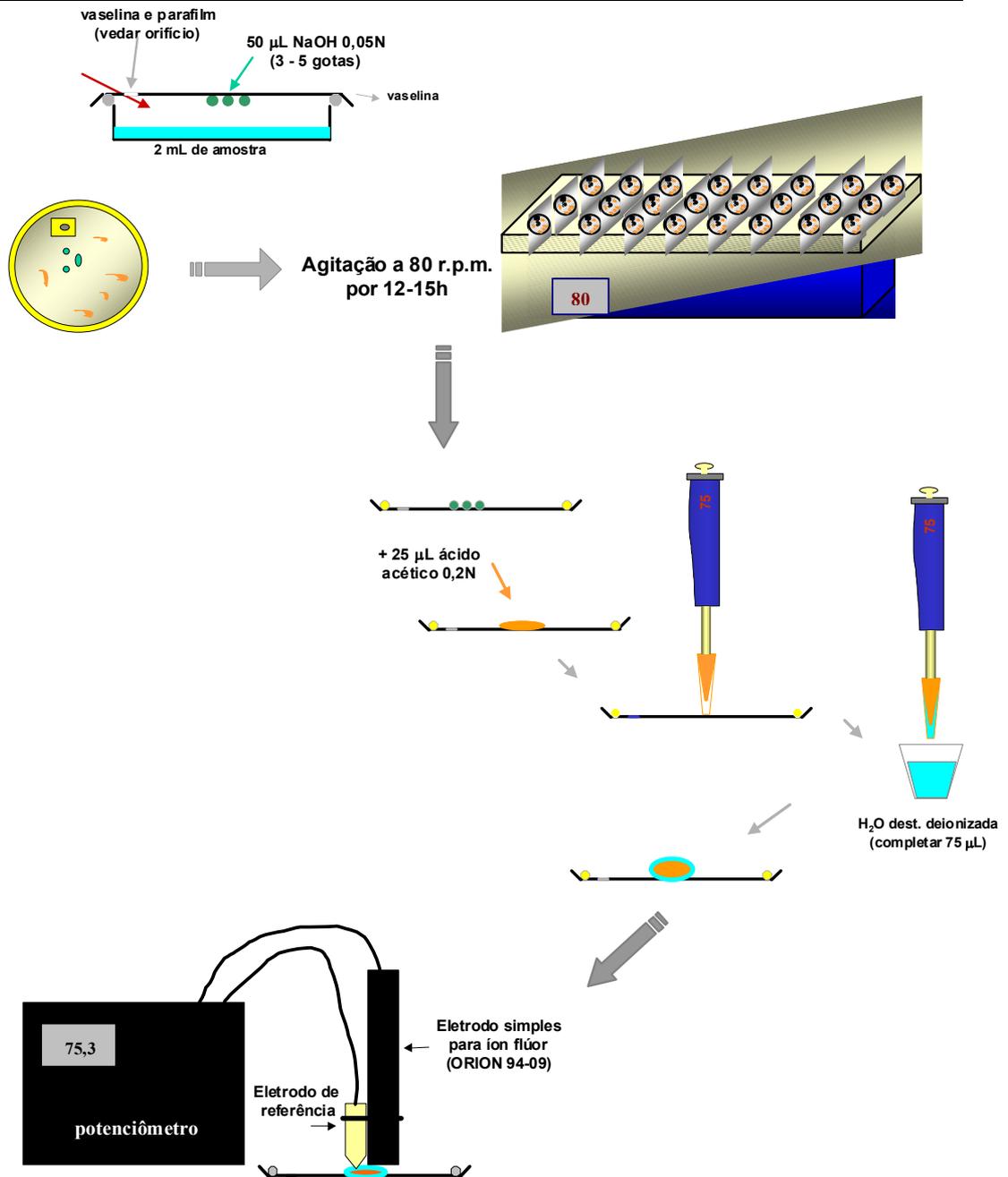


Figura 3.4 - Esquema da técnica de microdifusão facilitada por HMDS, descrita por Whitford (1996).

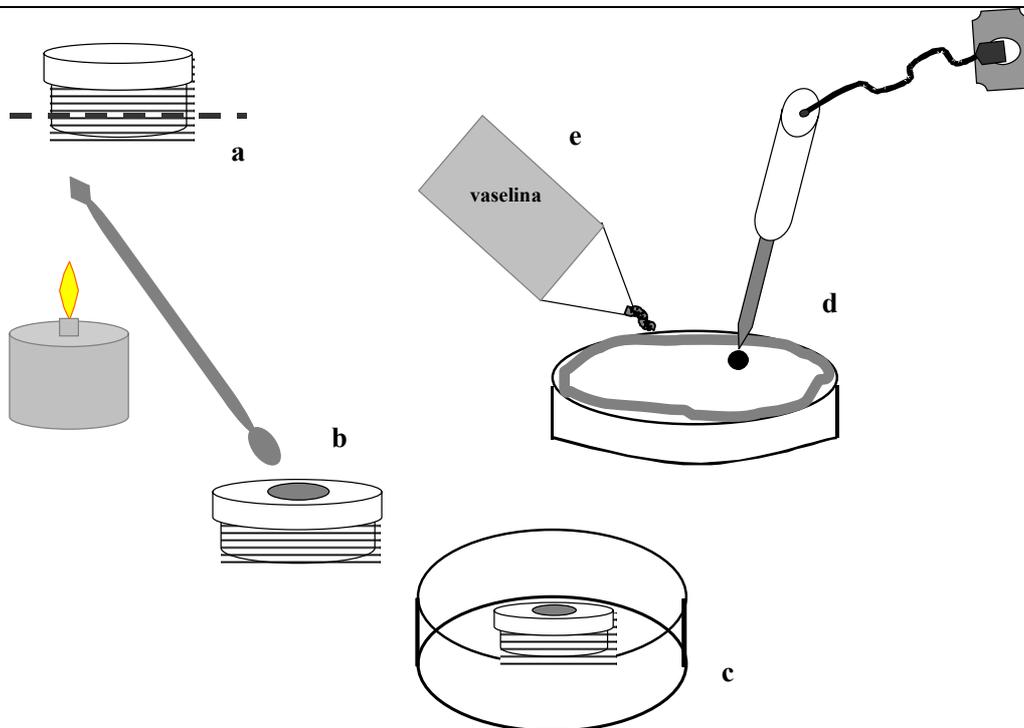


Figura 3.5 - Preparo da placa de petri para a microdifusão facilitada por HMDS Modificada (a = ajuste da altura da tampinha plástica usando estilete, b = confecção de uma concavidade sobre a tampinha plástica, utilizando-se uma espátula para cera aquecida, c = fixação da tampinha plástica com vaselina, no centro da base da placa de petri, d = perfuração da tampa da placa de petri com ferro de solda, e = vedamento da borda interna da tampa da placa, com vaselina sólida).

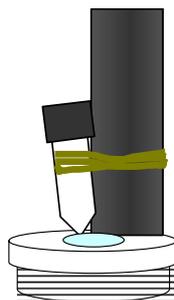


Figura 3.6 - Leitura de amostra sobre a tampinha plástica, utilizando eletrodo simples para íon flúor (Orion 96-09), unido ao mini-eletrodo de referência (Accumet, 13-620-79) com um elástico de borracha.

Análise Estatística

Para a análise estatística dos dados obtidos foi utilizado o programa BioEstat 2.0 (AYRES et al., 2000).

Foi aplicado o Teste t pareado para fazer as comparações em relação a:

- peso dos voluntários nas duas fases;
- ingestão de fluoreto pela dieta (entre os dois dias de coleta e entre as Fases A e B);
- ingestão de fluoreto pelos dentifrícios (entre as escovações realizadas pelas mães ou pelas professoras);
- doses de exposição ao fluoreto entre as Fases A e B;
- concentração de fluoreto nas unhas entre as Fases A e B.

Para comparar a concentração de fluoreto na água de abastecimento, durante as Fases A e B, foi utilizado o Teste t, de amostras independentes.

Também foi calculado o coeficiente de correlação de Pearson (r) entre concentração de fluoreto nas unhas e dose de exposição ao mesmo.

Em todas as análises, o limite de significância estabelecido foi 5% ($p < 0,05$).

4. RESULTADOS

☆ Estudo I:

A tabela 4.1 apresenta os valores de concentração de fluoreto nas unhas das mãos de crianças que residem em três localidades brasileiras (Cordeirópolis, Piracicaba e Assistência), que possuem diferentes concentrações de fluoreto na sua água de abastecimento.

Tabela 4.1 - Média \pm desvio padrão e intervalo de 95% de confiança da concentração de fluoreto nas unhas de crianças ($\mu\text{g F/g}$), residentes em comunidades com diferentes concentrações de fluoreto na água.

Localidades	$\mu\text{g F/mL}$ água	$\mu\text{g F/g}$ unhas
Cordeirópolis (n = 17)	0,03	$1,65 \pm 1,03^a$ (1,16 a 2,14)
Piracicaba (n = 20)	0,64	$2,85 \pm 1,54^b$ (2,17 a 3,52)
Assistência (n = 16)	1,53	$4,14 \pm 1,91^c$ (3,21 a 5,08)

* valores seguidos por letras distintas indicam diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

Através da tabela 4.1 pode-se verificar que houve diferença significativa na concentração de fluoreto nas unhas das crianças residentes nas três localidades

($p = 0,0003$), havendo uma alta correlação entre concentração de fluoreto na água e nas unhas (0,999).

Os dados da tabela 4.1 estão ilustrados no gráfico 4.1.

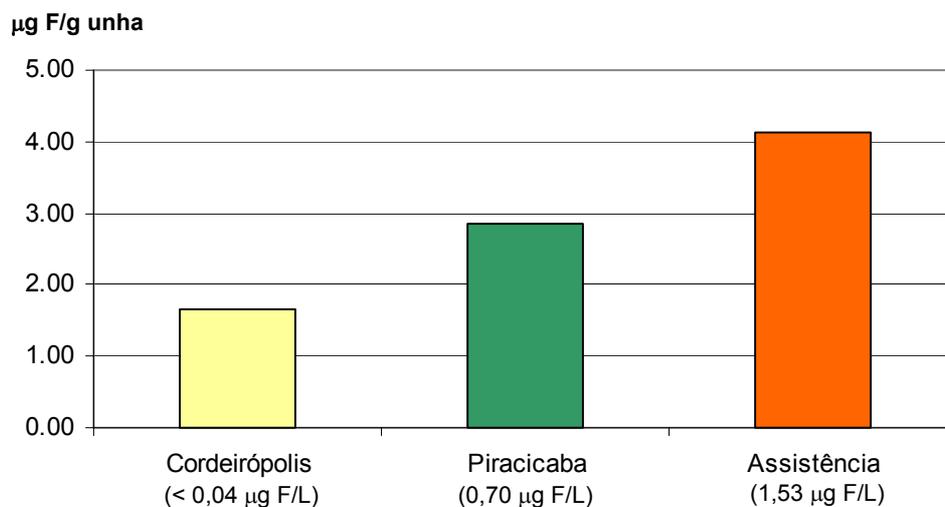


Gráfico 4.1- Concentração de fluoreto ($\mu\text{g F/g}$) nas unhas de crianças residentes em localidades com diferentes concentrações de fluoreto na água de abastecimento.

☆ **Estudo II:**

A tabela 4.2 mostra os valores de dose de fluoreto (mg F/kg/dia) a que estiveram expostas as crianças de Piracicaba, SP, pela dieta + dentifício (Fase A) ou apenas pela dieta (Fase B).

