

UNIVERSIDADE DE LISBOA

FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA



**COMPARAÇÃO DA CINÉTICA DE LIBERTAÇÃO  
DE FLÚOR EM PASTAS FLUORETADAS**

**Marta Caldeira Lopes**

MESTRADO INTEGRADO

2012



UNIVERSIDADE DE LISBOA

FACULDADE DE MEDICINA DENTÁRIA



**COMPARAÇÃO DA CINÉTICA DE LIBERTAÇÃO  
DE FLÚOR EM PASTAS FLUORETADAS**

**Marta Caldeira Lopes**

**Dissertação orientada pelo Professor Doutor Duarte Marques**

MESTRADO INTEGRADO

2012



## **Agradecimentos**

Ao Professor Doutor António Mata um profundo agradecimento por me ter concedido a oportunidade de integrar no Grupo de Investigação em Bioquímica e Biologia Oral (GIBBO), onde encontrei um constante estímulo para a ciência e conhecimento.

Ao Professor Doutor Duarte Marques, orientador desta tese, expresso o meu agradecimento pela disponibilidade e rigor científicos inigualáveis. O seu exemplo enquanto investigador, espírito crítico e motivação para “dar o salto em frente”, foram cruciais para a realização deste trabalho. Pelo crescimento pessoal e profissional que proporcionou, o meu mais sincero agradecimento.

À Dra. Mariana Brito da Cruz por todos os momentos de trabalho conjunto. Pelo altruísmo e espírito incansável, em todas as horas. A sua frontalidade e sentido de humor sempre presentes foram essenciais na finalização deste trabalho.

Ao Dr. Ruben Trindade pelos conhecimentos informáticos e críticas construtivas constantemente transmitidas. Agradeço todas as horas despendidas e encorajamento.

Aos meus amigos e colaboradores do GIBBO – Catarina, Cristina, David, Ivo, João, Miguel, Ruben e Sara – pelo espírito de sacrifício, disponibilidade e interajuda demonstradas, dentro e fora do Laboratório.

À Turma de 5º ano de Medicina Dentária de 2012, em especial às Catarinas, Mariana, João, Rute, Filipa, Petra e Helena, pelas horas conjuntas de trabalho, insónias e alegrias, partilhadas. Esta jornada sem a vossa companhia, não teria o mesmo significado.

À minha família e amigos, em especial, aos meus pais, por acreditarem sempre no meu esforço e empenho. Muito obrigada pela presença constante, dedicação e apoio incondicional.

A todos reitero o meu apreço.



# Índice Geral

<b>Resumo</b> .....	VII
<b>Abstract</b> .....	VIII
<b>Introdução</b> .....	9
Flúor .....	10
1.1. Mecanismo de ação .....	11
1.2. Toxicidade .....	13
1.3. Fatores condicionantes .....	15
Dentífricos Fluoretados .....	16
2.1. Dentífricos de venda livre versus Dentífricos de prescrição médica .....	17
<b>Protocolo Experimental</b> .....	20
3.1. Objetivos .....	20
3.2. Materiais e métodos .....	20
3.2.1. Amostra: .....	20
1.2.2. Métodos: .....	21
1.2.3. Procedimentos Clínicos e Laboratoriais .....	21
i. 1ª Consulta: .....	22
ii. 2ª e 3ª Consultas: .....	24
1.3. Análise Estatística .....	24
<b>Resultados</b> .....	25
4.1. Caracterização da amostra: .....	25
4.2. Quantidade de flúor: .....	25
4.3. Liberação de flúor: .....	27
4.4. Fluxo Salivar: .....	30
<b>Discussão</b> .....	31
<b>Conclusão</b> .....	38
<b>Referências Bibliográficas</b> .....	39



## Índice de figuras, gráficos e tabelas

<b>Figura 1:</b> Ilustração esquemática das vias de metabolização e retenção do flúor nos diversos reservatórios do organismo. Retirado de Dawes & Weatherell, 1990. ....	11
<b>Figura 2:</b> Diagrama representativo do desenho de estudo desta monografia.....	22
<b>Gráfico 1:</b> Gráfico de barras representativo da média +/- 95% IC da quantidade de pasta de dentes colocada na escova (gramas) e a quantidade de flúor presente na mesma (mg), para os três dentífricos. ....	26
<b>Gráfico 2:</b> Gráfico de barras representativo da média +/- 95% IC da quantidade de flúor obtida no bochecho e no remanescente da escova, comparativamente à quantidade de flúor inicialmente aplicado na escova. ....	27
<b>Gráfico 3:</b> Gráfico de barras representativo da média +/- 95% IC de percentagem de flúor obtida no bochecho, no remanescente da escova e do total obtido na saliva durante todo o tempo de colheita.....	28
<b>Gráfico 4:</b> Massa cumulativa de flúor libertado ao longo dos 120 minutos, (+/-95% IC) durante a colheita de saliva para os três dentífricos. ....	29
<b>Gráfico 5:</b> Representação da cinética de libertação de flúor, em ppm, durante os 30 minutos de colheita salivar após escovagem, para os três dentífricos (+/-95% IC). ....	29
<b>Gráfico 6:</b> Representação geral da cinética de libertação de flúor, em ppm, durante os 120 minutos de colheita salivar após escovagem, para os três dentífricos (+/-95% IC). ....	30
<b>Gráfico 7:</b> Reprodução da média do fluxo salivar , em ml/min., durante os 120 minutos de colheita, para os três dentífricos e o somatório dos valores médios, (+/-95% IC). ...	30
<b>Tabela 1:</b> Tabela de caracterização da amostra da distribuição por género, idade e fluxo salivar não estimulado sob a forma de média e intervalo de confiança (IC) de +/- 95 %. .....	25



## Lista de abreviaturas

Intervalo descritivo	IC
Nível de confiança	P
Quilograma	kg
Miligrama	mg
Miligramas por quilograma	mg/Kg
Micromoles por Litro	$\mu\text{mol/L}$
Minuto	min
Mililitros por minuto	mL/min
Partes por milhão	ppm



## Resumo

**Objetivo:** Comparar a cinética de libertação de flúor para a saliva de três dentífricos com concentrações distintas, avaliar o seu impacto no fluxo salivar e determinar possíveis efeitos toxicológicos.

**Desenho de estudo:** Ensaio clínico aleatório duplamente cego – Estudo piloto

**Materiais e métodos:** Amostra constituída por 10 voluntários, da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa, distribuída em triplo *cross-over*. Todos os participantes experimentaram os três dentífricos. Determinou-se o fluxo salivar basal por métodos pré-estabelecidos nos tempos definidos. Após escovagem determinou-se o fluxo salivar, a quantidade de flúor no bochecho, retida na escova e libertada na saliva durante duas horas após a escovagem, recorrendo a métodos potenciómetros e a um microeléctrodo de flúor.

**Resultados:** A escovagem dentária não induz alterações estatisticamente significativas no fluxo salivar ( $P > 0,05$ ). Embora o padrão de cinética de libertação seja semelhante nos três dentífricos, existe um pico nos 5 minutos iniciais, estatisticamente superior para a *Colgate Duraphat*<sup>®</sup> ( $P < 0,05$ ). Esta é colocada em menor quantidade ( $P < 0,05$ ) contudo apresenta maior quantidade de flúor aplicado ( $P < 0,05$ ) e libertado na saliva ( $P < 0,05$ ) comparativamente aos outros dentífricos estudados.

**Conclusão:** O fluxo salivar não depende dos produtos utilizados neste estudo. Associado a estes resultados, a cinética e a quantidade de flúor libertada por estes produtos apresenta-se como potencialmente protetora de efeitos desmineralizantes. Com base nos resultados deste estudo, não existe risco de toxicidade aguda ou crónica para um adulto que escove os dentes com qualquer uma das pastas dentífricas, segundo as recomendações do médico dentista.

**Palavras – Chave:** Dentífricos, Flúor, Cinética; Toxicidade.



## Abstract

**Objectives:** This study compares the fluoride kinetics between three dentifrices with different concentrations and also evaluates their impact on salivary flow rate and possible toxic effects.

**Design:** Double blind randomized controlled trial.

**Materials and methods:** 20 students' sample from Dental Medicine University of Lisbon were randomly recruited and distributed between three cross-over groups. All volunteers experienced the three toothpastes. The baseline salivary flow was determined through pre-established methods during the defined times. After brushing for two hours, the salivary flow was determined, as well as the amount of fluoride in rinse, retained on toothbrush and released to saliva, through microelectrode, and meter technics.

**Results:** Brushing the teeth with these products does not induce significant alterations in salivary flow ( $P > 0.05$ ). Although the fluoride kinetics is similar in the three toothpastes, there is a peak at the initial 5 minutes, statistically superior in Colgate Duraphat® ( $P < 0.05$ ). Despite being put to a lesser extent in the toothbrush ( $P < 0.05$ ) it has higher amount of fluoride applied ( $P < 0.05$ ) and released in saliva ( $P < 0.05$ ) compared to other toothpastes in this study.

**Conclusion:** The salivary flow rate does not depend on the toothpastes concentrations'. Associated to these results, are the kinetics and the amount of fluoride released by these products, which may have a protective effect on demineralization. Based on the results of this study, there is no risk of acute or chronic toxicity for an adult who brush the teeth with any of the toothpaste, following the guidelines of the dentist.

**Keywords:** Dentifrices, Fluoride, Kinetics, Toxicity.



## Introdução

Atualmente, os dentífricos fluoretados constituem a aplicação tópica de flúor com maior utilização e divulgação (Lynch, Navada et al. 2004; Baeshen, Kjellberg et al. 2008; Davies, Scully et al. 2010). Consoante a sua concentração de flúor, existem pastas dentífricas de venda livre e pastas dentífricas sujeitas a prescrição médica.

Dentro das pastas de venda livre exemplificam-se a *Colgate Total*<sup>®</sup>, que constitui um exemplo de pasta de utilização regular e a *Xeros*<sup>®</sup>, cuja principal indicação é para utilização por pacientes hipossialicos e, segundo o fabricante, permite o equilíbrio do fluxo salivar, por não conter lauril sulfato nem mentol. Por outro lado, a *Colgate Duraphat*<sup>®</sup> é uma pasta sujeita a prescrição médica que, pela sua elevada concentração de flúor se destina a doentes com suscetibilidade aumentada para a cárie (Colgate Palmolive Dental Health Unit 2009).

Os Médicos Dentistas e profissionais de Saúde Oral aconselham o uso de produtos fluoretados devido à comprovada ação primordial e preventiva do flúor na incidência de cárie e erosão dentária (Negri and Cury 2002; Marinho, Higgins et al. 2003; Olympio, Bardal et al. 2007; Tenuta, Zamataro et al. 2009; Mason, Shirodaria et al. 2010). Apesar de diferentes estudos reportarem a efetividade do flúor, quando este é absorvido em quantidades acima do limite pode causar efeitos tóxicos e adversos para o organismo humano (Guideline on fluoride therapy 2008; Dhar and Bhatnagar 2009).

De acordo com o supracitado, é de extrema importância determinar a cinética de libertação de flúor em pastas dentífricas com diferentes concentrações de flúor, relacionando-a com o seu papel preventivo em fenómenos de desmineralização dentária e os possíveis fenómenos de toxicidade associados.

A ausência de referências na literatura que descrevam a cinética de libertação de flúor em pastas dentífricas fluoretadas, e determinem fontes de desperdício, ou alterações do fluxo salivar, justificou a realização desta monografia. O principal

objetivo centra-se em comparar dentífricos de venda livre com dentífricos sujeitos a prescrição médica nos parâmetros acima mencionados.

