

UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA INTEGRADO DE DOUTORADO EM ODONTOLOGIA UFPB/UFBA

DAYANE FRANCO BARROS MANGUEIRA LEITE

**EFEITO DO PH E DA CONCENTRAÇÃO DE FLÚOR PRESENTE EM
DENTIFRÍCIOS LÍQUIDOS NO CONTROLE DE CÁRIE EM ÁREA NÃO
FLUORETADA:
ESTUDO CLÍNICO RANDOMIZADO**

JOÃO PESSOA

2012

Leite, Dayane	EFEITO DO PH E DA CONCENTRAÇÃO DE FLUOR PRESENTE EM DENTIFRÍCIOS LÍQUIDOS NO CONTROLE DE CÁRIE EM ÁREA NÃO FLUORETADA: ESTUDO CLÍNICO RANDOMIZADO	2012
----------------------	--	-------------

DAYANE FRANCO BARROS MANGUEIRA LEITE

**EFEITO DO PH E DA CONCENTRAÇÃO DE FLÚOR PRESENTE EM
DENTIFRÍCIOS LÍQUIDOS NO CONTROLE DE CÁRIE EM ÁREA NÃO
FLUORETADA:
ESTUDO CLÍNICO RANDOMIZADO**

Tese apresentada ao Programa Integrado de Doutorado em Odontologia da Universidade Federal da Paraíba (UFPB)/Universidade Federal da Bahia (UFBA) em cumprimento às exigências para obtenção do título de Doutor em Odontologia. Área de concentração: Estomatologia.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Correia Sampaio (UFPB)

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Marília Afonso Rabelo Buzalaf (FOB-USP)

JOÃO PESSOA

2012

DAYANE FRANCO BARROS MANGUEIRA LEITE

**EFEITO DO PH E DA CONCENTRAÇÃO DE FLÚOR PRESENTE EM
DENTIFRÍCIOS LÍQUIDOS NO CONTROLE DE CÁRIE EM ÁREA NÃO
FLUORETADA:
ESTUDO CLÍNICO RANDOMIZADO**

Tese apresentada ao Programa Integrado de Doutorado em Odontologia da Universidade Federal da Paraíba (UFPB)/Universidade Federal da Bahia (UFBA) em cumprimento às exigências para obtenção do título de Doutor em Odontologia. Área de concentração: Estomatologia.

Tese aprovada em: 17/08/2012

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Fábio Correia Sampaio
Orientador – UFPB

Prof. Dr. Natanael Barbosa dos Santos
Examinador – UFAL

Prof^a. Dr^a. Jainara Maria Soares Ferreira
Examinadora – UNIPÊ

Prof^a. Dr^a. Ana Karina Maciel de Andrade
Examinadora – UFPB

Prof. Dr. Franklin Delano Soares Forte
Examinador – UFPB

*Dedico este trabalho à minha família:
meu pai, Oswaldo (in memoriam), pelo
exemplo de vida; minha mãe, Ilma, pela
companhia; minhas irmãs, Liane e Tiane,
pelas orientações; meu esposo,
Francisco, pelo apoio; meu filho,
Oswaldo, pelo amor incondicional.*

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, pela graça de alcançar mais esta vitória. É Ele quem me permite a realização plena, proteção e iluminação diária;

Ao meu pai, **Oswaldo Barros Mangueira** (*in memoriam*), por todos os exemplos e brilhantes ensinamentos que me concedeu. Saudades demais!

À minha mãe, **Maria Ilma Franco Barros**, pela educação, pelo carinho, pelas orações, pela calma e paciência;

Às minhas irmãs, companheiras de todas as horas, **Liane Franco Barros Mangueira** e **Tiane Franco Barros Mangueira Farias**, pela amizade. Como é bom ter irmãs para compartilhar!

Ao meu esposo, **Francisco de Paula Leite Sobrinho**, pela compreensão essencial e pela ajuda contínua durante esta jornada;

Ao meu filho, **Oswaldo Mangueira Leite**, pela gigantesca alegria proporcionada aqui na Terra. O maior acontecimento da minha vida!