Tabela 4.2 - Média \pm desvio padrão e intervalo de 95% de confiança da dose de fluoreto (mg F/ kg/dia) a que estiveram expostas crianças residentes em Piracicaba, SP, apenas pela dieta ou pela dieta + dentifrício (n = 23).

Exposição a F	Dose (mg F/kg/dia)		
	Dieta	Dentifrício	Total
Dieta-F (Fase B)	0,040 \pm 0,009 ^a (0,037 a 0,044)	0,000	0,040 \pm 0,009 ^a (0,037 a 0,044)
Dieta-F + Dentifrício-F (Fase A)	0,050 \pm 0,015 ^b (0,044 a 0,056)	0,034 \pm 0,023 (0,024 a 0,043)	0,084 \pm 0,032 ^b (0,071 a 0,097)

* valores seguidos por letras distintas, na direção vertical, indicam diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

Foi observado que as crianças estiveram expostas, pela dieta, a uma dose de fluoreto estatisticamente maior na Fase A do que na Fase B ($p = 0,001$). E que, sendo a dieta a única fonte de fluoreto durante a Fase B, a dose total de exposição ao fluoreto também foi estatisticamente maior na Fase A em relação à Fase B ($p < 0,01$).

Os dados da tabela 4.2 estão ilustrados no gráfico 4.2.

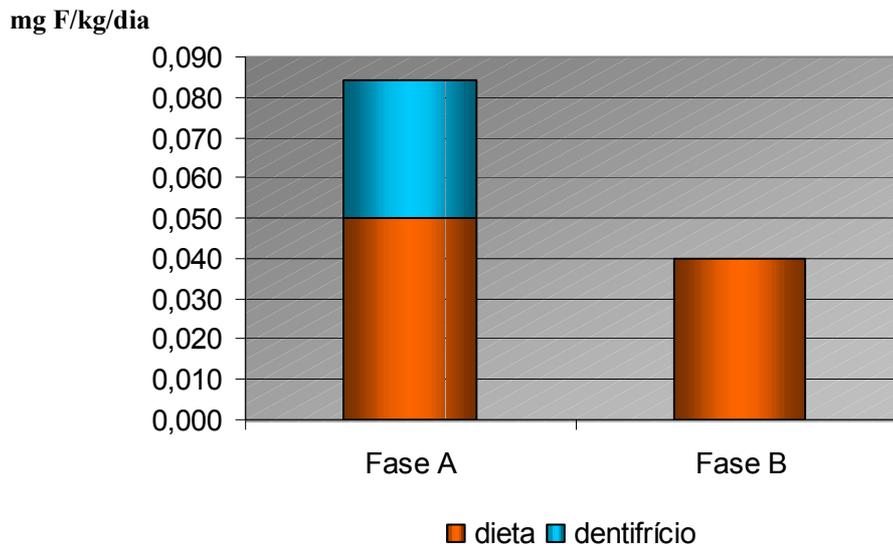


Gráfico 4.2 - Dose de fluoreto (mg F/ kg/dia) a que estiveram expostas crianças de Piracicaba, SP, pela dieta + dentifrício ou apenas pela dieta (n = 23).

A tabela 4.3 mostra os valores das temperaturas médias nos dias em que as coletas de dieta foram feitas, volume de dieta coletado, concentração de fluoreto na água de abastecimento de Piracicaba,SP e dose de fluoreto devido à dieta, a que estiveram expostas as crianças nas duas fases do estudo (Fase A: Dieta-F + Dentifrício-F e Fase B: apenas Dieta-F).

Tabela 4.3 - Média \pm desvio padrão e intervalo de 95% de confiança da temperatura média nos dias de coleta ($^{\circ}\text{C}$), volume de dieta (mL), concentração de fluoreto na água de abastecimento ($\mu\text{g F/mL}$) e dose de fluoreto pela dieta (mg F/kg/dia), nas duas fases do estudo (n = 23).

Exposição a F	temperatura média ($^{\circ}\text{C}$)	vol. dieta (mL)	$\mu\text{g F/mL}$ água	dose (mg F/kg/dia)
dieta-F	$23,6 \pm 1,2^a$	$1177,0 \pm 237,9^a$	$0,72 \pm 0,04^a$	$0,040 \pm 0,009^a$
(Fase B)	(22,6 a 24,6)	(1119,2 a 1289,9)	(0,70 a 0,75)	(0,037 a 0,044)
dieta-F + dentifício-F	$21,1 \pm 1,1^b$	$1204,6 \pm 209,0^a$	$0,71 \pm 0,03^a$	$0,050 \pm 0,015^b$
(Fase A)	(20,2 a 21,7)	(1079,7 a 1274,2)	(0,70 a 0,73)	(0,044 a 0,056)

* valores seguidos por letras distintas, na direção vertical, indicam diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

Pela tabela 4.3 pode-se observar que não houve diferença estatisticamente significativa no volume de dieta coletado ($p = 0,209$) e na concentração de fluoreto na água de abastecimento ($p = 0,218$), entre as Fases A e B. Já a temperatura ambiental média foi significativamente maior na Fase B ($p < 0,01$), enquanto que a dose de fluoreto pela dieta foi estatisticamente maior na Fase A ($p < 0,01$).

A tabela 4.4 mostra os valores de concentração de flúor (total, solúvel total e iônico) nos dentifrícios utilizados durante a Fase A (Sorriso[®], fluoretado) e a Fase B (dentifrício sem fluoreto, preparado por uma farmácia de manipulação).

Tabela 4.4 - Média \pm desvio padrão da concentração de flúor iônico (Fi), flúor solúvel total (FST) e flúor total (FT) nos dentifrícios utilizados durante as Fases A (Dieta-F + Dentifrício-F) e B (Dieta-F) do estudo realizado em Piracicaba, SP.

	Fi	FST	FT
Fase A (Sorriso[®])	274,97 \pm 45,41	981,78 \pm 39,83	1354,08 \pm 27,67
Fase B (não fluoretado)	7,56 \pm 1,48	3,86 \pm 1,45	143,96 \pm 6,02

O valor utilizado para os cálculos de quantidade de fluoreto utilizada (colocada na escova) foi o de flúor solúvel total (FST). A presença de flúor total (FT) no dentifrício não-fluoretado (Fase B) refere-se ao fluoreto ligado ao abrasivo e portanto insolúvel. Os valores de Fi e FST para o dentifrício não-fluoretado são insignificantes e podem estar relacionados à variabilidade da técnica de análise.

A tabela 4.5 contém dados relacionados à escovação dos dentes das crianças durante a Fase A (Dieta-F + Dentifrício-F), comparando quando a escovação era conduzida pela professora ou pela mãe da criança. Esta tabela mostra os valores

do número de escovações diárias relatado (n.e.d.), da quantidade de dentifrício colocada na escova, do percentual estimado de ingestão deste dentifrício durante a escovação, da quantidade de fluoreto ingerida em função desta ingestão de dentifrício e da dose de fluoreto a que estiveram expostas as crianças em cada escovação dos dentes.

Tabela 4.5 - Média \pm desvio padrão e intervalo de 95% de confiança do número de escovações diárias (n.e.d.), peso de dentifrício utilizado (g) e percentual ingerido (%), quantidade de fluoreto ingerida (mg F) e dose de fluoreto por escovação (mg F/kg/esc.), sendo a escovação conduzida pela mãe ou pela professora de crianças de Piracicaba, SP, durante a Fase A (Dieta-F + Dentifrício-F) (n = 23).

Escovação	n.e.d.	g dentifrício utilizado	% dentifrício ingerido	mg F ingerido	dose (mg F/kg/esc.)
Professoras	1,0 \pm 0,0 ^a (--)	0,38 \pm 0,26 ^a (0,27 a 0,49)	44,4 \pm 21,8 ^a (31,5 a 53,3)	0,147 \pm 0,103 ^a (0,105 a 0,189)	0,011 \pm 0,008 ^a (0,008 a 0,015)
Mães	1,4 \pm 0,6 ^b (1,2 a 1,7)	0,41 \pm 0,25 ^a (0,29 a 0,50)	49,4 \pm 16,6 ^a (41,4 a 54,9)	0,212 \pm 0,171 ^a (0,134 a 0,274)	0,016 \pm 0,012 ^a (0,010 a 0,020)

* valores seguidos por letras distintas, na direção vertical, indicam diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

O número de escovações diárias conduzidas pelas mães, em casa, foi estatisticamente maior que pelas professoras, na creche ($p = 0,001$). Entretanto

não houve diferença estatisticamente significativa entre a quantidade de dentifrício utilizada, percentual ingerido, quantidade de fluoreto ingerida e dose de exposição a fluoreto em cada escovação.

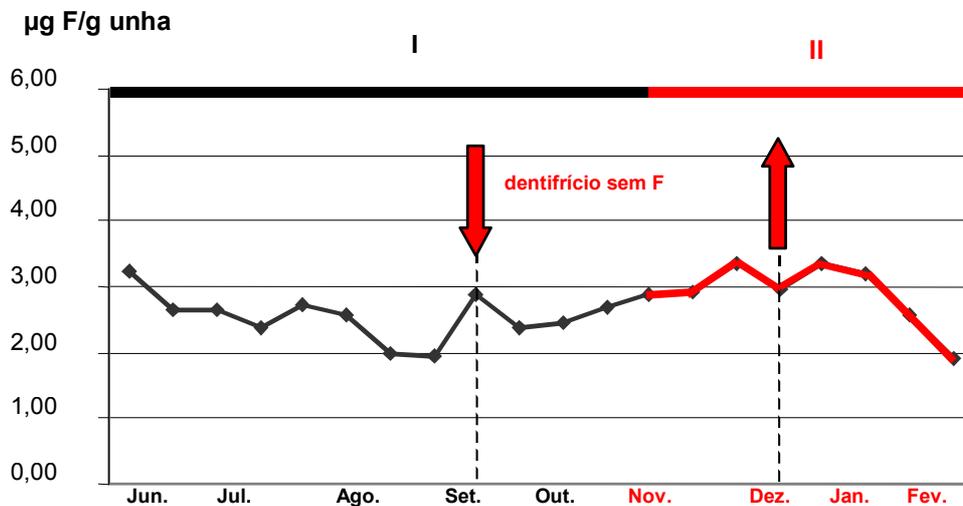
A Tabela 4.6 mostra os valores de concentração de fluoreto nas unhas que foram formadas quando as crianças estavam expostas ao fluoreto apenas pela dieta (Fase B) ou pela dieta + dentifrício (Fase A).

Tabela 4.6 - Média \pm desvio padrão e intervalo de 95% de confiança da concentração de fluoreto nas unhas ($\mu\text{g F/g}$) formadas quando as crianças de Piracicaba, SP estavam expostas ao fluoreto pela dieta apenas ou pela dieta + dentifrício (n = 23).

Exposição a F	$\mu\text{g F/ g unha}$
Dieta-F (Fase B)	$2,80 \pm 0,94^a$ (2,42 a 3,19)
Dieta-F + Dentifrício-F (Fase A)	$2,64 \pm 0,91^a$ (2,27 a 3,02)

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os valores de concentração de fluoreto nas unhas formadas quando as crianças estiveram expostas ao fluoreto pela dieta e dentifrício ou apenas pela dieta ($p = 0,1805$).

O gráfico 4.3 ilustra os valores de concentração de fluoreto ($\mu\text{g F/g}$) nas unhas de crianças residentes em Piracicaba, SP (n = 23).