Neste sentido, a revisão bibliográfica contempla os conceitos de flúor e dentífricos fluoretados com diferentes concentrações de flúor, relacionando-as com a necessidade de prescrição e possível toxicidade. Posteriormente, no trabalho experimental e como estudo piloto, compara-se o efeito de três dentífricos *Xeros*<sup>®</sup>, *Colgate Total*<sup>®</sup> e *Colgate Duraphat*<sup>®</sup>, quanto à quantidade de flúor libertado na saliva e perdido pelo bochecho e na escova, e a sua influência no fluxo salivar.

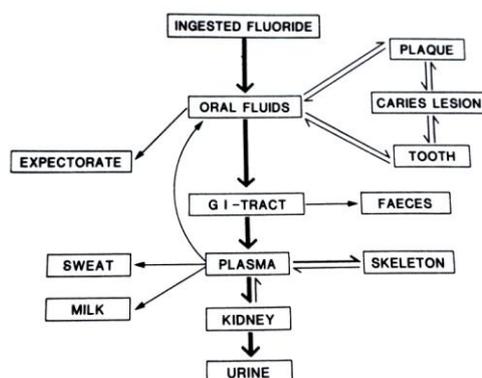
## **Flúor**

O flúor é um elemento essencial que se encontra com elevada frequência na natureza (Shupe, Bruner et al. 1992; Dhar and Bhatnagar 2009) quer sob a forma de ião fluoreto ou associado com outros elementos, formando compostos fluoretados (Barbier, Arreola-Mendoza et al. 2010; Jimenez-Farfan, Hernandez-Guerrero et al. 2011).

Na década de 1940 foram realizados estudos que relacionaram a diminuição da prevalência da cárie dentária com a adição artificial de flúor à rede de abastecimento de águas (Arnold, Dean et al. 1956; Browne, Whelton et al. 2005). Desde então, a fluoretação das águas tornou-se uma medida de saúde pública (Garbin, Garbin et al. 2011), concomitante à adição de flúor em produtos alimentares e, na área da medicina dentária, em dentífricos, bochechos, géis, vernizes e até mesmo materiais restauradores devido à sua ação anti-cariogénica (Duckworth, Morgan et al. 1992; Browne, Whelton et al. 2005; Opydo-Szymaczek and Opydo 2010; Wong, Clarkson et al. 2011). O flúor pode, portanto ser administrado de forma tópica ou sistémica (Dhar and Bhatnagar 2009).

Após a sua ingestão, que pode ocorrer após administração *per-os* ou por deglutição inadvertida aquando a aplicação tópica, o flúor é rapidamente absorvido ao nível gastrointestinal (Ekstrand and Ehrnebo 1980), atingindo o pico de concentração ao fim de uma hora (Dawes and Weatherell 1990). Quando é administrado na cavidade oral,

o flúor pode ficar retido a nível salivar, diluindo-se, mas poderá também ser integrado noutros reservatórios orais, como os tecidos moles e estrutura dentária, sendo posteriormente libertado, de forma gradual (Zero, Fu et al. 1988; Lynch, Navada et al. 2004). Portanto, a sua ação faz-se sentir, quer a nível oral, quer a nível sistémico.



**Figura 1:** Ilustração esquemática das vias de metabolização e retenção do flúor nos diversos reservatórios do organismo. Retirado de Dawes & Weatherell, 1990.

Assim, tendo em conta o referido e dada a influência do flúor, a nível químico e biológico, na odontogénese e cariogénese (Aoba and Fejerskov 2002) é importante não só compreender o seu mecanismo de ação, como também riscos associados às suas diferentes vias de administração. É também necessário verificar se as concentrações são suficientes para equilibrar o fenómeno de desmineralização/remineralização dentária não só após a escovagem dentária, mas também ao longo do dia (Issa and Toumba 2004).

## 1.1. Mecanismo de ação

Embora o mecanismo de ação do flúor ainda seja controverso, a maioria dos estudos, refere a sua capacidade de induzir a formação de uma camada de fluoreto de cálcio na superfície dentária (Moretto, Magalhaes et al. 2010; Ren, Liu et al. 2011). Assim, além de fornecer uma barreira física isolante, atua como reservatório de iões

fluoretos, que vão substituir os grupos hidroxilo (OH-) nos cristais, permitindo a formação de fluorapatite mais resistente à solubilidade do esmalte perante fenómenos de desmineralização dentária (Bizhang, Chun et al. 2009; Ren, Liu et al. 2011). Esta situação verifica-se, também perante concentrações baixas de flúor 0,02 partes por milhão (ppm) nos fluídos orais, pois este continua a induzir a precipitação de minerais na estrutura dentária (Cury, do Amaral et al. 2010; Moretto, Magalhaes et al. 2010). Por outro lado, favorece a remineralização, pois atrai para a superfície dentária, iões cálcio e fosfato (Su, Marek et al. 2011).

Assim, para garantir proteção contra o fenómeno de desmineralização e perante um pH igual a 4,5, é necessária uma concentração de 0,1 ppm de flúor na saliva, valor que ascende a 2 ppm, para garantir a completa inibição deste processo (ten Cate and Duijsters 1983; Lynch, Navada et al. 2004).

Por outro lado, a eficácia dos fluoretos na erosão dentária tem sido alvo de alguma controvérsia na literatura científica (Magalhaes, Rios et al. 2008; Rios, Magalhaes et al. 2008; Mason, Shirodaria et al. 2010) e por isso, diversos estudos se têm vindo a desenvolver (Lagerweij and ten Cate 2002; Ren, Liu et al. 2011). Através dos mesmos, verificou-se que aumentos de 0,2 ppm na concentração de flúor, (Lynch, Navada et al. 2004), favorecem estes processos (Vogel, Shim et al. 2006), prevenindo a desmineralização.

Relativamente ao impacto nos microrganismos bacterianos, o aumento de concentração de flúor é acompanhado pela diminuição da produção de ácidos, à sua intervenção no metabolismo bacteriano, exercendo assim o seu efeito anticariogénico (Mouthrinses and dental caries 2002; Nordstrom and Birkhed 2009). Portanto, perante a presença de 10 ppm de flúor na saliva, o metabolismo bacteriano é inibido (Tenuta and Cury 2010). Estas propriedades do flúor apresentam uma vasta evidência científica (Mouthrinses and dental caries 2002; Pessan, Sicca et al. 2006; Nordstrom, Mystikos et al. 2009).

Em suma, no que diz respeito ao mecanismo de ação do flúor, enquanto alguns estudos revelam um efeito dependente do tempo e da dose (Bizhang, Chun et al. 2009;

Diamanti, Koletsi-Kounari et al. 2011) outros referem que nem sempre as elevadas concentrações se traduzem em melhores resultados (Ren, Liu et al. 2011). São, portanto, necessários estudos que comprovem uma relação entre elevadas concentrações de fluoretos e a formação de uma superfície remineralizada e pouco permeável a trocas iônicas (Amaechi and Higham 2005).

## 1.2. Toxicidade

A concentração de flúor deve ser analisada e considerada, uma vez que, apesar da vasta evidência da sua efetividade e segurança (Guideline on fluoride therapy 2008) quando os valores-limite são ultrapassados (Dhar and Bhatnagar 2009) podem surgir efeitos secundários agudos ou crônicos.

Os fenómenos de toxicidade aguda podem surgir após a ingestão entre 3,00 e 5,00 mg/Kg de flúor (Whitford 1992; Jaroszynska 2011) e manifestam-se sobretudo a nível gastrointestinal, sob a forma de dor abdominal difusa, vômitos ou diarreias e também excesso de salivação (Dhar and Bhatnagar 2009). Caso a dose seja inferior a 5,00 mg/Kg, a ingestão de cálcio sob a forma de leite, é suficiente para minimizar efeitos, mas para doses superiores é necessária hospitalização (Newbrun 1987). A dose letal corresponde à ingestão de 32 a 64 mg de flúor por kg de peso (mg/kg) (Whitford 1992).

Apesar de o organismo humano ter a capacidade de metabolizar o flúor quando este é administrado em doses baixas, o mesmo não acontece quando este se encontra no plasma em valores baixos, mas constantes ( $\geq 2\mu\text{mol/L}$ ), pois o seu efeito é cumulativo. Assim, podem surgir efeitos secundários tóxicos crônicos, como fluorose dentária, em crianças (Aoba and Fejerskov 2002; Tenuta and Cury 2010; McGrady, Ellwood et al. 2012) e fluorose óssea, no adulto, numa relação dependente do tempo e concentração (Bronckers, Lyaruu et al. 2009).

Além da componente estética, que acomete a fluorose dentária, devido à diminuição da translucência e aumento da opacidade do esmalte (Wongdem,

Aderinokun et al. 2001; Everett 2011), alimentação do paciente poderá estar condicionada, pois devido à hipomineralização e aumento da porosidade do esmalte (Browne, Whelton et al. 2005), este encontra-se fragilizado e mais suscetível a fraturas e/ou sensibilidade dentária acompanhada de dor (Jimenez-Farfan, Hernandez-Guerrero et al. 2011).

Esta situação ocorre sobretudo nas crianças em idade pré-escolar - inferior a 6 anos (Browne, Whelton et al. 2005) – que não possuem o reflexo de deglutição controlado e, portanto, durante a escovagem, a quantidade de pasta ingerida, pode atingir uma média de 50% (Negri and Cury 2002; Bhuridej, Levy et al. 2007) aquando a escovagem (Nobre-dos-Santos, Rodrigues et al. 2007). Esta situação revela-se especialmente crítica, quando os valores de quantidade de pasta recomendados nesta faixa etária (0,25 – 0,30g) são excedidos (Browne, Whelton et al. 2005; Bhuridej, Levy et al. 2007). Para evitar esta condição, a dose segurança diária considerada para a exposição ao flúor, de acordo com diversos autores, deve estar entre 0,05 e 0,07 mg/kg peso corporal/dia (Browne, Whelton et al. 2005; Barbier, Arreola-Mendoza et al. 2010). No entanto, de acordo com Aoba & Fejerskov, 2002, a partir de 0,03 mg/kg peso corporal/dia, podem já surgir formas leves de fluorose dentária (Aoba and Fejerskov 2002).

Finalmente, no que diz respeito à toxicidade crónica no adulto, esta ocorre sob a forma de fluorose óssea que é uma doença metabólica crónica que se manifesta pelo aumento gradual da densidade óssea, suscetibilidade de fratura, deformações e dor (Franke, Kunzel et al. 1976). A severidade dos sintomas depende do tipo e duração da exposição (Dhar and Bhatnagar 2009), sendo em média necessários 0,10 mg/kg diários de flúor (Whitford 1996), ou uma rede de abastecimento de água, cuja fluoretação exceda os 8 ppm (Browne, Whelton et al. 2005). É relevante considerar que o tecido ósseo sofre remodelação contínua ao longo da vida e, por este motivo, a exposição crónica a estes níveis de flúor irá agravar a condição (Qin, Wang et al. 2009).

De acordo com o descrito, é necessário considerar não só os benefícios do flúor tópico, a nível anti-cariogénico e anti-erosivo, mas também os seus possíveis efeitos

deletérios em termos dentários e na saúde em geral. Este facto atinge maior relevância, ao considerar os dentífricos fluoretados, pois estes constituem a aplicação tópica de flúor mais utilizada por todas as faixas etárias (Issa and Toumba 2004) e, porque existem estudos que relacionam o seu uso com o risco de fluorose (Mascarenhas and Burt 1998; Bhuridej, Levy et al. 2007).

### **1.3. Fatores condicionantes**

A concentração de flúor na saliva depende da interação entre fatores que influenciam a *clearance* e fatores que propiciam a sua retenção na cavidade oral (Zero, Fu et al. 1988; Duckworth, Morgan et al. 1992).