I: unhas formadas antes do início do estudo e durante a Fase A (F da dieta e do dentifrício)

II: unhas que se formaram durante a Fase B (F apenas da dieta)

Gráfico 4.3 - Concentrações de fluoreto nas unhas de crianças de Piracicaba, SP, expostas a fluoreto pela dieta + dentifrício ou apenas pela dieta (n = 23).

Foram feitas 20 coletas de unhas, entre os meses de Junho do ano de 2001 e Fevereiro de 2002. O período de Junho a Setembro de 2001 foi chamado de Fase A; nele, as crianças estiveram expostas ao fluoreto pela dieta e pela escovação com dentifrícios fluoretados. As unhas formadas durante esta fase, e antes dela (mesma exposição ao fluoreto), foram coletadas no período de Junho a início de Novembro de 2001 (estimando-se que as unhas levam cerca de 60 dias para atingir a extremidade dos dedos). Estas unhas estão representadas pelo numeral I. Entre Setembro e Dezembro de 2001, as crianças utilizaram um dentifrício sem fluoreto, estando expostas ao fluoreto somente pela dieta. Estima-se que as unhas

formadas durante este período foram coletadas entre Novembro de 2001 a Fevereiro de 2002 e estão representadas pelo numeral II.

A tabela 4.7 mostra os valores calculados através do Coeficiente de Correlação de Pearson (r) entre concentração de fluoreto nas unhas de crianças residentes em Piracicaba, SP e dose de exposição ao mesmo, considerando a dieta e o dentifrício (Fase A), ou apenas a dieta como fonte de fluoreto (Fase B).

Tabela 4.7 - Coeficiente de correlação de Pearson (r) entre concentração de fluoreto nas unhas de crianças de Piracicaba, SP e dose de exposição ao mesmo, nas duas fases do estudo ($n = 23$).

	Dose		
	Dieta	Dentifrício	Total
Fase A (Dieta-F + Dentifrício-F)	0,0003 ($p = 0,9989$)	-0,0414 ($p = 0,8513$)	-0,0313 ($p = 0,8873$)
Fase B (Dieta-F)	-0,0968 ($p = 0,6605$)	--	-0,0968 ($p = 0,6605$)

Verifica-se que não houve correlação entre concentração de fluoreto nas unhas das crianças de Piracicaba, SP, e dose de exposição ao mesmo ($p > 0,05$).

5. DISCUSSÃO

Tendo em vista a importância de se monitorar a ingestão de fluoreto por crianças na faixa etária crítica para o desenvolvimento da fluorose dental, indicadores biológicos de exposição crônica/ sub-crônica a essa substância são desejáveis. Os estudos que compõe este trabalho visaram avaliar se a unha, cuja coleta é bastante simples e viável, é um indicador confiável de exposição a fluoreto, considerando as principais fontes de exposição, ou seja, a água de abastecimento público e os dentifrícios fluoretados.

Inicialmente, é preciso esclarecer que nestes estudos foi padronizado utilizar apenas unhas dos dedos das mãos pois, além da maior facilidade de coleta, foi demonstrado que a concentração de fluoreto nas unhas dos dedos das mãos é cerca de 50% maior que nas unhas dos pés (WHITFORD et al., 1999b). Segundo os autores, isso pode ser devido ao maior fluxo sanguíneo da região e/ou a uma maior velocidade de crescimento das unhas das mãos.

Quanto à modificação na técnica de extração de fluoreto das amostras de unha (microdifusão facilitada por HMDS), utilizada no Estudo II, verifica-se que ela permitiu aliar a alta sensibilidade da técnica descrita por WHITFORD (1996) à menor chance de erro analítico, da técnica original descrita por TAVES (1968).

Em relação ao Estudo I, seus resultados confirmaram os relatos de WHITFORD et al. (1999b), sobre a relação direta entre concentração de fluoreto na água e nas

unhas de crianças, inclusive com resultados semelhantes, principalmente nas regiões com baixa concentração de fluoreto na água. O mais relevante foi o Estudo I ter verificado esta relação nas unhas de crianças na idade crítica para o desenvolvimento de fluorose dental, quando ainda é possível preveni-la. Vale salientar que todas as crianças do Estudo I utilizavam dentifrício fluoretado para escovar os dentes, sendo que o diferencial na exposição ao fluoreto entre as três localidades advinha da sua concentração na água de abastecimento consumida.

Os dados do Estudo II em relação à dose de exposição ao fluoreto em Piracicaba, cidade com água 'otimamente' fluoretada (0,6-0,8 µg F/mL), estão em concordância com relatos científicos anteriores, estimados (ARMONIA et al., 1998) e determinados experimentalmente (ROJAS-SANCHEZ et al., 1999; LIMA & CURY, 2001). Entretanto, dentro do Estudo II houve incoerência quanto à dose devido à dieta, que foi maior na Fase A do que na Fase B. Não havia motivos para esta diferença; a dose pela dieta na Fase B poderia ser inclusive maior, pois a temperatura ambiental média foi estatisticamente maior na mesma, que ocorreu durante a primavera e verão, quando o consumo de líquidos pode ser aumentado (LIMA & CURY, 2003).

Já a variação da dose total de exposição a fluoreto entre as Fases A e B, devido à utilização de um dentifrício não-fluoretado na Fase B, não foi suficiente para alterar a concentração de fluoreto nas unhas formadas durante o período. A principal explicação para isso é a superestimação da dose devido aos dentifrícios.

A ingestão de fluoreto através dos dentífrícios pode ter sido ser superestimada pelas seguintes razões:

- o número de escovações por dia relatado pelas mães pode ser maior que o real;
- o valor calculado de dentífrício ingerido pode ser maior que o real pois nem todo dentífrício não ingerido consegue ser absolutamente recuperado (por exemplo, quando fica espuma no rosto da criança) (HARGREAVES et al., 1972);
- nem todo o fluoreto ingerido foi absorvido.

A absorção depende do pH, conteúdo e velocidade de esvaziamento gástricos. Segundo EKSTRAND et al.(1990), o fato de escovar os dentes logo após as refeições diminui bastante a absorção do fluoreto do dentífrício. Isso provavelmente pode ter ocorrido com as crianças do Estudo II, que escovavam os dentes (pelo menos na creche), logo após o almoço. Em contrapartida, a água freqüentemente é ingerida sozinha, quando então é quase totalmente absorvida no trato gastrintestinal.

Além disso, para ser absorvido, o fluoreto precisa estar na forma solúvel. Entretanto, dependendo do tipo de abrasivo do dentífrício, complexos pouco solúveis se formam. Sabe-se que 90% dos dentífrícios brasileiros contêm cálcio como abrasivo (DUARTE et al., 1999), que reduz a absorção do fluoreto por formar sais pouco solúveis com o mesmo (ROLDI & CURY, 1986).

Desta maneira, a relação linear dose-efeito prevista entre ingestão de água fluoretada e fluorose (FEJERSKOV et al., 1990) não se aplica aos dentifrícios.

A superestimação de dose devido aos dentifrícios é um fator que já foi utilizado para explicar porque se encontra uma prevalência de fluorose bem menor pela utilização de dentifrícios do que de suplementos, na mesma dose (FEJERSKOV et al., 1996). E também pode explicar porque em Piracicaba, SP, onde crianças estiveram submetidas a doses de fluoreto acima do limite aceito (0,05 a 0,07 mg F/kg peso/dia), pela dieta e dentifrício (LIMA & CURY, 2001), observa-se uma prevalência de fluorose (30%) bem menor do que previsto pela dose. Em acréscimo, foi demonstrado que a fluorose encontrada em escolares do mesmo Município não foi percebida pelos mesmos, sugerindo evidência da segurança da associação de água otimamente fluoretada e dentifrícios (MENEZES et al., 2002).

Ainda em relação aos dentifrícios, SAMPAIO et al. (1999) relataram que estes não contribuíram para a prevalência de fluorose dental numa população brasileira da Paraíba, que estava relacionada à concentração de fluoreto na água.

Acrescenta-se ainda que, apesar da variação na dose total de exposição ao fluoreto verificada entre as fases do Estudo II (0,044 mg F/kg/dia, o que correspondeu a uma dose 52,4% menor quando a exposição ao fluoreto foi apenas pela dieta), ter sido semelhante à obtida pelo estudo de WHITFORD et al. (1999b), não foi possível verificar variação no teor de fluoreto nas unhas, como no estudo americano. Vale lembrar que no estudo de WHITFORD et al. (1999b), um

adulto que ingeriu uma quantidade adicional de 3 mg F por um período de 30 dias, que correspondia a uma dose de aproximadamente 0,043 mg F/kg/dia (estimando que o peso fosse 70 kg). Entretanto essa dose adicional, além de não ter sido estimada como no Estudo II, provavelmente foi quase que totalmente absorvida, por estar mais biodisponível, já que foi ingerida na forma de três porções de 1 mg F (em solução de NaF), juntamente com café ou suco. Isso não aconteceu em relação à ingestão de fluoreto pela dieta nem pelo dentifrício no Estudo II. Em acréscimo, o voluntário do estudo americano era um adulto, no qual sabe-se que menor quantidade de fluoreto é incorporada aos ossos, enquanto que no Estudo II, realizado com crianças entre 20 e 30 meses de idade, prevê-se que maior quantidade de fluoreto incorporou-se aos ossos, restando menor quantidade plasmática para ser incorporada às unhas.

Finalmente, os dados obtidos nos dois estudos realizados sugerem que a concentração de fluoreto nas unhas das mãos de crianças na faixa etária crítica para o desenvolvimento da fluorose dental pode estar associada à quantidade que foi absorvida pelo organismo. Então, estando o fluoreto da água geralmente mais biodisponível em comparação àquele advindo dos dentifrícios, e sendo a estimativa da ingestão de fluoretos pela água/dieta mais precisa do que pelos dentifrícios, houve uma tendência de a concentração de fluoreto nas unhas estar relacionada à água de abastecimento público consumida, e não à utilização de dentifrício fluoretado.

6. CONCLUSÃO

Diante dos resultados obtidos nos dois estudos que constituíram este trabalho, pode-se concluir que:

- ☆ a concentração de fluoreto nas unhas de crianças na faixa etária crítica em termos de fluorose dental pode ser indicador da ingestão de fluoreto através da água de abastecimento;

- ☆ a concentração de fluoreto nas unhas de crianças na faixa etária crítica em termos de fluorose dental, expostas à água fluoretada, não parece ser um indicador biológico para diferenciar o efeito somatório da exposição sistêmica ao fluoreto do dentifrício.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

1. AL-DELAIMY, W.K. *et al.* Toenail nicotine levels as a biomarker of tobacco smoke exposure. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, Philadelphia, v.11, n.11, p.1400-1404, Nov. 2002.
2. AOBA, T. The effect of fluoride on apatite structure and growth. **Crit Rev Oral Biol Med**, Alexandria, v.8, n.2, p.136-153, 1997.
3. ARMONIA, P.L. *et al.* Riscos de fluorose dentária em crianças com três anos de idade que residem no Município de São Paulo e utilizam creme dental fluorado. **Rev Inst Ciênc Saúde**, São Paulo, v.16, n.1, p.13-19, 1998.
4. AYRES, M. *et al.* **BioEstat 2.0: Statistical Applications in Biological Sciences and Medicine** (In Portuguese). Belém: Sociedade Civil Mamirauá; Brasília: CNPq, 2000.
5. BARNHART, W.E. *et al.* Dentifrice usage and ingestion among four age groups. **J Dent Res**, Washington, v.53, n.6, p.1317-1322, Nov./Dec. 1974.
6. BAWDEN, J.W. *et al.* Consideration of possible biologic mechanisms of fluorosis. **J Dent Res**, Washington, v.74, n.7, p.1349-1352, July 1995.
7. BRATTHALL, D. Dental caries: intervened-interrupted-interpreted. Concluding remarks and cariography. **Eur J Oral Sci**, Copenhagen, v.104, n.4 pt.2, p.486-491, Aug. 1996.
8. BRATTHALL, D. *et al.* A study into the prevention of fissure caries using an antimicrobial varnish. **Int Dent J**, London, v.45, n.4, p.245-254, Aug. 1995.
9. BRUNETTI, A.; NEWBRUN, E. Fluoride balance of children 3 and 4 years old. **Caries Res**, Basel, v.17, n.2, p.171, Mar./ Apr. 1983.
10. BURT, B.A. The changing patterns of systemic fluoride intake. **J Dent Res**, Washington, v.71, n.5, p.1228-1237, May 1992.