A *clearance* salivar do flúor é influenciada por variações anatómicas, e portanto, em pacientes desdentados, este processo é acelerado (Oliveby, Ekstrand et al. 1987; Zero, Raubertas et al. 1992). Esta situação também se verifica quando o paciente executa bochechos com água após a escovagem (Issa and Toumba 2004).

Também o tipo de produto e modo de administração influenciam a *clearance* salivar do flúor (Sarner, Birkhed et al. 2008). Ainda assim, está demonstrado que a ação do flúor é efetiva em diversas aplicações tópicas como vernizes, géis, elixires (Magalhaes, Furlani Tde et al. 2007) e dentífricos (Ammari, Bloch-Zupan et al. 2003; Duckworth, Horay et al. 2009).

No que concerne à retenção do flúor, esta é afetada pela taxa de secreção salivar individual, volume de saliva antes e depois da deglutição (Sjogren and Birkhed 1994), frequência de deglutição, bem como espaços interdentários, incorporação na estrutura dentária e tecidos moles (Opydo-Szymaczek and Opydo 2010). Estes últimos funcionam como reservatório oral de flúor, permitindo a sua libertação gradual, ao longo do tempo (Duckworth and Morgan 1991; Zero, Raubertas et al. 1992).

Assim, facilmente se compreende que, como a composição química da saliva, não só em flúor mas também em iões cálcio e fosfato (Su, Marek et al. 2011), está dependente do fluxo salivar, em casos de hipossalialia se verifique um aumento da

suscetibilidade a processos de desmineralização que apresentam como consequências lesões de cárie e lesões erosivas (Moss 1998; da Mata, da Silva Marques et al. 2009).

Por este motivo, a manutenção da saúde oral e a preservação da integridade mineral da estrutura dentária constitui um desafio aos médicos dentistas e outros profissionais da área (Shannon 1977; Su, Marek et al. 2011), em casos de disfunção salivar (hipossalivação). Assim, têm sido desenvolvidos mecanismos que permitam melhorar o conforto e qualidade de vida nestes pacientes, tais como: pastas dentífricas, bochechos antimicrobianos, *sprays* (Su, Marek et al. 2011) e estimulantes gustativos salivares (da Mata, da Silva Marques et al. 2009; da Silva Marques, da Mata et al. 2011).

## **Dentífricos Fluoretados**

Os procedimentos de higiene oral permitem a remoção de película adquirida (Pessan, Sicca et al. 2006; Maltz, Jardim et al. 2010) e restos alimentares (Su, Marek et al. 2011). Por este motivo, estão indicadas escovagens com uma frequência de 2 a 3 vezes por dia, com uma escova manual ou elétrica (Maltz, Jardim et al. 2010; Su, Marek et al. 2011).

Devido ao seu papel na diminuição da incidência da cárie dentária, os dentífricos fluoretados são usualmente mais utilizados, no entanto os dentífricos não fluoretados, com ação anti-cariogénica, apresentam na sua fórmula agentes associados como cálcio, fosfato, antimicrobianos e metais. Entre estes encontra-se o carbonato de cálcio cujas propriedades de elevação de pH, elevação da concentração de cálcio na película adquirida, se apresentam como preponderantes no processo de remineralização dentária (Davies, Scully et al. 2010).

Quando o ato de escovagem dentária se encontra aliado a dentífricos fluoretados, é possível conjugar não só a ação mecânica de remoção de placa bacteriana, como também a ação química do flúor (Pessan, Sicca et al. 2006; Tenuta, Zamataro et al. 2009; Cury, do Amaral et al. 2010; Zero, Creeth et al. 2010). No entanto, vários fatores podem influenciar a eficácia de ação de um dentífrico fluoretado, entre eles, a quantidade de

pastas colocadas na escova, o tempo, a frequência da escovagem e, por último, o bochecho (Nordstrom and Birkhed 2010; Zero, Creeth et al. 2010).

A maioria dos profissionais de Saúde Oral recomenda o bochecho após a escovagem dentária para remover os restos alimentares e excesso de pasta, minimizando a probabilidade de ingestão da mesma (van Loveren, Ketley et al. 2004). Os bochechos podem ser efetuados quer com água, quer com produtos fluoretados, como coadjuvantes das pastas dentífricas (Pessan, Sicca et al. 2006; Duckworth, Maguire et al. 2009). Devido à possível interação entre componentes das pastas dentífricas e dos bochechos utilizados após a escovagem, é aconselhável um período de espera entre a utilização de ambos (Davies, Scully et al. 2010). Por norma, o tempo de bochecho recomendado é entre 1 a 2 minutos (Mouthrinses and dental caries 2002). De acordo com Duckworth, o bochecho com água, deverá ser mínimo, uma vez que a concentração de flúor salivar, mesmo após a aplicação tópica de flúor durante a escovagem, apresenta valores de 0,02 – 0,1 ppm (Larsen and Pearce 2003; Lynch, Navada et al. 2004). Assim, não só a concentração se apresenta baixa, como ainda se minimiza a retenção nos reservatórios orais, pela ação mecânica de bochechar (Duckworth, Horay et al. 2009).

## **2.1. Dentífricos de venda livre *versus* Dentífricos de prescrição médica**

Os dentífricos fluoretados constituem, atualmente, o maior meio de aplicação tópica de flúor disponível (Olympio, Bardal et al. 2007), ocupando 95% do mercado de dentífricos, desde a sua implementação nos mercados europeus, na década de 70 (Browne, Whelton et al. 2005).

Relativamente aos dentífricos disponíveis nos mercados, é necessário abordar as variações nas suas composições, que incluem desde fluoreto de sódio (Vogel, Shim et al. 2006), sódio monofluorofosfatado, fluoreto de amina e fluoreto de estanho (Davies, Scully et al. 2010; Bellamy, Prendergast et al. 2011) mas também, dentro da composição química, é imperativo considerar a concentração de fluoretos.

Esta questão é preponderante, pois dentífricos com concentrações entre 1000 - 1500 ppm demonstram eficácia (Olympio, Bardal et al. 2007; Su, Marek et al. 2011) no entanto, abaixo de 1000 ppm o seu efeito anti-cariogénico não é claro (ten Cate, Exterkate et al. 2006; Nobre-dos-Santos, Rodrigues et al. 2007; Moretto, Magalhaes et al. 2010). No entanto, na presença de elevadas concentrações de flúor verificou-se um aumento na resistência de dentes sujeitos a desgaste erosivo, (Attin, Buchalla et al. 1996; Wiegand and Attin 2003; ten Cate, Exterkate et al. 2006; Ren, Liu et al. 2011).

Em termos de indicações, os dentífricos fluoretados altamente concentrados têm vindo a ser recomendados como medida terapêutica e profilática nos mais diferentes públicos – alvo, desde pacientes idosos, (Nordstrom and Birkhed 2009), pacientes sujeitos a radioterapia ou medicação xerostomizante (Gonzalez-Cabezas 2010) e pacientes com elevado risco de cárie (ten Cate, Exterkate et al. 2006). Também no caso de adolescentes, onde o risco de fluorose dentária já não incorre, pode-se prescrever o uso deste tipo de pastas, devido à baixa *compliance*, associada a este grupo etário (Nordstrom and Birkhed 2010). Os estudos *in vivo* de dentífricos de elevada concentração de flúor estão limitados devido a questões toxicológicas (Lagerweij and ten Cate 2002).

Em Portugal, as concentrações de dentífricos fluoretados vendidos livremente variam entre 250 ppm e 1500 ppm, abrangendo uma grande diversidade de marcas (DECO PROTESTE 2010). Entre estas, abrangem-se as pastas *Colgate Total*<sup>®</sup> e *Xeros*<sup>®</sup>, cujas concentrações de flúor são 1450 ppm e 1500 ppm, respetivamente. Por outro lado, dentífricos que contenham concentração superior aos valores acima referidos, são considerados como medicamentos sujeitos a receita médica (POM) (Davies, Scully et al. 2010; Nordstrom and Birkhed 2010) e só devem ser usados por indivíduos com idade superior a 18 anos, de acordo com informações de fabricante (Colgate Palmolive Dental Health Unit 2009) ou doze anos (Nordstrom and Birkhed 2010).

De acordo com a revisão de literatura efetuada, o objetivo desta monografia consiste na compreensão da cinética de libertação flúor dos dentífricos fluoretados,

consoante a sua concentração, recorrendo por isso a *Colgate Duraphat*<sup>®</sup> cuja concentração de flúor é 5000 ppm e às pastas *Xeros*<sup>®</sup> e *Colgate Total*<sup>®</sup>, cujas concentrações permitem a sua livre comercialização em Portugal e na Europa. É importante estudar não só a sua cinética de libertação após a escovagem, como também a alteração dos valores salivares, para efeitos de prevenção da ação cariogénica e desmineralizante. Por outro lado, os estudos referentes à análise de fatores como o bochecho ou quantidade de pasta remanescente na escova, são ainda escassos e não estabelecem um paralelo com a cinética de libertação de flúor na saliva, algo a que este estudo se propõe. Por último e dada a possibilidade dos efeitos tóxicos derivados da aplicação de dentífricos, é necessário estudar quais as doses de segurança que o paciente deverá ter em mente ao recorrer a estes produtos.



## **Protocolo Experimental**

### **3.1. Objetivos**

Este estudo foi realizado com o objetivo de verificar a cinética de libertação de flúor durante duas horas, após a escovagem com três dentífricos diferentes: *Xeros*<sup>®</sup> (1500 ppm), *Colgate Total*<sup>®</sup> (1450 ppm) e *Colgate Duraphat*<sup>®</sup> (5000 ppm).

As hipóteses estudadas são:

- Existe uma diferença significativa nas quantidades de flúor libertado para a saliva humana após escovagem com dentífricos fluoretados de duas marcas distintas, com concentrações entre 1450 e 1500 ppm, e com dentífrico fluoretado de elevada concentração, 5000 ppm, prescrito pelo médico dentista;
- Existe uma diferença significativa na capacidade de estimulação secretória após a utilização dos três dentífricos;
- Existe uma diferença significativa entre as quantidades de flúor desperdiçadas no bochecho e na escova com cada um dos dentífricos;
- Existe uma diferença significativa no potencial tóxico dos três dentífricos.

### **3.2. Materiais e métodos**

#### **3.2.1. Amostra:**

A amostra foi constituída por dez voluntários (N=10) recrutados da população de estudantes da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa. Os participantes tinham de corresponder aos seguintes critérios de inclusão: idade superior a 18 anos, ausência de condição sistémica ou regime terapêutico que induzisse hipossalivação. O fluxo salivar não estimulado médio encontrar-se dentro dos valores médios fisiológicos 0,1 e 1,0 mL/min para todos os participantes (Tschoppe, Wolgin et

al. 2010). Todos os voluntários assinaram o consentimento informado, para participação no estudo.

### **1.2.2. Métodos:**

Tratando-se de um estudo em triplo *cross-over* aleatório duplamente cego, participantes foram distribuídos de modo aleatório, para os 3 grupos, tendo todos os grupos sido submetidos aos produtos em estudo. A aleatorização foi realizada recorrendo-se a *software* apropriado (GraphPad QuickCalcs Web site: <http://www.graphpad.com/quickcalcs/randomize1.cfm>). A designação e encriptação dos produtos foram realizadas por um operador externo ao protocolo experimental e armazenado num envelope opaco em local seguro, até ao término da análise de estatística dos resultados. Esta foi realizada por um operador cego ao estudo, sendo os produtos referidos como A, B e C no programa SPSS (SPSS V. 20, Inc, Chicago, IL). Após abertura do envelope, verificou-se que se referiam respetivamente a *Colgate Total*<sup>®</sup>, *Colgate Duraphat*<sup>®</sup> e *Xeros*<sup>®</sup>.