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

11. CANGUSSU, M.C.T. *et al.* A fluorose dentária no Brasil: uma revisão crítica. **Cad Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.18, n.1, p.7-15, jan./fev. 2002.
12. CLARK, D.C. Trends in prevalence of dental fluorosis in North America. **Community Dent Oral Epidemiol**, Copenhagen, v.22, n.3, p.148-152, June 1994.
13. CZARNOWSKI, W.; KRECHNIAK, J. Fluoride in urine, hair and nails of phosphate fertilizer workers. **Br J Ind Med**, London, v.47, n.5, p.349-351, 1May 990.
14. De CAPRIO, A.P. Biomarkers: coming age for environmental health and risk assessment. **Environ Sci Technol**, Washington, v.31, p.1837-1848, 1997.
15. DEAN, H.T.; ARNOLD JR, F.A.; ELVOVE, E. Domestic water and dental caries . V. Additional studies of the relation of fluoride domestic waters to caries experience in 4,425 white children, aged 12 to 14 years, of 13 cities in 4 states. **Public Health Rep**, Boston, v.57, p.1155-1179, 1942.
16. DOWELL, T.B. The use of toothpaste in infancy. **Br Dent J**, London, v.150, n.9, p.247-249, May 1981.
17. DUARTE, F.F.; PISANESCHI, E.; CURY, J.A. Avaliação do flúor dos dentifrícios mais consumidos no Brasil e comercializados nas cinco regiões do país. **Rev ABOPREV**, Porto alegre, v.2, n.2, p.3-10, 1999.
18. EKSTRAND, J. Fluoride intake in early infancy. **J Nutr**, Bethesda, v.119, n.125, p.1856-1860, Dec. 1989.
19. EKSTRAND, J.; SPACK, C.J.; VOGEL, G. Pharmacokinetics of fluoride in man and its clinical relevance. **J Dent Res**, Washington, v.69, Spec. Issue, p.550-555, Feb. 1990.
20. EVANS, R.W.; DARVELL, B.W. Refining the estimate of the critical period for susceptibility to enamel fluorosis in human maxillary central incisors. **J Public Health Dent**, Raleigh, v.55, n.4, p.238-249, Fall 1995.
21. EVANS, R.W. The critical period of susceptibility to enamel fluorosis in developing human maxillary and mandibular teeth. **J Dent Res**, Washington, v.76, p.393, Mar. 1997 [Abstract 3039].

22. FEJERSKOV, O.; BÆLUM, V.; RICHARDS, A. Dose-response and dental fluorosis. In: FEJERSKOV, O.; EKSTRAND, J.; BURT, B.A. **Fluoride in Dentistry**. 2.ed. Copenhagen: Munksgaard, 1996. p.153-165.
24. FEJERSKOV, O.; MANJI, F.; BÆLUM, V. "The nature and mechanisms of dental fluorosis in man". **J Dent Res**, Washington, v.69, Spec. Issue, p.692-700, Feb. 1990.
25. GARLAND, M. *et al.* Toenail trace element levels as biomarkers: reproducibility over a 6-year period. **Cancer Epidemiol Biomarkers Prev**, Philadelphia, v.2, n.5, p.493-497, Sept./Oct. 1993.
26. GHADIRIAN, P. *et al.* A case-control study of toenail selenium and cancer of the breast, colon and prostate. **Cancer Detect Prev**, Oxford, v.24, n.4, p.305-13, 2000.
27. GRANDJEAN, P. Biomarkers in epidemiology. **Clin Chem**, Washington, v.41, n.12 pt.2, p.1800-1803, Dec. 1995.
28. GUHA-CHOWDHURY, N.; DRUMMOND, B.K.; SMILLIE, A.C. "Total fluoride intake in children aged 3 to 4 years _ a longitudinal study". **J Dent Res**, Washington, v.75, n.7, p.1451-1457, July 1996.
29. HARGREAVES, J.A.; INGRAM, G.S.; WAGG, B.J. A gravimetric study of the ingestion of toothpaste by children. **Caries Res**, Basel, v.6, n.3, p.237-243, 1972.
30. HELLER, K.E.; EKLUND, S.A.; BURT, B.A. Dental caries and dental fluorosis at varying water fluoride concentrations. **J Public Health Dent**, Richmond, v.57, n.3, p.136-143, Summer 1997.
31. HODGE, H.C. The concentration of fluorides in the drinking water to give the point of minimum caries with maximum safety. **J Am Dent Assoc**, Chicago, v.40, p.436-439, 1950.
32. HOLLOWAY, P.J.; ELLWOOD, R.P. The prevalence, causes and cosmetic importance of dental fluorosis in the United Kingdom: a review. **Community Dent Health**, London, v.14, n.3, p.148-155, Sept. 1997.

33. HOROWITZ, H.S. The effectiveness of community water fluoridation in the United States. **J Public Health Dent**, Richmond, v.56, n.5 Spec. Issue, p.253-258, 1996.
34. IE, Y.L.; SCHAEKEN, M.J.M. Effects of single and repeated application of chlorhexidine varnish on mutans streptococci in plaque from fissures of premolar and molar teeth. **Caries Res**, Basel, v.27, n.4, p.303-306, 1993
35. LEVERETT, D.H. Appropriate uses of systemic fluoride: considerations for the '90s. **J Public Health Dent**, Richmond, v.51, n.1, p.42-46, Winter 1991.
36. LEWIS, D.W.; BANTING, D.W. Water fluoridation: current effectiveness and dental fluorosis. **Community Dent Oral Epidemiol**, Copenhagen, v.22, n.3, p.153-158, June 1994.
37. LIMA, Y.B.O.; CURY, J.A. Ingestão de flúor por crianças pela água e dentifrício. **Rev Saúde Pública**, São Paulo, v.35, n.6, p.576-81, 2001.
38. LIMA, Y.B.O.; CURY, J.A. Seasonal variation of fluoride intake by children in a subtropical region. **Caries Res**, Basel, 2003 (no prelo).
39. LIN, T.H.; HUANG, Y.L.; WANG, M.Y. Arsenic species in drinking water, hair, fingernails and urine of patients with blackfoot disease. **J Toxicol Environ Health A**, London, v.53, n.2, p.85-93, Jan. 1998.
40. LONGNECKER, M.P. *et al.* Use of selenium concentration in whole blood, serum, toenails or urine as a surrogate measure of selenium intake. **Epidemiology**, Baltimore, v.7, n.4, p.384-390, July 1996.
41. MAJUMDAR, S.; CHATTERJEE, J.; CHAUDHURI, K. Ultrastructural and trace metal studies on radiographer's hair and nails. **Biol Trace Elem Res**, London, v.67, n.2, p.127-138, Feb. 1999.
42. MANJI, F. *et al.* Enamel changes im two low-fluoride areas in Kenya. **Caries Res**, Basel, v.20, n.4, p.371-380, 1986.

43. MATTOS-GRANER, R. O. **Relação entre os níveis bucais de estreptococos do grupo mutans , alguns de seus fatores de virulência e a incidência de cárie dental em crianças de 12 a 30 meses de idade.** São Paulo, 1999. 155p. Tese (Doutorado em Odontopediatria) – Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo.
44. McDONNELL, S.T.; O'MULLANE, D. Fingernails, a fluoride biomarker - relevance of growth rate and length. **J Dent Res**, v.80, n.4, p.1145, 2001.
45. MELSEN, F.; ERIKSEN, E.F.; MOSEKILDE, L. Clinical aspects of fluoride in bone. In: FEJERSKOV, O.; EKSTRAND, J.; BURT, B.A. **Fluoride in Dentistry**. 2.ed. Copenhagen: Munksgaard, 1996. p.96-111.
46. MENEZES, L.M.B. **Autopercepção da fluorose dental, bem-estar dos portadores e responsabilidade legal.** Piracicaba, 2001, 110p. Tese (Doutorado) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas.
47. MENEZES, L.M.B. *et al.* Autopercepção de fluorose pela exposição a flúor pela água e dentifício. **Rev Saúde Pública**, São Paulo, v.36, n.6, p.655-788, 2002.
48. NACCACHE, H. *et al.* Factors affecting the ingestion of fluoride dentifrice by children. **J Public Health Dent** , Richmond, v.52, n.4, p.222-226, 1992.
49. NARVAI, P.C.; CASTELLANOS, R.A. Levantamento epidemiológico em saúde bucal: estado de São Paulo, 1998. **Jornal do COSEMS - SP**, São Paulo, v.1, n.7, p.4, set. 1999.
50. OPHAUG, R. Determination of fluorine in biological materials: reaction paper. **Adv Dent Res**, Washington, v.8, n.1, p.87-91, 1994.
51. PAIVA, S.M.; CURY, J.A. Dentifício fluoretado e risco de fluorose dentária. **RPG Rev Pos Grad**, São Paulo, v.8, n.4, p.322-328, 2001.
52. PAIVA, S.M.; LIMA, Y.B.O.; CURY, J.A. Fluoride intake by Brazilian children from two communities with fluoridated water. **Community Dent Oral Epidemiol**, Copenhagen, 2003 (no prelo).

53. PENDRYNS, D.G. Risk of fluorosis in a fluoridated population. **J Am Dent Assoc**, Chicago, v.126, n.12, p.1617-1624, Dec. 1995.
54. PENDRYNS, D.G.; KATZ, R.V.; MORSE, D.E. Risk factors for enamel fluorosis in a fluoridated population. **Am J Epidemiol**, Baltimore, v.143, n.8, p.808-815, Sept. 1996.
55. PEREIRA, A.C.; CUNHA, F.L.; MENEGHIM, M.C.; Prevalência de cárie dentária e fluorose em escolares de áreas fluoretadas e não fluoretadas. In: REUNIÃO DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISA ODONTOLÓGICA, 15., Águas de São Pedro. **Resumos dos trabalhos apresentados ...** São Paulo: SBPqO, 1998. [resumo B 081].
56. ROJAS-SANCHEZ, F. *et al.* "Fluoride intake from foods, beverages and dentifrice by young children in communities with negligibly and optimally fluoridated water: a pilot study". **Community Dent Oral Epidemiol**, Copenhagen, v.27, n.4, p.288-297, Aug. 1999.
57. ROLDI, C.R.; CURY, J. A. Metabolismo do fluoreto após a ingestão de dentifícios. **RGO**, Porto Alegre, v.34, n.5, p.425-427, 1986.
58. SAMPAIO, F.C. *et al.* Dental fluorosis and nutritional status of 6-to 11-year-old children living in rural areas of Paraíba, Brazil. **Caries Res**, Basel, v.33, n.1, p.66-73, 1999.
59. SCHAMSCHULA, R.G. *et al.* "Physiological indicators of fluoride exposure and utilization: an epidemiological study." **Community Dent Oral Epidemiol**, Copenhagen, v.13, n.2, p.104-107, Apr. 1985.
60. SHULMAN, J.D.; LALUMANDIER, J.A.; GRABENSTEIN, J.D. The average daily dose of fluoride: a model based on fluid consumption. **Pediatr Dent**, Chicago, v.17, n.1, p.13-18, Jan./ Feb. 1995.
61. SILVA, M.; REYNOLDS, E.C. Fluoride content of infant formulae in Australia. **Aust Dent J**, Sydney, v.41, n.1, p.37-42, Feb. 1996.
62. SIMARD, P. L. *et al.* The ingestion of fluoride dentifrice by young children. **J Dent Child**, Chicago, v.56, p.177-181, May/June 1989.