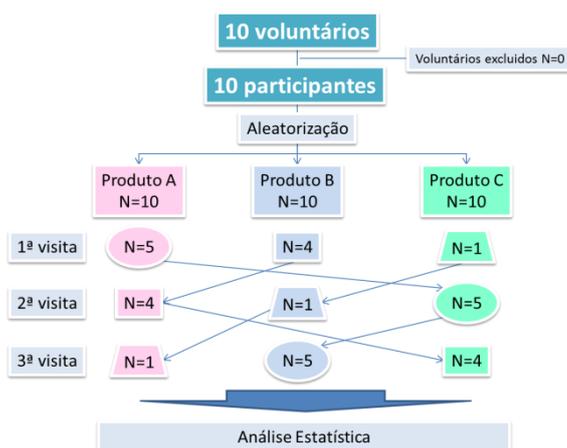
### **1.2.3. Procedimentos Clínicos e Laboratoriais**

Para todas as consultas, os pacientes foram instruídos a comparecer no Laboratório do GIBBO da FMDUL duas horas após a última refeição (sem ingestão de qualquer tipo de substância além de água).

Procedeu-se à colheita de saliva não estimulada (volume basal) durante 10 minutos (min) para um recipiente previamente pesado (tubo *Falcon 15mL, DeltaLab*<sup>®</sup>, S.L.U., Espanha) de acordo com métodos previamente estabelecidos (Navazesh 1993). Brevemente, os pacientes engoliam toda a saliva que tinham na boca ao iniciar a cronometragem (0') e permaneciam sentados, de olhos abertos e cabeça inclinada para a frente, deixando a saliva cair para o interior do *Falcon* sem quaisquer estímulos e sem engolir. Findo o tempo, os pacientes depositavam toda a saliva presente na cavidade

oral no tubo *Falcon*. O *Falcon* era novamente pesado, com o objetivo de calcular o volume (mL) e determinar o fluxo salivar basal (mL/min), dada a alta correlação entre volume e peso da saliva.

Após confirmar que o paciente preenchia os critérios de inclusão, procedeu-se à atribuição do código A, B ou C, consoante a aleatorização pré-estabelecida.



**Figura 2:** Diagrama representativo do desenho de estudo desta monografia

### **i. 1ª Consulta:**

Todos os pacientes foram instruídos a realizar a sua escovagem, como habitualmente fazem em casa, de modo a fiabilizar a análise de dados, sem interferir com a sua rotina.

Inicialmente foram fornecidas escovas de dentes (Escovas Pingo Doce<sup>®</sup>, Portugal), previamente pesadas, onde cada paciente colocou a quantidade de pasta de dentes que usa regularmente. A cada consulta foi fornecido um dentífrico diferente ao paciente, consoante a aleatorização pré-estabelecida. De seguida, o operador pesou a escova de forma a calcular a quantidade de flúor presente na pasta dentífrica aplicada (mg).

Seguidamente, os pacientes realizaram a escovagem dentária de acordo com uma ordem lógica, sem omissão de nenhum espaço, pela técnica de Bass modificada (Breitenmoser, Mormann et al. 1979), durante 2 minutos, para a qual foram instruídos. O objetivo passava por escovar bem os dentes, e permitir que o dentífrico testado fosse aplicado em toda a cavidade oral.

Disponibilizou-se um copo descartável, que foi enchido pelo paciente com o volume de água pretendido para bochechar e outro copo, previamente pesado, para onde foram expelidos os excessos de saliva ou bochecho após e durante a escovagem. No final todo o conteúdo foi pesado determinando o volume de bochecho durante todo o processo (mL), dada a alta correlação entre volume e peso da água e saliva.

Por último, o paciente colocou a sua escova num copo previamente cedido, com 20mL de água destilada, agitando-a vigorosamente, de forma a eliminar todo o remanescente de pasta que pudesse ficar na escova.

Começou nova contagem do tempo (0'), logo após a colheita do bochecho, iniciando-se a colheita de saliva não estimulada durante duas horas. Os pacientes foram instruídos a não engolir, nem cuspir não só entre etapas mas também durante este procedimento, deixando a saliva acumular, para ser depositada em tubos Falcon previamente cedidos e pesados, nos seguintes tempos: 5', 10', 15', 20', 25', 30', 35', 40', 50', 60', 70', 80', 90', 100', 110', 120'.

Laboratorialmente foi medida a concentração de flúor em todas as amostras, recorrendo ao potenciómetro GLP 22+ (Crison®, Barcelona, Spain) acoplado a um eletrodo de ião seletivo de flúor DC219-F (Mettler Toledo®, OH, USA). Para a realização desta técnica a cada amostra de 1mL de saliva adicionou-se 0,1 ml de TISAB-III (Mettler Toledo®, OH, USA), solução que permite o ajuste de força iónica. Cada amostra foi medida três vezes e através da média aritmética, foi obtido o resultado em ppm (mg/L), para avaliação da concentração de flúor.

Segundo o protocolo previamente estabelecido, no início de cada dia de consultas realizaram-se 4 retas de calibração com uma solução padrão de fluoretos

1000 ppm (Reagecon, Thermo Electron Corp., USA), o que permite corresponder os valores obtidos a uma concentração de ppm. A escolha dos intervalos de concentrações de flúor utilizados em cada reta foi realizada tendo por base os resultados de ensaios preliminares de medição de flúor após escovagem.

## **ii. 2ª e 3ª Consultas:**

No início de cada consulta foi fornecida uma escova de dentes nova (Escovas Pingo Doce<sup>®</sup>, Portugal), bem como o dentífrico a testar de acordo com a aleatorização. Nesta consulta todos os procedimentos de recolha de saliva e processamento de amostras foram idênticos aos da primeira consulta.

### **1.3. Análise Estatística**

Os resultados e análises estatísticas foram realizados através de um “*software*” de análise estatística apropriado (SPSS v.20 SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Todos os resultados foram indicados como média e intervalo de confiança (IC) de +/- 95%, e analisados estatisticamente com o Teste t de Student, ANOVA e *post hoc* consoante o apropriado. Apenas foram considerados significativos valores para  $P < 0,05$ .

O flúor libertado na saliva foi expresso como média das concentrações obtidas nas amostras em ppm ou quantidade (mg) com +/-95% IC.

Os fluxos salivares foram expressos em ml/min, com +/-95% IC.

A quantidade de pasta dentífrica aplicada expressa em gramas (g) obteve-se pela média dos pesos nas amostras, com +/- 95% IC. A quantidade de flúor em miligramas (mg), com +/-95% IC, foi calculada pela relação entre a concentração de flúor e os volumes obtidos.

A percentagem (%) de flúor com +/-95% IC, foi calculada através da média da quantidade de massa obtida, comparativamente à quantidade inicialmente aplicada.



## Resultados

### 4.1. Caracterização da amostra:

Este estudo piloto contou com a participação de um total de dez participantes, distribuídos entre 5 do género masculino e 5 do género feminino. A média de idades foi de 21,7000 +/- 1,8290 (IC +/- 95%) e o fluxo médio basal de 0,4609 +/- 0,2992 ml/min (IC +/- 95%). A média de idades corresponde à população característica de uma faculdade onde a média de idades é reduzida pois os voluntários correspondiam a alunos universitários, recrutados na Faculdade de Medicina Dentária da Universidade de Lisboa. A determinação do fluxo salivar não estimulado permitiu verificar que neste estudo não existiam pacientes hipossialícos de acordo com os requisitos necessários definidos nos critérios de inclusão. Tratando-se de um estudo com triplo *cross-over*, os pacientes foram distribuídos aleatoriamente por três grupos, e que todos experimentassem os três dentífricos. Todos os participantes concluíram o estudo e as características dos 10 participantes foram indicadas como média e intervalo de confiança de +/- 95% (Tabela 1).

	Género		
	Feminino	Masculino	Total
	5	5	10
<b>Idade</b>	22,6000 [20,4090; 24,7910]	20,8000 [19,9630; 21,6370]	21,7000 [19,8710; 23,5290]
<b>Fluxo não estimulado (ml/min)</b>	0,4440 [0,2545; 0,6335]	0,4945 [0,3860; 0,6030]	0,4692 [0,3212; 0,6172]

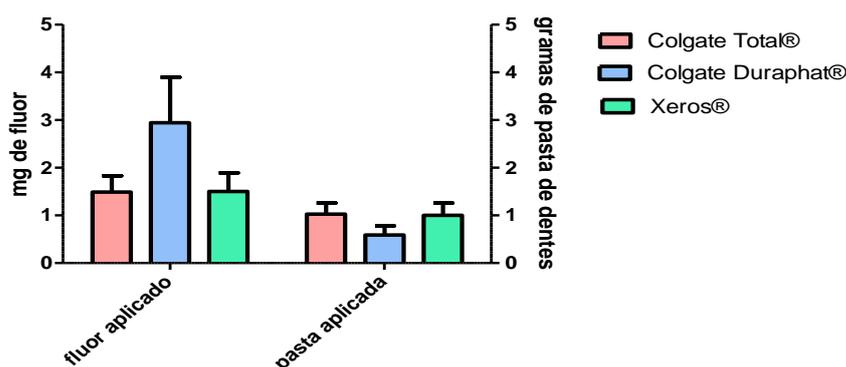
**Tabela 1:** Tabela de caracterização da amostra da distribuição por género, idade e fluxo salivar não estimulado sob a forma de média e intervalo de confiança (IC) de +/- 95 %.

### 4.2. Quantidade de flúor:

No gráfico 1 a quantidade de pasta dentífrica aplicada na escova, em gramas, e a quantidade de flúor presente na mesma, em miligramas, para os três dentífricos, foram indicados como média e um intervalo de confiança de +/-95%.

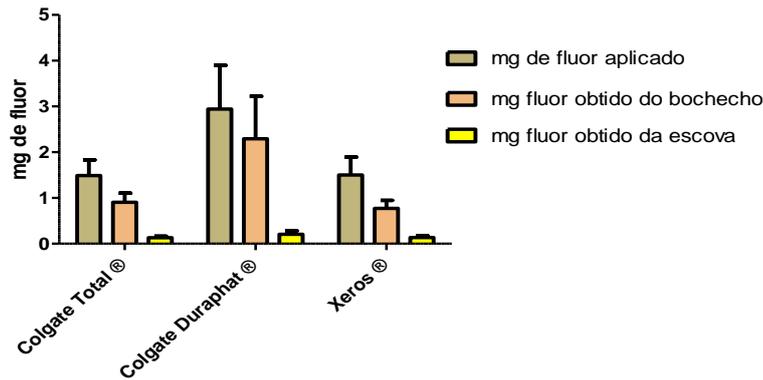
Ao analisar os resultados obtidos é possível verificar que os valores de pasta aplicados são significativamente inferiores ( $P < 0,05$ ) na *Colgate Duraphat*<sup>®</sup>, 0,5885 g +/- 0,0845 (IC +/- 95%), comparativamente à *Colgate Total*<sup>®</sup> e à *Xeros*<sup>®</sup>, cujos valores médios foram respetivamente 1,0279 g +/- 0,1037 (IC +/- 95%) e 1,0022 g +/- 0,1150 (IC +/- 95%)

Apesar de a quantidade de pasta aplicada ser menor para a *Colgate Duraphat*<sup>®</sup>, comparativamente aos outros dentífricos, como a sua concentração em flúor é mais elevada, a quantidade aplicada de fluor é significativamente superior ( $P < 0,05$ ) quando comprada com as outras pastas, *Colgate*<sup>®</sup> e *Xeros*<sup>®</sup>.



**Gráfico 1:** Gráfico de barras representativo da média +/- 95% IC da quantidade de pasta de dentes colocada na escova (gramas) e a quantidade de flúor presente na mesma (mg), para os três dentífricos.

O gráfico 2 permite a comparar a quantidade de flúor inicialmente aplicada e a quantidade obtida posteriormente do bochecho e no remanescente da escova, em miligramas. Os resultados encontram-se indicados como média e intervalo de confiança de +/-95%. Verifica-se que a quantidade de flúor inicialmente aplicado não apresenta diferenças estatisticamente significativas para as três marcas testadas ( $P > 0,05$ ) quando comparado com a quantidade obtida no bochecho, mas é significativamente superior ( $P < 0,05$ ) quando comparada com a quantidade retida na escova após escovagem.



**Gráfico 2:** Gráfico de barras representativo da média +/- 95% IC da quantidade de flúor obtida no bochecho e no remanescente da escova, comparativamente à quantidade de flúor inicialmente aplicado na escova.

### 4.3. Liberação de flúor:

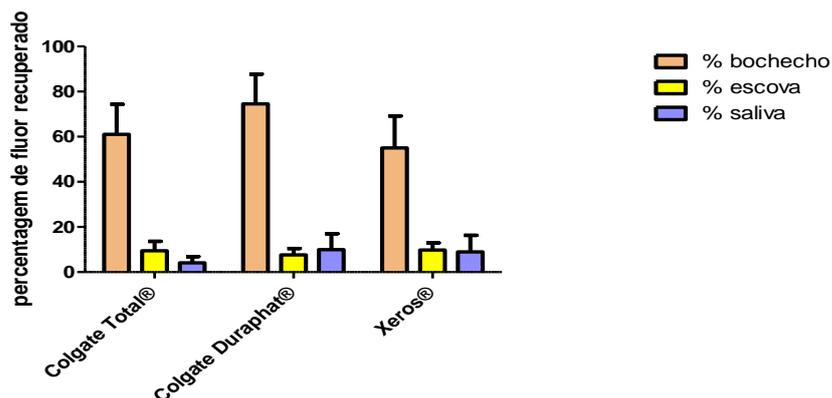
No gráfico 3 observa-se a relação entre as percentagens de flúor recuperadas nas diferentes etapas após a escovagem com um intervalo de confiança de +/- 95%, tendo como referência o valor inicial presente na escova que corresponde à totalidade de flúor aplicado à cavidade oral, ou seja, 100%.

Ao nível do bochecho verifica-se que a percentagem média de flúor recuperada é superior a 50% em todos os dentífricos - *Colgate Total*<sup>®</sup> (61,06 +/- 5,871); *Colgate Duraphat*<sup>®</sup> (74,55 +/- 5,825); *Xeros*<sup>®</sup> (55,03 +/- 6,273) - o que significa que aproximadamente metade da quantidade de flúor inicialmente aplicada é eliminada logo após a escovagem.

Ao comparar a percentagem de flúor recuperado na saliva com a quantidade eliminada no bochecho verifica-se que o valor recuperado na saliva é significativamente inferior ( $P < 0,05$ ). A nível salivar regista-se uma recuperação média de 4,114% +/- 1,226 na *Colgate Total*<sup>®</sup> e 8,951% +/- 3,243 na *Xeros*<sup>®</sup>. Isto significa que a pasta *Colgate Duraphat*<sup>®</sup> com uma recuperação de 9,991% +/- 3,107, é a que apresenta maior percentagem de massa de flúor efetiva durante duas horas, por oposto à *Colgate Total*<sup>®</sup>, que apresenta os menores valores de flúor percentual recuperado na saliva. Embora não

existam diferenças significativas na percentagem libertada para a saliva  $P(>0,05)$ . Independentemente da concentração do dentífrico utilizado as quantidades recuperadas não são significativamente diferentes ( $P>0,05$ ), sendo o bochecho o principal fator de eliminação do flúor aplicado durante a escovagem.

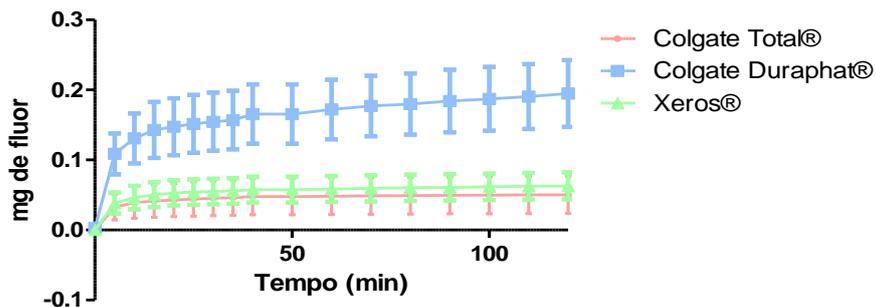
Entre a percentagem de flúor remanescente na escova e a percentagem de flúor recuperado da saliva, não se constata diferenças significativas ( $P>0,05$ ).



**Gráfico 3:** Gráfico de barras representativo da média +/- 95% IC de percentagem de flúor obtida no bochecho, no remanescente da escova e do total obtido na saliva durante todo o tempo de colheita.

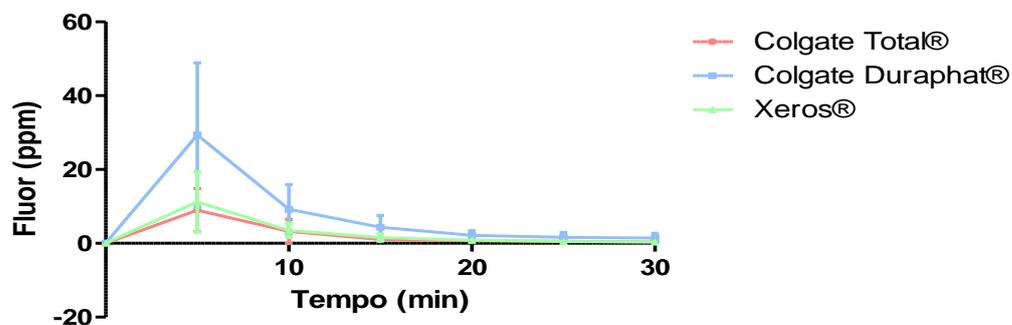
O gráfico 4 apresenta a quantidade média cumulativa de flúor libertado durante a colheita de saliva, ao longo dos 120 minutos, com um intervalo de confiança de +/-95%.

A quantidade cumulativa de flúor libertado pelo dentífrico *Colgate Duraphat*<sup>®</sup> (com maior concentração de flúor), é significativamente superior à do dentífrico *Colgate Total*<sup>®</sup>, a partir dos 40 minutos ( $P<0,05$ ) e, do dentífrico *Xeros*<sup>®</sup> a partir dos 60 minutos ( $P<0,05$ ). Verificou-se ainda para o mesmo parâmetro que não houve diferenças estatisticamente significativas entre ambas as pastas de venda livre ( $P> 0,05$ ), durante as 2 horas de colheita.



**Gráfico 4:** Massa cumulativa de flúor libertado ao longo dos 120 minutos, (+/-95% IC) durante a colheita de saliva para os três dentífricos.

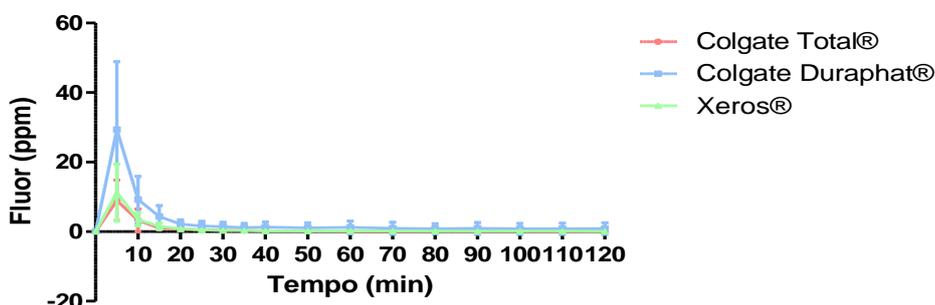
O gráfico 5 apresenta a média da concentração de fluor libertada para a saliva, em partes por milhão (ppm), com um intervalo de confiança de +/- 95%, durante os trinta minutos iniciais da colheita. Verifica-se que o dentífrico *Colgate Duraphat*<sup>®</sup>, apresenta uma cinética de libertação significativamente superior aos dentífricos *Xeros*<sup>®</sup> e *Colgate Total*<sup>®</sup> ( $P < 0,05$ ), aos cinco minutos. O pico de libertação atinge um valor médio de 29,3865ppm, através da pasta *Colgate Duraphat*<sup>®</sup>. Apesar de a *Colgate Duraphat*<sup>®</sup> se manter superior ainda aos dez minutos estas diferenças não são estatisticamente significativas ( $P > 0,05$ ) quando comparado com os outros dois dentífricos.



**Gráfico 5:** Representação da cinética de libertação de flúor, em ppm, durante os 30 minutos de colheita salivar após escovagem, para os três dentífricos (+/-95% IC).

O gráfico 6 apresenta a cinética de libertação de flúor, em ppm, com um intervalo de confiança de +/- 95%, durante as duas horas da colheita. Verifica-se que a

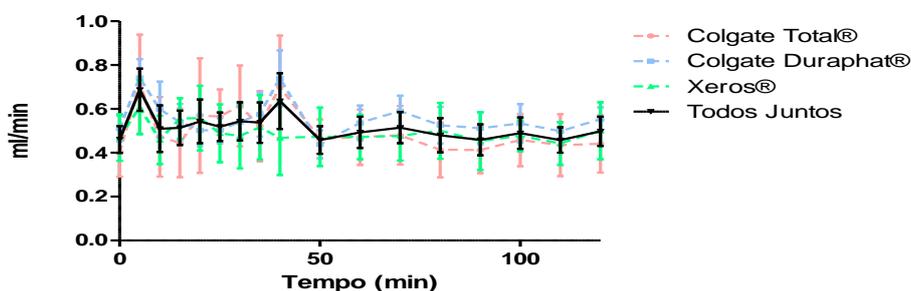
partir dos dez minutos não se observam diferenças estatisticamente significativas ( $P>0,05$ ) até ao fim das duas horas.



**Gráfico 6:** Representação geral da cinética de libertação de flúor, em ppm, durante os 120 minutos de colheita salivar após escovagem, para os três dentífricos (+/-95% IC).

#### 4.4. Fluxo Salivar:

O gráfico 7 apresenta as variações de fluxo salivar ao longo do tempo, em valores médios, com um intervalo de confiança de +/- 95%. A média global para os três dentífricos também se encontra representada. Não se reportam diferenças significativas entre os três dentífricos ( $P>0,05$ ). É possível verificar um ligeiro aumento da secreção salivar após a estimulação mecânica da escovagem a qual retorna aos valores iniciais após 50 minutos. De referir que ao longo de todo o tempo de colheita, em virtude do número reduzido de participantes não foi possível determinar significância estatística em nenhum dos momentos de colheita quando comparados com os valores de fluxo salivar não estimulado.



**Gráfico 7:** Reprodução da média do fluxo salivar, em ml/min., durante os 120 minutos de colheita, para os três dentífricos e o somatório dos valores médios, (+/-95% IC).

## Discussão

A utilização de dentífricos fluoretados sofreu um aumento exponencial, nas últimas décadas, todavia existem poucos estudos clínicos aleatorizados que comprovem a efetividade das diferentes concentrações disponíveis para estes produtos (ten Cate and Duijsters 1983; Baeshen, Kjellberg et al. 2008; Cury, Oliveira et al. 2010). Por outro lado, existem estudos que associam efeitos deletérios a doses de flúor acima do limite, contudo estes incidem sobretudo na população infantil e adolescente (Duckworth and Morgan 1991; Duckworth and Stewart 1994).