63. SZPUNAR, S.M.; BURT, B.A. Trends in the prevalence of dental fluorosis in the United States: a review. **J Public Health Dent**, Richmond, v.47, n.2, p.71-79, Spring 1987.
64. TAVES, D.R. Separation of fluoride by rapid diffusion using hexamethyldisiloxane. **Talanta**, London, v.15, p.969-974, 1968.
65. WANG, N.J.; GROPEN, A.M.; OGAARD, B. Risk factors associated with fluorosis in a non-fluoridated population in Norway. **Community Dent Oral Epidemiol**, Copenhagen, v.25, n.6, p.396-401, Dec. 1997.
66. WHITFORD, G.M. Intake and metabolism of fluoride. **Adv Dent Res**, Washington, v.8, n.1, p.5-14, June 1994.
67. WHITFORD, G.M. **The metabolism and toxicity of fluoride**. Basel: Karger, 1996. p.24-29. (Monographs in Oral Science, 16).
68. WHITFORD, G.M.; THOMAS, J. E.; ADAIR, S. M. Fluoride in whole saliva, parotid ductal saliva and plasma in children. **Arch Oral Biol**, Oxford, v.44, n.10, p.785-788, Oct. 1999a.
69. WHITFORD, G.M. *et al.* "Fingernail fluoride: a method for monitoring fluoride exposure". **Caries Res**, Basel, v.33, n.6, p.462-467, Nov./Dec. 1999b.
70. WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Fluorides and oral health. **WHO Technical report series 846**. Geneva: WHO, 1994. 37p.

ANEXOS

- ☆ **Anexo 01:** Certificado de aprovação do Estudo I pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP.
- ☆ **Anexo 02:** Certificado de aprovação do Estudo II pelo Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP.
- ☆ **Anexo 03:** Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, do Estudo I.
- ☆ **Anexo 04:** Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, do Estudo II.
- ☆ **Anexo 05:** Instruções aos pais para a coleta da Dieta-Duplicada.
- ☆ **Anexo 06:** Folheto educativo distribuído às professoras e pais dos alunos da creche à qual pertenciam os voluntários do Estudo II.
- ☆ **Anexo 07:** Resultados das concentrações de fluoreto nas unhas, do Estudo I.
- ☆ **Anexo 08:** Resultados das concentrações de fluoreto nas unhas, do Estudo II.
- ☆ **Anexo 09:** Exemplo de planilha (Excel) utilizada para calcular a concentração de fluoreto nos dentifrícios.
- ☆ **Anexo 10:** Exemplo de planilha (Excel) utilizada para calcular a concentração de fluoreto nos produtos da escovação.
- ☆ **Anexo 11:** Exemplo de planilha (Excel) utilizada para calcular a concentração de fluoreto nos alimentos (dieta).
- ☆ **Anexo 12:** Exemplo de planilha (Excel) utilizada para calcular a concentração de fluoreto nas unhas.




COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
Universidade Estadual de Campinas
Faculdade de Odontologia de Piracicaba
CEP-FOP-UNICAMP

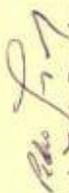
CERTIFICADO

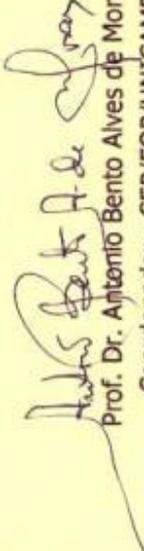
Certificamos que o Projeto de pesquisa intitulado "Relação entre concentração de flúor nas unhas e prevalência de fluorose dental", sob o protocolo nº **93/99**, do Pesquisador(a) **Aliete Adeli Otta Rui** sob a responsabilidade do Prof(a). Dr(a). **Jaime Aparecido Cury**, está de acordo com a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/MS, de 10/10/96, tendo sido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa - FOP.

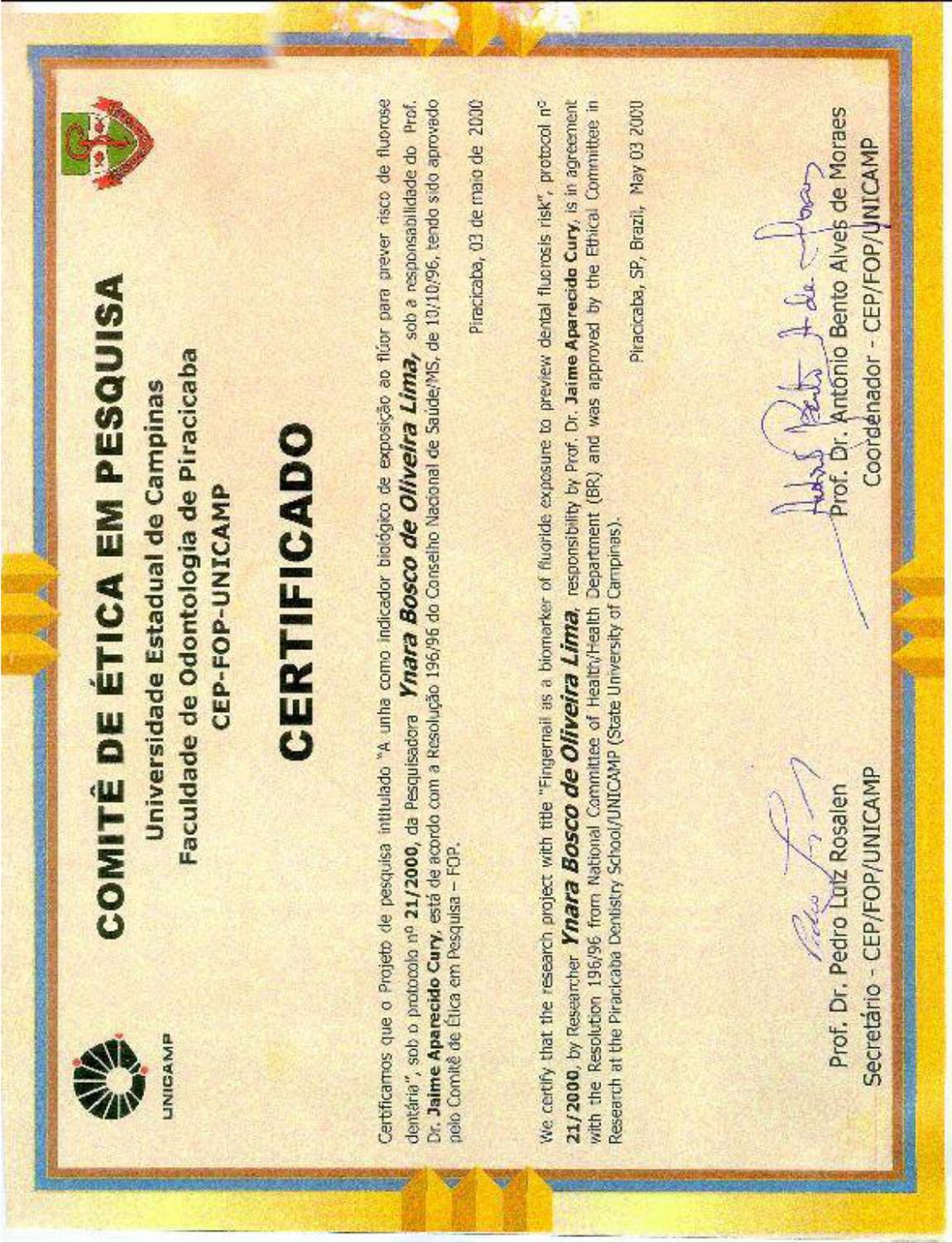
Piracicaba, 25 de janeiro de 2000

We certify that the research project with title "Analyze of Gene Promoter Polymorphism of Metalloproteinases, TIMPs and TGF-: Correlation with Periodontal Disease Severity in Adults and Early Onset Periodontitis.", protocol nº **93/99**, by Researcher **Aliete Adeli Otta Rui**, responsibility by Prof. Dr. **Jaime Aparecido Cury**, is in agreement with the Resolution 196/96 from National Committee of Health/Health Department (BR) and was approved by the Ethical Committee in Research at the Piracicaba Dentistry School/UNICAMP (State University of Campinas).

Piracicaba, SP, Brazil, January 25 2000


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


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



ANEXO 03

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

NOME DA CRIANÇA: _____ DATA DE NASC.: _____

NOME DO RESPONSÁVEL: _____

As informações contidas neste prontuário foram fornecidas pelas cirurgiãs dentistas Aliete Adeli Otta Rui e Ynara Bosco de Oliveira Lima, sob orientação do Prof. Dr. Jaime A. Cury, com o objetivo de firmar acordo por escrito mediante o qual o voluntário da pesquisa (através de seus pais ou responsáveis) autoriza sua participação, com pleno conhecimento da natureza dos procedimentos a que se submeterá, com a capacidade de livre arbítrio e sem qualquer coação.

1. Título do Trabalho Experimental

RELAÇÃO ENTRE CONCENTRAÇÃO DE FLÚOR NAS UNHAS E PREVALÊNCIA DE FLUOROSE DENTAL

2. Objetivos

Determinar a quantidade total de flúor presente nas unhas de crianças, sob diferentes dosagens de flúor na água de abastecimento, relacionando o efeito nos dentes.

3. Justificativa

A importância do flúor na prevenção e controle da cárie dentária é amplamente conhecida. Porém quando ingerido em quantidade excessiva na idade em que os dentes estão sendo formados, pode causar um efeito indesejável conhecido como fluorose dentária. A meta é submeter as pessoas a dosagens que forneçam o máximo de proteção contra a cárie e o mínimo de fluorose dental. Isto tem sido difícil, inclusive pelo desconhecimento da quantidade total de flúor ingerida pela criança através de dentífricos e dieta. Contudo, a literatura odontológica é escassa de trabalhos que possam orientar neste sentido serviços de saúde pública, profissionais e a população em geral, sendo a intenção do presente estudo contribuir para o conhecimento sobre a ingestão de flúor, buscando o máximo benefício com o mínimo risco.

4. Procedimentos da Fase Experimental

O estudo envolverá ao todo 6 grupos: são crianças de 2 faixas etárias, residentes em 3 localidades diferentes. A primeira faixa etária corresponde dos 18 aos 36 meses de idade; a outra faixa etária corresponde dos 7 aos 8 anos de idade.

As localidades diferentes são: uma região com níveis desprezíveis de flúor na água, uma região com concentração 'ótima' de flúor na água e outra região que possui excesso de flúor natural em sua água.

Serão coletados pedaços de unha de cada criança individualmente, limpando a tesoura com álcool a 70%, sendo que se houver qualquer ferimento a tesoura será esterilizada. Os fragmentos serão conduzidos ao Laboratório de Bioquímica Oral da FOP-UNICAMP para análise da quantidade de flúor presente. Serão fotografados apenas os dentes permanentes anteriores para avaliação do grau de fluorose presente, por profissionais não envolvidos na pesquisa. As fotografias serão tiradas em local reservado, individualmente, de maneira a preservar a identidade e privacidade de cada criança. Somente as pesquisadoras terão acesso à identificação das fotos.