Assim, urge a necessidade de estudos clínicos que relacionem a quantidade de flúor em dentífricos de diferentes concentrações, com os níveis salivares e cinética de flúor, e os seus potenciais riscos tóxicos em adultos.

Nesta monografia, o desenho do estudo realizado apresenta-se como um ensaio clínico aleatório duplamente cego. Tratando-se de um estudo em triplo *cross-over*, os voluntários foram divididos por três grupos experimentando, cada um, os três dentífricos em consultas separadas. Embora não seja um desenho que permita a maior robustez, o mesmo é aceitável para um estudo piloto.

A amostra foi uniforme em termos de distribuição de géneros e idades, com o objetivo de minimizar eventuais fatores condicionantes. Isto porque, de acordo com Visvanathan & Nix, num estudo de 2010, as alterações de secreção salivar prevalecem no género masculino, num ratio 21:27, e em indivíduos de idade avançada (Visvanathan and Nix 2010). Assim, a média de idades foi 21,7000 anos +/- 1,8290 (IC +/- 95%) uma vez que a amostra correspondia a uma população universitária, e a média de fluxo basal foi 0,4692 ml/min +/- 0,1480 (IC +/- 95%), o que corresponde à média de secreção salivar para indivíduos saudáveis (0,1 – 1 ml/min.) (Tschoppe, Wolgin et al. 2010).

De acordo com Särner *e col*, 2003, os valores basais de concentração de flúor, podem apresentar diferenças significativas, devido a variações na dieta (Dote, Kono et al. 2000; Särner, Lingstrom et al. 2003). Relativamente aos valores salivares basais

neste estudo, verifica-se que a média é 0,0663ppm +/- 0,7503 (+/-95% IC), o que apresenta valores ligeiramente superiores ao estudo de Larsen & Pearce, 2003, que advoga que a média de flúor salivar varia entre 0,02-0,05 ppm (Larsen and Pearce 2003). Novamente, é necessário considerar que este estudo tem uma amostra reduzida e portanto não podem ser feitas generalizações. Os resultados servem como indicadores futuros, contudo prevalece a necessidade de novos estudos, com uma população-alvo maior, a fim de aumentar o poder estatístico.

Em termos protocolares, foi requerido aos pacientes que realizassem a escovagem dentária, como fazem rotineiramente em casa, com exceção da técnica e do tempo, devendo os pacientes escovar de acordo com a técnica de Bass modificada durante 2 minutos. O objetivo passava por não alterar a conduta dos pacientes e assim analisar a influência da quantidade de pasta aplicada pelo paciente, na cinética de libertação de flúor para a saliva e considerar simultaneamente fatores de potencial desperdício de pasta como o bochecho e o remanescente na escova. A atual lacuna em termos de evidência científica relativa a estes fatores justifica a realização deste estudo piloto.

No que diz respeito à quantidade de pasta aplicada pelo paciente, verifica-se que *Colgate Duraphat*<sup>®</sup> é colocada em menor quantidade pelos participantes ( $P < 0,05$ ), comparativamente às pastas *Colgate Total*<sup>®</sup> e *Xeros*<sup>®</sup>. No entanto, a menor quantidade de pasta colocada na escova não implicou necessariamente menor quantidade de flúor. O facto de o dentífrico *Colgate Duraphat*<sup>®</sup> apresentar uma quantidade de flúor aplicada significativamente maior ( $P < 0,05$ ), é justificável por, entre as três marcas testadas, ser a que apresenta maior concentração de flúor, por cada miligrama de pasta aplicada (5000 ppm).

É de realçar que, de acordo com os resultados obtidos, a quantidade de flúor recuperada na saliva nunca excede os 10% (+/- 95% IC) da quantidade total aplicada, independentemente dos dentífricos utilizados neste estudo. Tendo em conta esta constatação, seria de extrema importância a realização de mais estudos com diferentes

concentrações de dentífricos e maior amostra, a fim de se verificar e, porventura generalizar a todos os dentífricos, esta afirmação.

Uma vez que se pretendeu não interferir nos hábitos diários dos voluntários, é possível verificar que os pacientes utilizaram volumes de água semelhantes para bochechar, entre 40 a 60 mL, não sendo condicionados pela pasta. É de salientar que a diferença na constituição química, ou simplesmente no sabor da pasta, poderiam funcionar como potenciadores do fluxo salivar e assim eliminar-se-ia uma maior quantidade de flúor (da Mata, da Silva Marques et al. 2009).

Aliás, apesar de os dentífricos fluoretados constituírem o modo de aplicação tópica de flúor mais utilizado atualmente (Negri and Cury 2002; Davies, Scully et al. 2010), verifica-se que a quantidade de flúor recuperada no bochecho corresponde geralmente a uma média superior a 50% da quantidade inicialmente aplicada. Assim, quando o paciente expele o bochecho que, além da água, contém saliva, flúor dissolvido e vestígios de pasta fluoretada, está a eliminar aproximadamente metade da percentagem de flúor inicialmente aplicada, reduzindo a quantidade de flúor na saliva e conseqüentemente a sua ação tópica. Esta situação está em concordância com estudos anteriores onde também se estudou o efeito do bochecho com água (Duckworth and Morgan 1991; Sjogren, Ekstrand et al. 1994; Attin and Hellwig 1996; Issa and Toumba 2004). Apesar dos resultados de a *Colgate Duraphat*<sup>®</sup> ter uma concentração de flúor bastante superior, neste estudo piloto, os efeitos deletérios do flúor, não são diretamente proporcionais à sua concentração na pasta.

Obter informação quantitativa relativamente ao grau de exposição sistémica ao flúor reveste-se de especial importância ao nível dos dentífricos fluoretados, dada a possibilidade de ingestão de pasta durante a escovagem (Olympio, Bardal et al. 2007; Guideline on fluoride therapy 2008; Barbier, Arreola-Mendoza et al. 2010). Portanto, além da quantidade cumulativa de flúor libertado na saliva durante as duas horas é necessário considerar a quantidade de flúor que ficou por determinar, porque poderá ter sido deglutida involuntariamente.

Ao analisar as quantidades de flúor recuperadas dos diferentes locais de colheita (saliva, escova e bochecho), foi possível verificar que, permanecem por identificar cerca de 26% na pasta *Xeros*<sup>®</sup>, 25% na pasta *Colgate Total*<sup>®</sup> e 8% na pasta *Colgate Duraphat*<sup>®</sup>, das quantidades inicialmente aplicadas. Estas percentagens podem corresponder à integração do flúor nos diversos reservatórios orais tais como os tecidos moles (que constituem 80% da superfície da cavidade oral), estrutura dentária e biofilme (que correspondem a 20%), ou à sua deglutição inadvertida durante a colheita (Zero, Fu et al. 1988; Lynch, Navada et al. 2004).

Ao realizar a análise dos possíveis efeitos toxicológicos da utilização destes dentífricos e considerando os valores descritos na literatura de 3 a 5 mg/Kg/dia de flúor para efeitos agudos e 0,1 mg/Kg/dia para efeitos crónicos (Whitford 1992; Whitford 1996; Jaroszynska 2011), foi possível aferir que para esta amostra e, em caso de deglutição, seriam necessárias 36 gramas de pasta *Colgate Duraphat*<sup>®</sup>, 124 gramas de pasta *Xeros*<sup>®</sup> e 120 gramas de pasta *Colgate Total*<sup>®</sup>, para a ocorrência de fenómenos de toxicidade aguda num indivíduo com 60Kg.

No que diz respeito à toxicidade crónica, tendo em conta os resultados deste estudo, seria necessário que um indivíduo de 60Kg ingerisse diariamente 1,2000 gramas de *Colgate Duraphat*<sup>®</sup>; 4,1000 gramas de *Xeros*<sup>®</sup> e 4,0000 gramas de *Colgate Total*<sup>®</sup>. Posto isto, conclui-se que os valores necessários para efeitos de toxicidade por ingestão de pasta são divergem consoante a concentração dos diferentes dentífricos.

Com o objetivo de avaliar a possível ocorrência de fenómenos de toxicidade crónica, apenas considerando para estes cálculos as quantidades que não foram recuperadas na escova e no bochecho, os resultados alteram-se. O risco de toxicidade crónica é semelhante para as três pastas em estudo, pois seria necessário que o indivíduo escovasse os dentes em média 11 vezes por dia com a *Colgate Duraphat*<sup>®</sup>; 12 vezes por dia com a *Xeros*<sup>®</sup> e 13 vezes com a *Colgate Total*<sup>®</sup>.

Com base nos resultados deste estudo verifica-se que os possíveis efeitos toxicológicos da utilização de uma pasta de dentes de prescrição médica com uma elevada concentração de flúor (5000 ppm) são comparáveis ao risco de utilização com

pastas de venda livre uma vez que a o flúor é excretado maioritariamente no bochecho ou como remanescente na escova. Seria interessante, de futuro, a realização de ensaios clínicos em crianças, para avaliação da cinética de libertação de flúor, associada à fluorose dentária.

Além disso, como a escovagem por si só, não remove toda a placa bacteriana (Pessan, Sicca et al. 2006) e o flúor tem especial afinidade para o cálcio presente na mesma e na estrutura dentária, a sua capacidade de integração reveste-se de especial importância, pois permite que este seja libertado ao longo do tempo, prolongando o seu efeito anti-cariogénico (Duckworth and Morgan 1991; Pessan, Sicca et al. 2006; Vogel, Shim et al. 2006). No entanto este estudo não se propõe a estudar a retenção oral do flúor, mas sim a inferir sobre o seu potencial anti-desmineralizante, estabelecendo um paralelo entre as concentrações de flúor libertadas na saliva, nas duas horas subsequentes à escovagem com dentífricos fluoretados e os valores, que de acordo com a literatura científica propiciam este efeito (ten Cate and Duijsters 1983; Adair, Whitford et al. 1994; Lynch, Navada et al. 2004).

Assim, ao considerar as curvas de cinética de libertação de flúor, constata-se um comportamento semelhante em todas as pastas ( $P > 0,05$ ) durante as duas horas de colheita e isto ocorre independentemente da concentração de flúor nos dentífricos. Apenas nos cinco minutos iniciais se encontraram valores significativamente superiores na *Colgate Duraphat*<sup>®</sup> ( $P < 0,05$ ) em relação às outras duas marcas. Portanto, ao usar pastas de elevada concentração de flúor, como a *Colgate Duraphat*<sup>®</sup> obter-se-ão quantidades mais elevadas de flúor libertado na saliva, sem alteração significativa do padrão de cinética. Este poderá constituir o principal motivo para a sua indicação em pacientes com maior suscetibilidade para a cárie dentária (ten Cate, Exterkate et al. 2006; Colgate Palmolive Dental Health Unit 2009).

Esta ideia pode ser reforçada ao constatar que metabolismo microbiano pode ser inibido perante concentrações de flúor salivar superiores a 10 ppm (Cury, do Amaral et al. 2010), o que de acordo com este estudo corresponde aos cinco minutos iniciais apenas para a pasta *Colgate Duraphat*<sup>®</sup> cujo valor médio de 29,3865 ppm +/- 8,63385

(+/- 95% IC), e para a pasta *Xeros*<sup>®</sup> com 11,2365 ppm +/- 3,61809 (+/- 95% IC). Contudo, de acordo com o estudo de Lynch & ten Cate, 2006, as concentrações salivares de flúor após a escovagem com dentífricos fluoretados, são insuficientes para inibir o metabolismo microbiano, o que neste estudo é válido em qualquer altura para a *Colgate Total*<sup>®</sup> e a partir dos cinco minutos pós escovagem para a *Colgate Duraphat*<sup>®</sup> e a *Xeros*<sup>®</sup> (Lynch, Mony et al. 2006). Todavia, estes dados deverão ser confirmados num estudo com uma amostra maior.

A aplicação tópica de flúor através dos dentífricos fluoretados é efetiva durante duas horas, pois constata-se que durante os 120 minutos de colheita os valores de flúor basal, nunca são retomados por qualquer uma das pastas, o que está de acordo com estudos prévios (Cury, do Amaral et al. 2010), embora derivado ao tamanho da amostra não exista uma diferença significativa quando comparado com os valores de flúor basal.

Em termos de inibição de desmineralização, segundo alguns autores esta verifica-se entre os valores 0,1 e 2 ppm (ten Cate and Duijsters 1983), ou seja até ao minuto 70 para a pasta *Colgate Total*<sup>®</sup> e durante toda a duração do estudo (120 minutos), para os outros dois dentífricos estudados. Embora neste estudo piloto e devido ao tamanho da amostra não tenha sido possível atribuir significância estatística para estes dados.

Por último, no que diz respeito ao fluxo salivar, não existiram diferenças para as três pastas. Assim, conclui-se que para este estudo o estímulo mecânico da escovagem, e o químico da pasta, não foi significativo para efeitos de estimulação de secreção salivar.

No âmbito das limitações deste estudo, importa considerar em primeiro lugar o tamanho da amostra. Assim, o poder estatístico é insuficiente para a extrapolação de resultados, no entanto, tratando-se de um estudo piloto, os dados funcionam como indicadores de possíveis padrões para a realização de estudos futuros. Ainda relativamente à amostra, esta é constituída apenas por indivíduos saudáveis, onde o fluxo salivar não se encontra comprometido e, como um dos dentífricos utilizados possui indicação para pacientes hipossialícos, a sua influência nesta disfunção, não foi aqui abordada. No entanto, é de interesse futuro alargar a amostra a estes pacientes e, consequentemente observar as alterações no fluxo salivar e também nas concentrações

de flúor recuperadas ao longo das duas horas. Os resultados do estudo não se encontram, por isso, comprometidos, sendo que apenas a relação entre a pasta *Xeros*<sup>®</sup> e os seus benefícios para a hipossialia não foi abordada. Por outro lado, as embalagens das pastas *Colgate Total*<sup>®</sup> e *Xeros*<sup>®</sup> apresentam orifícios com diâmetros semelhantes contrariamente ao orifício da *Colgate Duraphat*<sup>®</sup> que é significativamente menor. Apesar de codificadas e encriptadas, tanto para o operador como para os pacientes, este facto poderá ter influenciado a menor quantidade de pasta colocada, pois os pacientes que optassem por preencher totalmente o comprimento das cerdas da escova, em todas as consultas, teriam naturalmente maior quantidade de pasta colocada com a *Colgate Total*<sup>®</sup> e a *Xeros*<sup>®</sup>. Este fato está de acordo com um estudo realizado por Nordström *et al.*, 2010, onde a pasta *Colgate Duraphat*<sup>®</sup> foi utilizada com referência de dentífrico de elevada concentração de flúor (5000 ppm), comparativamente a um dentífrico de menor concentração (1450 ppm) e a influência do orifício da embalagem na quantidade de pasta também foi discutida (Nordstrom and Birkhed 2010).

Em suma, e apesar das limitações, este estudo fornece indicadores para a utilização da pasta *Colgate Duraphat*<sup>®</sup>, em pacientes de alto risco de cárie, em detrimento das pastas vendidas livremente em estudo (*Colgate Total*<sup>®</sup> e *Xeros*<sup>®</sup>), uma vez que o risco de toxicidade aguda e crónica nesta pasta, é reduzido e comparável às outras pastas.

Após a realização deste estudo piloto, é necessária a realização de estudos que analisem métodos para prolongar a libertação do flúor ao longo do tempo e, simultaneamente manter a sua ação antimicrobiana e remineralizante. Por outro lado, deviam também ser desenvolvidos novos estudos para determinar outros métodos de aplicação tópicos de flúor que se revelem seguras, e com rendimento e eficácia iguais ou superiores às dos dentífricos fluoretados. Uma vez que existe evidência na literatura científica que comprova a presença de flúor até doze horas após a escovagem com dentífricos fluoretados no biofilme (Lynch, Navada *et al.* 2004), seria interessante englobar esta variável, em estudos futuros, para determinar a percentagem que aí é retida.



## Conclusão

Os dentífricos de venda livre e os dentífricos de prescrição médica, além das diferentes concentrações de flúor, comportam consigo indicações distintas.

A realização desta monografia permitiu verificar que, nos três dentífricos em estudo: *Colgate Total*<sup>®</sup>, *Xeros*<sup>®</sup> e *Colgate Duraphat*<sup>®</sup>, a cinética de libertação de flúor para a saliva é independente da concentração destes produtos, excetuando nos cinco minutos iniciais, onde a *Colgate Duraphat*<sup>®</sup> liberta uma quantidade significativamente superior ( $P < 0,05$ ). Associada a esta evidência, a recomendação de utilização da *Colgate Duraphat*<sup>®</sup>, em detrimento das outras marcas, apenas se justifica por esta apresentar uma massa cumulativa de flúor superior, para pacientes com elevado risco de cárie.

É de realçar que, independentemente do tipo de dentífrico utilizado, o fluxo salivar dos pacientes não foi alterado pela escovagem.

No que diz respeito à toxicidade, conclui-se que, a concentração do dentífrico não influencia a ocorrência de fenómenos de toxicidade, uma vez que a maior parte do flúor é eliminado durante o bochecho com água ou fica retido na escova. Assim sendo, num indivíduo adulto, se os produtos forem utilizados de acordo com as indicações do médico dentista, não só exercem benefícios antimicrobianos, como favorecem a inibição da desmineralização dentária, sem maior risco de toxicidade aguda ou crónica, apesar das diferentes quantidades iniciais de fluor aplicados.

Todas estas observações baseiam-se nos resultados deste estudo piloto que, como tal, só permite fornecer indicadores que deverão ser confirmados com estudos com maior poder estatístico. Assim, impõe-se a necessidade de realização de estudos futuros, para uma maior compreensão das diferenças entre os dentífricos fluoretados e o seu modo de atuação.



## Referências Bibliográficas

1. Adair, S. M., G. M. Whitford, et al. (1994). "Effect of artificial saliva and calcium on fluoride output of controlled-release devices." Caries Res **28**(1): 28-34.
2. Amaechi, B. T. and S. M. Higham (2005). "Dental erosion: possible approaches to prevention and control." J Dent **33**(3): 243-252.
3. Ammari, A. B., A. Bloch-Zupan, et al. (2003). "Systematic review of studies comparing the anti-caries efficacy of children's toothpaste containing 600 ppm of fluoride or less with high fluoride toothpastes of 1,000 ppm or above." Caries Res **37**(2): 85-92.
4. Aoba, T. and O. Fejerskov (2002). "Dental fluorosis: chemistry and biology." Crit Rev Oral Biol Med **13**(2): 155-170.
5. Arnold, F. A., Jr., H. T. Dean, et al. (1956). "Effect of fluoridated public water supplies on dental caries prevalence." Public Health Rep **71**(7): 652-658.
6. Attin, T., W. Buchalla, et al. (1996). "Influence of enamel conditioning on bond strength of resin-modified glass ionomer restorative materials and polyacid-modified composites." J Prosthet Dent **76**(1): 29-33.
7. Attin, T. and E. Hellwig (1996). "Salivary fluoride content after toothbrushing with a sodium fluoride and an amine fluoride dentifrice followed by different mouthrinsing procedures." J Clin Dent **7**(1): 6-8.
8. Baeshen, H. A., H. Kjellberg, et al. (2008). "Uptake and release of fluoride from fluoride-impregnated chewing sticks (miswaks) in vitro and in vivo." Caries Res **42**(5): 363-368.
9. Barbier, O., L. Arreola-Mendoza, et al. (2010). "Molecular mechanisms of fluoride toxicity." Chem Biol Interact **188**(2): 319-333.
10. Bellamy, P. G., M. Prendergast, et al. (2011). "Can anti-erosion dentifrices also provide effective plaque control?" Int J Dent Hyg **9**(3): 223-228.
11. Bhuridej, P., S. M. Levy, et al. (2007). "Effects of toothbrush size and dentifrice type/brand on pea-sized and larger amounts of dentifrice." Int Dent J **57**(2): 71-76.

12. Bizhang, M., Y. H. Chun, et al. (2009). "Effect of a 5000 ppm fluoride toothpaste and a 250 ppm fluoride mouth rinse on the demineralisation of dentin surfaces." BMC Res Notes **2**: 147.
13. Breitenmoser, J., W. Mormann, et al. (1979). "Damaging effects of toothbrush bristle end form on gingiva." J Periodontol **50**(4): 212-216.
14. Bronckers, A. L., D. M. Lyaruu, et al. (2009). "The impact of fluoride on ameloblasts and the mechanisms of enamel fluorosis." J Dent Res **88**(10): 877-893.
15. Browne, D., H. Whelton, et al. (2005). "Fluoride metabolism and fluorosis." J Dent **33**(3): 177-186.
16. Colgate Palmolive Dental Health Unit (2009). INFARMED.
17. Cury, J. A., R. C. do Amaral, et al. (2010). "Low-fluoride toothpaste and deciduous enamel demineralization under biofilm accumulation and sucrose exposure." Eur J Oral Sci **118**(4): 370-375.
18. Cury, J. A., M. J. Oliveira, et al. (2010). "Available fluoride in toothpastes used by Brazilian children." Braz Dent J **21**(5): 396-400.
19. da Mata, A. D., D. N. da Silva Marques, et al. (2009). "Effects of gustatory stimulants of salivary secretion on salivary pH and flow: a randomized controlled trial." Oral Dis **15**(3): 220-228.
20. da Silva Marques, D. N., A. D. da Mata, et al. (2011). "Effects of gustatory stimulants of salivary secretion on salivary pH and flow in patients with Sjogren's syndrome: a randomized controlled trial." J Oral Pathol Med **40**(10): 785-792.
21. Davies, R., C. Scully, et al. (2010). "Dentifrices--an update." Med Oral Patol Oral Cir Bucal **15**(6): e976-982.
22. Dawes, C. and J. A. Weatherell (1990). "Kinetics of fluoride in the oral fluids." J Dent Res **69 Spec No**: 638-644; discussion 682-633.
23. DECO PROTESTE. (2010). "<http://www.deco.proteste.pt>." Retrieved 04-01-2012, 2012.
24. Dhar, V. and M. Bhatnagar (2009). "Physiology and toxicity of fluoride." Indian J Dent Res **20**(3): 350-355.

25. Diamanti, I., H. Koletsi-Kounari, et al. (2011). "In vitro evaluation of fluoride and calcium sodium phosphosilicate toothpastes, on root dentine caries lesions." J Dent **39**(9): 619-628.
26. Dote, T., K. Kono, et al. (2000). "Toxicokinetics of intravenous fluoride in rats with renal damage caused by high-dose fluoride exposure." Int Arch Occup Environ Health **73 Suppl**: S90-92.
27. Duckworth, R. M., C. Horay, et al. (2009). "Effects of flossing and rinsing with a fluoridated mouthwash after brushing with a fluoridated toothpaste on salivary fluoride clearance." Caries Res **43**(5): 387-390.
28. Duckworth, R. M., A. Maguire, et al. (2009). "Effect of rinsing with mouthwashes after brushing with a fluoridated toothpaste on salivary fluoride concentration." Caries Res **43**(5): 391-396.
29. Duckworth, R. M. and S. N. Morgan (1991). "Oral fluoride retention after use of fluoride dentifrices." Caries Res **25**(2): 123-129.
30. Duckworth, R. M., S. N. Morgan, et al. (1992). "Oral fluoride measurements for estimation of the anti-caries efficacy of fluoride treatments." J Dent Res **71 Spec No**: 836-840.
31. Duckworth, R. M. and D. Stewart (1994). "Effect of mouthwashes of variable NaF concentration but constant NaF content on oral fluoride retention." Caries Res **28**(1): 43-47.
32. Ekstrand, J. and M. Ehrnebo (1980). "Absorption of fluoride from fluoride dentifrices." Caries Res **14**(2): 96-102.
33. Everett, E. T. (2011). "Fluoride's effects on the formation of teeth and bones, and the influence of genetics." J Dent Res **90**(5): 552-560.
34. Franke, W., W. Kunzel, et al. (1976). "[Longitudinal studies on the inhibition of caries by amine fluoride within the framework of guided and supervised oral hygiene actions]." Stomatol DDR **26**(8): 532-537.
35. Garbin, A. J., C. A. Garbin, et al. (2011). "Dental practice and musculoskeletal disorders association: a look at the evidence." Arch Environ Occup Health **66**(1): 26-33.