5. Desconfortos ou Riscos

Nenhum desconforto ou risco é esperado neste tipo de pesquisa.

6. Benefícios do Experimento

Os resultados do trabalho indicarão se a análise de concentração de flúor da unha pode ser um indicativo da exposição total ao flúor, servindo como um indicativo do risco de fluorose dental.

7. Informações e Garantia de Esclarecimento

Os voluntários e seus pais/responsáveis têm garantia que receberão respostas a qualquer pergunta ou esclarecimento acerca dos procedimentos, benefícios e aspectos pertinentes à pesquisa.

A pesquisadora e seu orientador assumem o compromisso de proporcionar informação atualizada obtida durante o estudo, ainda que esta possa afetar a vontade do indivíduo em continuar participando.

8. Retirada de Consentimento

Os voluntários e seus pais/responsáveis têm a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem penalização alguma e sem prejuízo de seus cuidados.

9. Garantia de Sigilo

Os dados obtidos na pesquisa têm finalidade exclusivamente científica, sendo assegurada a privacidade e não-estigmatização dos sujeitos da pesquisa.

10. Indenização aos Danos

Não há danos previsíveis decorrentes desta pesquisa, uma vez que esta não envolve procedimentos invasivos.

11. Consentimento Pós-Informação

Declaro que, após ler as informações acima e ter sido suficientemente esclarecido(a) pelas cirurgiãs dentistas Aliete Adeli Otta Rui e Ynara Bosco de Oliveira Lima, e pelo Prof. Dr. Jaime A. Cury estou plenamente de acordo com a realização do experimento. Assim, garanto minha colaboração e autorizo a participação do(a) menor

_____, sob minha responsabilidade neste estudo.
Piracicaba, ____ de _____ de ____.

ASSINATURA: _____ RG: _____

ATENÇÃO: A sua participação em qualquer tipo de pesquisa é voluntária. Em caso de dúvida quanto aos seus direitos, escreva para o Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP. Endereço - Av. Limeira, 901 - CEP/FOP - 13414-900 - Piracicaba - SP

ANEXO 04

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

As informações contidas neste prontuário foram fornecidas pela Doutoranda Ynara Bosco de Oliveira Lima, sob orientação do Prof. Jaime A. Cury, com o objetivo de firmar acordo por escrito mediante o qual o voluntário da pesquisa (através de seus pais ou responsáveis) autoriza sua participação, com pleno conhecimento da natureza dos procedimentos a que se submeterá, com a capacidade de livre arbítrio e sem qualquer coação.

1. Título do Trabalho: A Unha Como Indicador Biológico De Exposição Ao Fluoreto Para Prever Risco De Fluorose Dental.

2. Objetivo: avaliar a unha como indicador biológico de exposição a flúor pela dieta (água) e/ou dentífrico.

3. Justificativa: a importância do fluoreto na prevenção e controle da cárie dentária é amplamente conhecida. Porém, quando ingerido em quantidade excessiva na idade em que os dentes estão sendo formados, pode causar um efeito indesejável conhecido por fluorose dental. A meta é submeter as pessoas a dosagens que forneçam o máximo de proteção contra a cárie e o mínimo de fluorose. Tendo em vista a preocupação atual com o aumento da prevalência de fluorose dentária, intensificou-se a busca por indicadores biológicos para prever o seu risco. A unha tem sido sugerida como um indicador biológico de exposição a fluoreto devido à poluição ambiental. Também se demonstrou haver relação entre a concentração de fluoreto na unha de crianças e o teor de fluoreto na água ingerida pelas mesmas. Sabe-se que fluorose dentária é decorrente da dose de fluoreto a que crianças são submetidas durante a formação dos dentes. Entretanto, não há pesquisa na literatura relacionando dose de fluoreto a que crianças são submetidas e sua concentração nas unhas. Assim, o objetivo do presente trabalho será tentar mostrar se a unha pode ser usada como um indicador biológico de exposição a fluoreto. Isto possibilitaria prever o risco de fluorose nos dentes permanentes e adotar medidas para reduzir a ingestão de fluoreto.

4. Procedimentos da Fase Experimental: o estudo contará com voluntários, na faixa etária de 20 a 30 meses, que frequentam a Creche São Vicente de Paulo, em Piracicaba-SP. Possuirá duas fases, A e B. Na fase A as crianças escovarão os dentes com um dentífrico com fluoreto (1100 µg F/g, o padrão) e, na fase B, escovarão os dentes com um dentífrico sem fluoreto. Em cada fase será feita a determinação da ingestão de fluoreto através da dieta (coleta da dieta-duplicada) e da escovação (coleta dos produtos da escovação) com dentífricos fluoretados, e suas unhas dos dedos das mãos serão coletadas semanalmente. Para a coleta das unhas, é necessário deixá-las crescer por aproximadamente uma semana. A coleta será feita de todos os dedos das mãos pela pesquisadora, na creche, ou pelos pais da criança, em casa, conforme decidido pelos pais, utilizando tesoura ou cortador adequado. No caso de coleta na creche, a tesoura será limpa entre cada criança, utilizando álcool a 70%. As unhas serão levadas ao Laboratório de Bioquímica Oral da FOP-UNICAMP, para serem analisadas.

5. Desconfortos ou Riscos: o risco de ferimento e contaminação durante o corte das unhas será minimizado pois a tesoura será desinfetada com álcool a 70% na coleta entre cada criança, na creche. Ou será feita pelos pais, em casa. A utilização de dentífrico sem fluoreto não submeterá as crianças a um maior risco de desenvolvimento de cárie, visto que serão tomadas providências (aplicação de verniz de clorexidina e instruções aos pais e professores sobre higiene bucal, para que não haja incremento de cárie).

16. Benefícios do Experimento: será possível avaliar a importância da análise da unha como indicador de exposição ao fluoreto. Se este método for, além de conveniente, confiável, poderá ser utilizado na determinação de risco de fluorose.

7. Métodos Alternativos Existentes: ao invés de se coletar a unha, para refletir a exposição sistêmica passada de fluoreto, poderia ser coletado cabelo, dentina ou osso. Mas a unha mostrou-se mais adequada, tanto pela viabilidade e facilidade de sua coleta em crianças pequenas, como por já estar sendo estudada para este fim.

8. Forma de Acompanhamento e Assistência: a pesquisadora, na creche, coletará unhas, os alimentos consumidos e acompanhará a escovação dos dentes das crianças, coletando os produtos da escovação. Os pais coletarão as unhas de seus filhos, se desejarem, bem como a alimentação realizada em casa. Caso haja qualquer necessidade de esclarecimentos, os pais poderão entrar em contato com a pesquisadora na própria creche, ou através de telefone.

9. Informações e Garantia de Esclarecimento: os voluntários e seus pais/responsáveis têm garantia de que receberão respostas a qualquer pergunta ou esclarecimento acerca dos procedimentos, benefícios e aspectos pertinentes à pesquisa. A pesquisadora e seu orientador assumem o compromisso de proporcionar informação atualizada obtida durante o estudo, ainda que esta possa afetar a vontade do indivíduo em continuar participando.

10. Retirada de Consentimento: os voluntários e seus pais/responsáveis têm a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar do estudo, sem penalização alguma e sem prejuízo de seus cuidados.

11. Garantia de Sigilo: os dados obtidos na pesquisa têm finalidade exclusivamente científica, sendo assegurada a privacidade e não-estigmatização dos sujeitos da pesquisa.

12. Ressarcimento: todo o gasto com a coleta da dieta-duplicada será ressarcido na forma de alimentos não perecíveis.

13. Indenização aos Danos: caso alguma criança venha a desenvolver cárie, o que não se espera, a pesquisadora se compromete a providenciar o tratamento da mesma.

14. Consentimento Pós-Informação:

Declaro que, após ler as informações acima e ter sido suficientemente esclarecido(a) pela Doutoranda Ynara Bosco de Oliveira Lima e pelo Prof. Dr. Jaime A. Cury, estou plenamente de acordo com a realização do experimento. Assim, garanto minha colaboração e autorizo a participação do(a) menor _____, sob minha responsabilidade, neste estudo. Piracicaba, ____ de _____ de _____.

ASSINATURA: _____ RG: _____

ATENÇÃO: A sua participação em qualquer tipo de pesquisa é voluntária. Em caso de dúvida quanto aos seus direitos, escreva para o Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP: Av. Limeira, 901 - CEP/FOP - 13414-900 - Piracicaba - SP

ANEXO 05

INSTRUÇÕES PARA A COLETA DA DIETA DUPLICADA

1. Serão 2 dias de coleta, com intervalo de 7 dias entre cada um.
2. Todos os alimentos (sólidos e líquidos, inclusive água) ingeridos pela criança deverão ser coletados na mesma quantidade em que forem consumidos.
3. Para medir a quantidade e o volume dos alimentos, utilize medidas caseiras tais como: xícaras, colheres de sopa, copos, ... É importante que esta medida seja o mais precisa possível.
4. Alimente a criança normalmente, sem alterar a dieta por causa da pesquisa.
5. As partes dos alimentos não ingeridas não deverão ser coletadas. Exemplos: ossos, peles, sementes, cascas.
6. No caso das refeições principais, servir porções iguais em 2 pratos separados, oferecer um dos pratos à criança e deixar o outro para fazer a coleta. Esperar que a criança termine sua porção; então adicionar ou remover do prato de coleta porções iguais às deixadas ou acrescentadas no prato da criança.
7. No caso de um alimento ser ingerido, mas não coletado, a pesquisadora deve ser avisada, para acrescentá-lo ao material coletado.
8. Caso a criança tenha algum problema (vômito, indisposição) durante o experimento, favos avisar a pesquisadora.
9. O desenvolvimento da pesquisa só será possível com a sua colaboração.
10. Caso tenha alguma dúvida, favor entrar em contato com a pesquisadora ou com o orientador.

Telefones para contato: 430-5303 (horário comercial)
432-3659 (residência)

Desde já agradecemos pela sua colaboração.

Ynara Bosco de Oliveira Lima (pesquisadora)
Prof. Dr. Jaime A. Cury (orientador)

ANEXO 06

Vamos cuidar do nosso sorriso!



Folheto educativo preparado por:

- ⇒ Ynara Bosco de Oliveira Lima - aluna de Doutorado em Odontologia da FOP/ UNICAMP
- ⇒ Lília Alves Rocha - aluna de Graduação em Odontologia da FOP/ UNICAMP

CÁRIE DENTAL

Como acontece?

Toda vez que comemos ou bebemos alimentos contendo açúcar (balas, doces...), as bactérias da nossa boca que estão grudadas nos dentes produzem ácidos, que lentamente destroem nosso dente. Isso, repetindo-se várias vezes acaba, depois de um certo tempo, formando um buraco no dente. Dependendo da profundidade deste buraco, o dente começa a doer. Isto é cárie dental: uma doença provocada por bactérias e açúcar.

O que fazer?

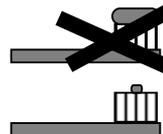
Só fechar os buracos não impedirá o aparecimento de novas cáries em outros dentes ou mesmo em volta da obturação.

É possível prevenir o aparecimento de novas cáries e até mesmo nunca tê-las! Como?

- ⇒ Escovando os dentes (depois de comer) para remover as bactérias e restos de alimentos ;
- ⇒ controlando o número de vezes por dia que consome produtos com açúcar. Limite-se a utilizá-los como sobremesa ;
- ⇒ utilizando flúor (que já existe nas pastas de dente e na água de beber, vinda da torneira da cidade).