36. Gonzalez-Cabezas, C. (2010). "The chemistry of caries: remineralization and demineralization events with direct clinical relevance." Dent Clin North Am **54**(3): 469-478.
37. Guideline on fluoride therapy (2008). Guideline on fluoride therapy. Pediatr Dent. **30**: 121-124.
38. Issa, A. I. and K. J. Toumba (2004). "Oral fluoride retention in saliva following toothbrushing with child and adult dentifrices with and without water rinsing." Caries Res **38**(1): 15-19.
39. Jaroszynska, M. M.-b. D. K. R. W. M. S.-. (2011). Acute Fluoride Poisoning. Annales - Universitatis Mariae Curie-Slodowska. Lublin, Medical University in Lublin. **24**: 5.
40. Jimenez-Farfan, M. D., J. C. Hernandez-Guerrero, et al. (2011). "Fluoride consumption and its impact on oral health." Int J Environ Res Public Health **8**(1): 148-160.
41. Lagerweij, M. D. and J. M. ten Cate (2002). "Remineralisation of enamel lesions with daily applications of a high-concentration fluoride gel and a fluoridated toothpaste: an in situ study." Caries Res **36**(4): 270-274.
42. Larsen, M. J. and E. I. Pearce (2003). "Saturation of human saliva with respect to calcium salts." Arch Oral Biol **48**(4): 317-322.
43. Lynch, R. J., U. Mony, et al. (2006). "The effect of fluoride at plaque fluid concentrations on enamel de- and remineralisation at low pH." Caries Res **40**(6): 522-529.
44. Lynch, R. J., R. Navada, et al. (2004). "Low-levels of fluoride in plaque and saliva and their effects on the demineralisation and remineralisation of enamel; role of fluoride toothpastes." Int Dent J **54**(5 Suppl 1): 304-309.
45. Magalhaes, A. C., A. Furlani Tde, et al. (2007). "Effect of calcium pre-rinse and fluoride dentifrice on remineralisation of artificially demineralised enamel and on the composition of the dental biofilm formed in situ." Arch Oral Biol **52**(12): 1155-1160.
46. Magalhaes, A. C., D. Rios, et al. (2008). "The influence of residual salivary fluoride from dentifrice on enamel erosion: an in situ study." Braz Oral Res **22**(1): 67-71.

47. Maltz, M., J. J. Jardim, et al. (2010). "Health promotion and dental caries." Braz Oral Res **24 Suppl 1**: 18-25.
48. Marinho, V. C., J. P. Higgins, et al. (2003). "Fluoride toothpastes for preventing dental caries in children and adolescents." Cochrane Database Syst Rev(1): CD002278.
49. Mascarenhas, A. K. and B. A. Burt (1998). "Fluorosis risk from early exposure to fluoride toothpaste." Community Dent Oral Epidemiol **26**(4): 241-248.
50. Mason, S. C., S. Shirodaria, et al. (2010). "Evaluation of salivary fluoride retention from a new high fluoride mouthrinse." J Dent **38 Suppl 3**: S30-36.
51. McGrady, M. G., R. P. Ellwood, et al. (2012). "Dental fluorosis in populations from Chiang Mai, Thailand with different fluoride exposures. Paper 1: assessing fluorosis risk, predictors of fluorosis and the potential role of food preparation." BMC Oral Health **12**(1): 16.
52. Moretto, M. J., A. C. Magalhaes, et al. (2010). "Effect of different fluoride concentrations of experimental dentifrices on enamel erosion and abrasion." Caries Res **44**(2): 135-140.
53. Moss, S. J. (1998). "Dental erosion." Int Dent J **48**(6): 529-539.
54. Mouthrinses and dental caries (2002). "Mouthrinses and dental caries." Int Dent J **52**(5): 337-345.
55. Navazesh, M. (1993). "Methods for collecting saliva." Ann N Y Acad Sci **694**: 72-77.
56. Negri, H. M. and J. A. Cury (2002). "[Dose-response effect of a dentifrice formulation with low fluoride concentration - an in vitro study]." Pesqui Odontol Bras **16**(4): 361-365.
57. Newbrun, E. (1987). "Topical fluoride therapy: discussion of some aspects of toxicology, safety, and efficacy." J Dent Res **66**(5): 1084-1086.
58. Nobre-dos-Santos, M., L. K. Rodrigues, et al. (2007). "In situ effect of a dentifrice with low fluoride concentration and low pH on enamel remineralization and fluoride uptake." J Oral Sci **49**(2): 147-154.

59. Nordstrom, A. and D. Birkhed (2009). "Fluoride retention in proximal plaque and saliva using two NaF dentifrices containing 5,000 and 1,450 ppm F with and without water rinsing." Caries Res **43**(1): 64-69.
60. Nordstrom, A. and D. Birkhed (2010). "Preventive effect of high-fluoride dentifrice (5,000 ppm) in caries-active adolescents: a 2-year clinical trial." Caries Res **44**(3): 323-331.
61. Nordstrom, A., C. Mystikos, et al. (2009). "Effect on de novo plaque formation of rinsing with toothpaste slurries and water solutions with a high fluoride concentration (5,000 ppm)." Eur J Oral Sci **117**(5): 563-567.
62. Oliveby, A., J. Ekstrand, et al. (1987). "Effect of salivary flow rate on salivary fluoride clearance after use of a fluoride-containing chewing gum." Caries Res **21**(5): 393-401.
63. Olympio, K. P., P. A. Bardal, et al. (2007). "Low-fluoride dentifrices with reduced pH: fluoride concentration in whole saliva and bioavailability." Caries Res **41**(5): 365-370.
64. Opydo-Szymaczek, J. and J. Opydo (2010). "Salivary fluoride concentrations and fluoride ingestion following application of preparations containing high concentration of fluoride." Biol Trace Elem Res **137**(2): 159-167.
65. Pessan, J. P., C. M. Sicca, et al. (2006). "Fluoride concentrations in dental plaque and saliva after the use of a fluoride dentifrice preceded by a calcium lactate rinse." Eur J Oral Sci **114**(6): 489-493.
66. Qin, X., S. Wang, et al. (2009). "Child skeletal fluorosis from indoor burning of coal in southwestern China." J Environ Public Health **2009**: 969764.
67. Ren, Y. F., X. Liu, et al. (2011). "Preventive effects of dentifrice containing 5000ppm fluoride against dental erosion in situ." J Dent **39**(10): 672-678.
68. Rios, D., A. C. Magalhaes, et al. (2008). "The efficacy of a highly concentrated fluoride dentifrice on bovine enamel subjected to erosion and abrasion." J Am Dent Assoc **139**(12): 1652-1656.
69. Sarner, B., D. Birkhed, et al. (2008). "Approximal fluoride concentration using different fluoridated products alone or in combination." Caries Res **42**(1): 73-78.

70. Sarner, B., P. Lingstrom, et al. (2003). "Fluoride release from NaF- and AmF- impregnated toothpicks and dental flosses in vitro and in vivo." Acta Odontol Scand **61**(5): 289-296.
71. Shannon, I. L. (1977). "Biochemistry of fluoride in saliva." Caries Res **11 Suppl 1**: 206-225.
72. Shupe, J. L., R. H. Bruner, et al. (1992). "The pathology of chronic bovine fluorosis: a review." Toxicol Pathol **20**(2): 274-285; discussion 285-278.
73. Sjogren, K. and D. Birkhed (1994). "Effect of various post-brushing activities on salivary fluoride concentration after toothbrushing with a sodium fluoride dentifrice." Caries Res **28**(2): 127-131.
74. Sjogren, K., J. Ekstrand, et al. (1994). "Effect of water rinsing after toothbrushing on fluoride ingestion and absorption." Caries Res **28**(6): 455-459.
75. Su, N., C. L. Marek, et al. (2011). "Caries prevention for patients with dry mouth." J Can Dent Assoc **77**: b85.
76. ten Cate, J. M. and P. P. Duijsters (1983). "Influence of fluoride in solution on tooth demineralization. II. Microradiographic data." Caries Res **17**(6): 513-519.
77. ten Cate, J. M., R. A. Exterkate, et al. (2006). "The relative efficacy of fluoride toothpastes assessed with pH cycling." Caries Res **40**(2): 136-141.
78. Tenuta, L. M. and J. A. Cury (2010). "Fluoride: its role in dentistry." Braz Oral Res **24 Suppl 1**: 9-17.
79. Tenuta, L. M., C. B. Zamataro, et al. (2009). "Mechanism of fluoride dentifrice effect on enamel demineralization." Caries Res **43**(4): 278-285.
80. Tschoppe, P., M. Wolgin, et al. (2010). "Etiologic factors of hyposalivation and consequences for oral health." Quintessence Int **41**(4): 321-333.
81. van Loveren, C., C. E. Ketley, et al. (2004). "Fluoride ingestion from toothpaste: fluoride recovered from the toothbrush, the expectorate and the after-brush rinses." Community Dent Oral Epidemiol **32 Suppl 1**: 54-61.
82. Visvanathan, V. and P. Nix (2010). "Managing the patient presenting with xerostomia: a review." Int J Clin Pract **64**(3): 404-407.

83. Vogel, G. L., D. Shim, et al. (2006). "Salivary fluoride from fluoride dentifrices or rinses after use of a calcium pre-rinse or calcium dentifrice." Caries Res **40**(5): 449-454.
84. Whitford, G. M. (1992). "Acute and chronic fluoride toxicity." J Dent Res **71**(5): 1249-1254.
85. Whitford, G. M. (1996). "The metabolism and toxicity of fluoride." Monogr Oral Sci **16 Rev 2**: 1-153.
86. Wiegand, A. and T. Attin (2003). "Influence of fluoride on the prevention of erosive lesions--a review." Oral Health Prev Dent **1**(4): 245-253.
87. Wong, M. C., J. Clarkson, et al. (2011). "Cochrane reviews on the benefits/risks of fluoride toothpastes." J Dent Res **90**(5): 573-579.
88. Wongdem, J. G., G. A. Aderinokun, et al. (2001). "Dental fluorosis and fluoride mapping in Langtang town, Nigeria." Afr J Med Med Sci **30**(1-2): 31-34.
89. Zero, D. T., J. E. Creeth, et al. (2010). "The effect of brushing time and dentifrice quantity on fluoride delivery in vivo and enamel surface microhardness in situ." Caries Res **44**(2): 90-100.
90. Zero, D. T., J. Fu, et al. (1988). "Comparison of fluoride concentrations in unstimulated whole saliva following the use of a fluoride dentifrice and a fluoride rinse." J Dent Res **67**(10): 1257-1262.
91. Zero, D. T., R. F. Raubertas, et al. (1992). "Studies of fluoride retention by oral soft tissues after the application of home-use topical fluorides." J Dent Res **71**(9): 1546-1552.