10 MANDAMENTOS DO SORRISO BRILHANTE

1. Escove os dentes, principalmente antes de dormir.
2. Use pasta com flúor.
3. Troque de escova quando as cerdas estiverem tortas.
4. Limite o consumo de doces como sobremesa.
5. Coloque pouca pasta de dente na escova da criança.



6. Estimule a criança cuspir a espuma enquanto escova os dentes.
7. Pasta de dente é para escovar os dentes e não para ser comida!
8. Beba água de abastecimento (vinda da torneira), pois ela contém flúor.
9. Não dê medicamento com flúor para a criança.
10. Lembre-se: **a saúde começa pela boca. Então, SORRIA!!!**

FLUOROSE DENTAL

O flúor é muito importante para combater a cárie. Entretanto, se a criança comer muito flúor enquanto seus dentes estão se formando (até os 3 anos de idade, principalmente), estes podem perder um pouco do seu brilho e ter manchinhas brancas.

ATENÇÃO: nem toda mancha branca nos dentes é fluorose! Na dúvida consulte um dentista, pois pode até ser cárie!

Como a criança ingere flúor?

A água de abastecimento (da torneira) e praticamente todas as pastas de dente contêm flúor.

Quem deve ter cuidado para não ingerir muito flúor?

Crianças com até 5 anos de idade, e principalmente entre 1 e 3 anos, quando os dentes da frente estão se formando.

Como evitar a fluorose dental ?

- ⇒ Não dar medicamentos com flúor para a criança ;
- ⇒ colocar pouca pasta de dente na escova da criança (apenas "suja" a escova de dente com pasta);
- ⇒ estimular a criança a cuspir a espuma enquanto escova os dentes.

F (ppm) nas unhas de crianças entre 1 e 3 anos de idade, de três localidades diferentes

mar/03
Estudo I
Dourado
Ynara

CORDEIRÓPOLIS		PIRACICABA		ASSISTÊNCIA	
90	1.73	1	3.52	1 >	8.87
91	2.08	2	2.10	2 <	2.08
92 <	0.64	3	3.84	3	3.42
93 <	0.64	4	1.98	5	4.22
95	1.36	5 <	0.80	6	5.33
97 >	4.70	6	1.39	7	3.52
98	2.01	7 >	6.20	8	7.77
99	0.89	8	2.05	10	3.36
101	1.76	9	4.08	11	5.03
102	1.14	10	4.18	12	4.88
103	0.68	11	2.14	14	2.41
104	0.69	12	1.53	16	2.96
105	0.94	13	0.98	18	2.85
106	2.56	15	3.22	23	4.37
107	2.00	16	4.29	25	
108	2.64	17	3.11	26	
109	1.53	18	5.94	27	2.58
MÉDIA	1.65	19	2.05	28	2.66
DP	1.03	20	1.65	MÉDIA	4.14
EP	0.25	21	1.88	DP	1.91
var	1.06	MÉDIA	2.85	EP	0.48
IC 95%	1.16 a 2.14	DP	1.54	var	3.66
n	17	EP	0.34	IC 95%	3.21 a 5.08
		var	2.36	n	16
		IC 95%	2.17 a 3.52		
		n	20		

Concentração de fluoreto nas unhas (µg F/g unha) das crianças do Estudo II (Piracicaba, n = 23):

criança	Média dos valores por coletas																							
	GRUPO I: Formadas antes do estudo e durante a Fase A (JUNHO A OUTUBRO 2001)											GRUPO II: durante a Fase B (NOVEMBRO 2001 A FEVEREIRO 2002)												
	coleta 1	coleta 2	coleta 3	coleta 4	coleta 5	coleta 6	coleta 7	coleta 8	coleta 9	coleta 10	coleta 11	coleta 12	média	coleta 13	coleta 14	coleta 15	coleta 16	coleta 17	coleta 18	coleta 19	coleta 20	média		
1	5,47	2,31	3,76	3,545	1,79	1,15	1,64	2,24	3,01	2,75	2,21	2,71	2,71	2,12	2,31	2,535	2,14	2,31	5,8	1,86	1,12	3,19	3,19	
2	6,68	1,75	2,97	2,97	2,72	3,62	2,02	1,45	2,86	2,75	2,21	3,03	2,65	3,57	3,67	4,605	3,46	2,14	1,99	1,86	1,12	2,65	2,65	
3	7,43	1,18			1,55	2,17	1,43	1,78	3,02	1,16	1,545	1,73	3,13	4,4	0,93	2,05	3,35	3,46	3,35	1,87	3,65	2,58	2,58	
4	4,23	2,81	2,92	2,66	4,75			5,21	2,80	2,80	5,33	3,76	5,21	4,4	0,93	7,75	6,56	6,56	4,87	3,855	3,02	5,21	5,21	
5	3,4	4,00	2,61		5,73			2,54	3,47	3,47		3,48	3,48	4,13	4,13	4,815	5,51	2,85	2,92	3,5	2,44	3,87	3,87	
6	4,27	2,48	3,27	1,63	2,52	3,54	4,47	3,345	3,48	2,63	1,5	3,01	3,01	3,83	4,71	3,19	3,49	2,92	2,92	3,5	2,44	3,87	3,87	
7	2,19	1,24	2,07	1,575	2,33	1,16	1,16	1,37	2,87	2,91	3,01	1,875	2,05	2,67	2,54	2,176667	2,895	1,675	2,555	3,44	1,71	2,46	2,46	
8	2,21	4,95	2,65	1,22	3,54			2,7	2,87	2,91	2,62	2,84	2,84	2,47	2,47									
9	1,80			1,85	1,86	1,91	1,35	1,47	1,78	1,54	1,76	1,70	1,70	2,4	2,4	1,74	2,99	2,99	2,32	1,75	0,74	2,04	2,04	
10	4,3	2,12	1,69	2,72	1,27			1,34	1,34	1,34		2,19	2,19	1,46	1,46							1,60	1,60	
11	1,24	0,67		4,45	2,33			0,9			1,76	2,07	2,07	3,1	3,1	1,86	1,365	1,365	1,74	1,74	1,22	2,11	2,11	
12	1,06			4,05	1,47			1,28			3,49	1,71	1,71	2,45	2,45							3,32	3,32	
13	3,11	2,60	4,2	2,09	4,96	6,35	6,48	2,44	3,80	1,73	2,75	3,81	3,81	2,45	2,45	4,63	2,32	4,97	3,33	1,74	1,22	2,11	2,11	
14	2,16	3,07	2,29	1,165	1,35	1,11	0,83	1,62	1,62	1,49		1,76	1,76	2,45	2,45	3,51	2,32	4,97	3,33	1,74	1,22	2,11	2,11	
15	5,92	5,54	2,84	2,84	1,66	1,85	1,75	1,54	4,76	4,07	3,79	3,56	3,56	4,32	4,32	1,63	2,32	3,17	3,33	1,74	1,22	2,11	2,11	
16	3,51	2,42	2,84	2,82	3,06	1,5	1,41	3,2	4,76	4,07	3,79	3,56	3,56	3,26	3,26	4,72	2,97	3,17	3,33	1,74	1,22	2,11	2,11	
17	1,97	2,42	2,885	2,285	3,86	1,91	2,31	1,91	1,72	4,07	2,26	2,66	2,66	1,42	1,42	2,35	2,97	5,14	0,74	1,22	1,22	2,11	2,11	
18	1,64			1,91	1,91			1,95	2,30	4,07	2,26	2,66	2,66	2,36	2,36	1,11	1,8	5,14	0,74	1,22	1,22	2,11	2,11	
19	2,81	3,15	1,99	1,635	1,39	2,19	1,24	1,80	1,80	4,07	3,08	2,24	2,24	3,65	3,65	1,11	1,8	5,14	0,74	1,22	1,22	2,11	2,11	
20	1,45	2,80	3		3,88			3,92	1,80	4,07	3,08	2,24	2,24	3,65	3,65	1,11	1,8	5,14	0,74	1,22	1,22	2,11	2,11	
21	1,3	2,03	1,04	0,72	3,88	1,83	0,97	2,58	3,92	1,21	3,25	3,20	3,20	1,8	1,8	2,85	2,26	1,57	5,79	2,05	2,07	2,31	2,31	
22	3,24	2,66	2,64	2,36	2,74	2,58	1,99	1,96	1,00	1,21	2,44	2,68	2,68	2,87	2,87	2,93	2,96	1,57	5,79	2,05	2,07	2,31	2,31	
23	1,68	1,26	0,85	1,00	1,34	1,47	1,56	0,72	1,32	0,97	0,82	1,19	0,91	1,04	1,04	1,72	1,62	1,57	5,79	2,05	2,07	2,31	2,31	
24	3,52	1,60	0,72	1,01	1,79	2,15	2,49	0,52	1,74	0,93	0,87	1,43	0,82	1,04	1,04	2,97	2,64	2,51	2,84	1,14	1,03	0,89	0,89	
25																								
26																								
27																								
média																								
dp																								
var																								

ANEXO 09

Curva de Calibração para Análise de Flúor em Dentífricos

Ynara
Doutorado

ppm F	vol. mL	F µg	log F	mV	log F calc.	µg F Calc.	C.V. %
0.5	2	1.00	0	107.8	0.000393	1.00	0.09
1	2	2.00	0.30103	90.1	0.297524	1.98	-0.81
2	2	4.00	0.60206	71.6	0.608084	4.06	1.38
4	2	8.00	0.90309	54.2	0.900179	7.95	-0.67

intercepção 1.810038 inclinação -0.01679 RQuad. 0.999874

Blank	mV	log F calc.	µg F calc.	µg F esp.	ppm F Obs.	ppm F esp.	Variação
	201.1	-1.56584	0.03	0	0.11	0	
Teste	65.6	0.708807	5.11	5	20.46	20	2.24
Teste	65.6	0.708807	5.11	5	20.46	20	2.24
Teste	65.8	0.705449	5.08	5	20.30	20	1.48
Média					20.41	20.00	1.99

Amostras	FLUÓR IÔNICO SOLÚVEL (Fi)				FLUÓR SOLÚVEL TOTAL (MFP + Fi)				FLUÓR TOTAL (MFP+Fi+Fins)						
	Peso (mg)	mV	log F calc.	µg F calc.	µg F corríg.	ppm F Obs.	mV	log F calc.	µg F calc.	µg F corríg.	ppm F obs.	mV	log F calc.	µg F calc.	µg F corríg.
P1a	145	183.8	-1.27542	0.05	0.03	7.1	187.8	-1.34257	0.05	0.02	5.0	121.6	-0.23127	0.59	0.56
P1b	116.9	184.2	-1.28214	0.05	0.03	8.6	191.8	-1.40972	0.04	0.01	4.0	128.9	-0.35381	0.44	0.42
P2a	134.1	184.4	-1.2855	0.05	0.02	7.4	190.3	-1.38454	0.04	0.01	4.2	126.4	-0.31185	0.49	0.46
P2b	138.5	180.4	-1.21835	0.06	0.03	9.6	187.4	-1.33586	0.05	0.02	5.5	124.9	-0.28667	0.52	0.49
P3a	144.5	183.3	-1.26703	0.05	0.03	8.5	192.7	-1.42483	0.04	0.01	2.9	123.9	-0.26988	0.54	0.51
P3b	142.7	187.6	-1.33921	0.05	0.02	5.2	196.4	-1.48694	0.03	0.01	1.5	123.2	-0.25813	0.55	0.52
Sa	106.6	112.1	-0.07179	0.85	0.82	307.9	82.3	0.428463	2.68	2.65	996.2	73.9	0.569474	3.71	3.68
Sb	100.6	112.7	-0.08186	0.83	0.80	318.5	82.9	0.418391	2.62	2.59	1031.2	75.6	0.540936	3.47	3.45
A1a	135.1	123.8	-0.2682	0.54	0.51	151.6	78.5	0.492254	3.11	3.08	911.7	72.1	0.599691	3.98	3.95
A1b	109.6	127.7	-0.33367	0.46	0.44	159.4	83	0.416712	2.61	2.58	942.8	76.5	0.525828	3.36	3.33
A2a	124.8	124.8	-0.28499	0.52	0.49	157.6	78.5	0.492254	3.11	3.08	986.9	73	0.584582	3.84	3.82
A2b	129.3	124.9	-0.28667	0.52	0.49	151.5	78.9	0.485539	3.06	3.03	937.8	72.5	0.592976	3.92	3.89
					média	154.5				média	962.4				média

Líliá eYnara
25/08/2001

Análise de FST nos Produtos da Escovação - fase A - DOUTORADO

ppm F	vol. mL	F µg	log F	mV	log F calc.	µg F Calc.	% variação
0.125	2	0.25	-0.6021	138.5	-0.5854	0.26	3.9
0.250	2	0.50	-0.3010	122.3	-0.2986	0.50	0.6
0.500	2	1.00	0.0000	106.2	-0.0159	0.96	-3.6
1.000	2	2.00	0.3010	89.5	0.2800	1.91	-4.7
2.000	2	4.00	0.6021	71.2	0.6030	4.01	0.2
4.000	2	8.00	0.9031	53.2	0.9200	8.32	4.0

$y = a + bx$

a interceptação 1.8589 **b** inclinação -0.0176 **RQuad.** 0.9992

Blanc	mV	log F calc.	µg F calc.
184	-1.3884	0.041	
Teste	64.4	0.7224	5.28

escovação na creche (professoras)

Amostras	log F Calc.	µg F Calc.	µg F corrig	diluição	µgF amostra	mgF	vol.rec.(mL)	mg F rec.	g pasta util.	ppm F pasta	mg F util.	mg F Ing.	% ingestão
10	132.9	-0.4865	0.3262	4	1.1411	0.0011	72	0.0822	0.28	1013.7	0.2838	0.2017	71.1
11	132.0	-0.4698	0.3390	4	1.1925	0.0012	70	0.0835	0.12	1013.7	0.1216	0.0382	31.4
14	100.0	0.0950	1.2444	4	4.8142	0.0048	99	0.4766	0.68	1013.7	0.6893	0.2127	30.9
16	116.0	-0.1874	0.6495	4	2.4345	0.0024	96	0.2337	0.33	1013.7	0.3345	0.1008	30.1
18	171.4	-1.1651	0.0684	4	0.1099	0.0001	63	0.0069	0.07	1013.7	0.0710	0.0640	90.2
27	113.4	-0.1415	0.7219	4	2.7241	0.0027	96	0.2615	0.42	1013.7	0.4258	0.1642	38.6
28	116.2	-0.1909	0.6443	4	2.4135	0.0024	92	0.2220	0.28	1013.7	0.2838	0.0618	21.8
22	107.2	-0.0321	0.9288	4	3.5515	0.0036	121	0.4297	0.53	1013.7	0.5373	0.1075	20.0
6	110.3	-0.0877	0.8172	4	3.1051	0.0031	100	0.3105	0.45	1013.7	0.4562	0.1457	31.9
32	158.0	-0.9295	0.1176	4	0.3069	0.0003	80	0.0246	0.08	1013.7	0.0811	0.0565	69.7
12	143.3	-0.6701	0.2138	4	0.6914	0.0007	55	0.0380	0.09	1013.7	0.0912	0.0532	58.3
9	125.7	-0.3595	0.4370	4	1.5846	0.0016	67	0.1062	0.39	1013.7	0.3953	0.2892	73.1
30	113.9	-0.1512	0.7060	4	2.6602	0.0027	111	0.2953	0.58	1013.7	0.5879	0.2927	49.8
3	140.6	-0.6224	0.2385	4	0.7906	0.0008	46	0.0364	0.11	1013.7	0.1115	0.0751	67.4
2	97.5	0.1382	1.3747	4	5.3353	0.0053	94	0.5015	0.63	1013.7	0.6386	0.1371	21.5
17	134.5	-0.5148	0.3056	4	1.0590	0.0011	69	0.0731	0.09	1013.7	0.0912	0.0182	19.9
31	134.5	-0.5148	0.3056	4	1.0590	0.0011	61	0.0646	0.14	1013.7	0.1419	0.0773	54.5

12/08/2002

Ynara

Análise de Flúor em Alimentos

Técnica da Microdifusão facilitada por HMDS (Taves, 1968)

Doutorado - Fase A - Análise 2

$$y = ax + b$$

intercepção=b
0.9288
inclinação=a
-0.0166
RQUAD =
0.9993

ppm F	vol. mL	µg F	log F	mV	log. F calc.	µg F calc.	variação%
0.4	1	0.4	-0.397940	79.4	-0.38702	0.410	2.55
0.8	1	0.8	-0.096910	61.9	-0.09658	0.801	0.08
1.6	1	1.6	0.204120	44.9	0.18502	1.531	-4.30
3.2	1	3.2	0.505150	25.8	0.50085	3.168	-0.99
6.4	1	6.4	0.806180	6.7	0.81834	6.582	2.84

Blank teste	mV	log F	microg F cal	microg F corr	microgFesp	variação %
180.1		-2.05452	0.009		0	
37.7		0.30428	2.015	2.006	2	0.31

Amostra	mV	Log F calc.	µg F calc.	µg F corrigido	vol. (mL)	vol.coletado	mg F inger	Peso (Kg)	dose(mg/kg)
2A	46.7	0.156	1.432	1.423	3	1240	0.588	13.9	0.042
5A	42.6	0.223	1.672	1.663	3	940	0.521	16.0	0.033
5B	36.9	0.318	2.077	2.069	3	980	0.676	16.0	0.042
8A	40.8	0.252	1.788	1.779	3	1080	0.641	12.3	0.052
11A	49.8	0.105	1.273	1.264	3	1300	0.548	13.4	0.041
25A	48.9	0.118	1.313	1.304	3	1320	0.574	13.8	0.042
1B	39.3	0.279	1.899	1.891	3	1520	0.958	13.1	0.073
2B	46.6	0.156	1.433	1.424	3	1220	0.579	13.9	0.042
4B	36.1	0.330	2.139	2.130	3	1100	0.781	10.5	0.074
7B	53.1	0.049	1.120	1.111	3	1460	0.541	11.6	0.047
13A	34.0	0.366	2.320	2.312	3	1200	0.925	12.5	0.074
9B	41.1	0.248	1.770	1.761	3	1120	0.657	10.9	0.060
14B	43.2	0.213	1.634	1.625	3	1300	0.704	11.6	0.061
19B	46.6	0.156	1.433	1.424	3	960	0.456	12.6	0.036
20B	41.6	0.240	1.737	1.728	3	1700	0.979	16.6	0.059
23B	38.3	0.295	1.972	1.963	3	1100	0.720	13.4	0.054

11 e 12/02/2003

análise 10

Microdifusão facilitada por HMDS - técnica NOVA (Taves + Whitford)

Ynara

Trabalho de **Doutorado**

PADRÕES NÃO-DIFUNDIDOS

ponto	pd (mM NaF)	mL padrão	mL água dd.	mL NaOH 0,05N	mL HAc 0,2N	quantidade µg F esp.	log F	mV	Log F calc.	quantidade µg F calc.
0.25	0.1	0.050	0.050	1.0	0.4	0.0048	-2.3233	103.3	-2.3188	0.0048
0.5	0.1	0.100	0.000	1.0	0.4	0.0095	-2.0223	85.1	-2.0312	0.0093
2.5	1	0.050	0.050	1.0	0.4	0.0475	-1.3233	39.5	-1.3123	0.0487
5	1	0.100	0.000	1.0	0.4	0.0950	-1.0223	21.6	-1.0289	0.0936

OBS: cálculos feitos em função de mV e QUANTIDADE DE FLUÓR (µg) na amostra

PADRÕES DIFUNDIDOS

ponto	pd (mM NaF)	mL padrão	mL água dd.	mL NaOH 0,05N	mL HAc 0,2N	quantidade µg F esp.	log F	mV	Log F calc.	quantidade µg F calc.
0.25	0.01	0.025	2.0	0.050	0.025	0.0048	-2.3233	96.7	-2.3184	0.0048
0.5	0.01	0.050	2.0	0.050	0.025	0.0095	-2.0223	79.9	-2.0297	0.0093
2.5	0.1	0.025	2.0	0.050	0.025	0.0475	-1.3233	38.6	-1.3193	0.0479
5	0.1	0.050	2.0	0.050	0.025	0.0950	-1.0223	21.4	-1.0237	0.0947

AMOSTRAS

UNHAS

n°	amostra	peso (g)	mL água	mL NaOH 0,05N	mL HAc 0,2N	mV	Log F calc.	µg F calc.	ppm F
1	10 (15 mar 02) a	0.0112	2.0	0.050	0.025	64.4	-1.7633	0.0172	1.54
2	10 (15 mar 02) b	0.0108	2.0	0.050	0.025	64.9	-1.7719	0.0169	1.57
3	10 (22 mar 02)	0.0133	2.0	0.050	0.025	49.0	-1.4986	0.0317	2.39
4	10 (12 abr 02) a	0.0115	2.0	0.050	0.025	59.4	-1.6774	0.0210	1.83
5	10 (12 abr 02) b	0.0080	2.0	0.050	0.025	63.6	-1.7496	0.0178	2.23
6	10 (29 abr 02) a	0.0112	2.0	0.050	0.025	70.4	-1.8664	0.0136	1.21
7	10 (29 abr 02) b	0.0115	2.0	0.050	0.025	64.4	-1.7633	0.0172	1.50
8	12 (23 abr 02) a	0.0072	2.0	0.050	0.025	66.2	-1.7942	0.0161	2.23
9	12 (23 abr 02) b	0.0066	2.0	0.050	0.025	65.8	-1.7874	0.0163	2.47
10	12 (10 mai 02) a	0.0075	2.0	0.050	0.025	83.8	-2.0967	0.0080	1.07
11	12 (10 mai 02) b	0.0057	2.0	0.050	0.025	90.0	-2.2033	0.0063	1.10
12	12 (17 mai 02)	0.0030	2.0	0.050	0.025	104.6	-2.4542	0.0035	1.17
13	14 (22 mar 02)	0.0094	2.0	0.050	0.025	62.2	-1.7255	0.0188	2.00
14	14 (5 abr 02)	0.0134	2.0	0.050	0.025	37.8	-1.3061	0.0494	3.69
15	14 (14 mai 02)	0.0099	2.0	0.050	0.025	66.5	-1.7994	0.0159	1.60
16	15 (5 dez 01) a	0.0084	2.0	0.050	0.025	52.6	-1.5605	0.0275	3.28
17	15 (5 dez 01) b	0.0070	2.0	0.050	0.025	54.0	-1.5846	0.0260	3.72
18	15 (13 dez 01)	0.0103	2.0	0.050	0.025	56.2	-1.6224	0.0239	2.32
19	15 (25 jan 02) a	0.0142	2.0	0.050	0.025	29.6	-1.1652	0.0684	4.81
									média