À minha sogra, **Maria Aparecida Moreira Leite**, pelos conselhos; meu sogro, **Raimundo Honório Leite**, por ser prestativo nas viagens e entrega dos kits;

Aos meus **sobrinhos, cunhada (os), amigas, mestres e alunos**, pela força e auxílio constante;

Ao meu orientador, **Fábio Correia Sampaio**, por me proporcionar inúmeras oportunidades. Obrigada pelo incentivo em participar de grandes projetos;

À minha co-orientadora, **Marília Afonso Rabelo Buzalaf**, pelo exemplo de pesquisadora e dedicação à ciência;

Ao **Fabiano Vilhena** e à **Cristiane Baldini**, pela ajuda e atenção durante a realização deste trabalho;

Aos **diretores, professoras e crianças** dos Centros de Referência de Educação Infantil de Belém, Pirpirituba e Guarabira, pela colaboração na pesquisa;

E a todos que contribuíram de alguma forma para a realização deste trabalho.

“Os Mestres sábios, aqueles que ensinaram muitas pessoas a fazer o que é certo, brilharão como as estrelas do céu, com um brilho que nunca se apagará.”

Daniel 12:3

RESUMO

O objetivo do presente estudo clínico randomizado foi avaliar o efeito do pH e da concentração de flúor presente em dentifrícios líquidos no controle de cárie dentária em crianças na primeira infância, em área não fluoretada. Em adição, este estudo avaliou a influência do pH e da concentração de flúor nas unhas e na incorporação de flúor no biofilme dental. A amostra foi composta por 212 crianças na faixa etária de 2-4 anos de idade e foi dividida em 3 grupos de acordo com o dentifrício utilizado ao longo de 12 meses: G1 (n= 39-Ativos/38-Inativos): 550 ppmF- pH 4,5; G2 (n= 33-Ativos/35-Inativos): 1100 ppmF- pH 7,0; G3 (n= 33-Ativos/34-Inativos): 550 ppmF – pH 7,0. O exame clínico foi realizado no baseline e após 12 meses de estudo, usando-se o critério de diagnóstico de atividade de cárie (ativa, inativa) e integridade da superfície da lesão (intacta, superfície com descontinuidade, cavidade). As lesões que progrediram ou regrediram e o incremento líquido (progressão - regressão) foram verificados para cada criança. Os dados foram verificados quanto à normalidade e homogeneidade usando os testes de Kolmogorov-Smirnov e Bartlett, respectivamente. Em função da não normalidade dos dados, mesmo quando estes foram submetidos à transformação logarítmica, o efeito dos dentifrícios sobre a progressão das lesões nas crianças cárie-inativas, bem como sobre a progressão, regressão e incremento líquido das lesões em crianças cárie-ativas foi avaliado pelo teste de Kruskal-Wallis. Para as unhas dos pés, os dados não atingiram padrão de normalidade, sendo analisados por Kruskal-Wallis, após transformação logarítmica, seguido pelo teste de Dunn, para comparações individuais. Para o biofilme dental, os dados foram analisados por ANOVA e teste de Bonferroni, para comparações individuais. Em todos os casos, o nível de significância foi fixado em 5%. Os dentifrícios líquidos acidulado e neutro com baixa concentração de flúor mostraram-se eficazes para o controle da cárie dentária, já que os resultados foram semelhantes àqueles encontrados para o dentifrício convencional (1100ppmF). Apesar de uma diferença numérica no incremento de cárie após 12 meses (G3>G2>G1), não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Concentração de flúor nas unhas foi significativamente menor quando as crianças usaram os dentifrícios fluoretados de baixa concentração e baixo pH ($p<0,05$). A redução do pH foi capaz de aumentar a incorporação de flúor no biofilme dental, e os níveis de fluoreto no biofilme não diminuíram ao longo do tempo. Conclui-se que dentifrício líquido com baixa concentração de flúor pode ser eficaz para o controle da cárie dentária, sem aumentar o risco de fluorose dentária em crianças pequenas.

Palavras-chave: Dentifrícios; Cárie Dentária; Fluoretos; Unhas; Concentração de Íons de Hidrogênio

ABSTRACT

The aim of this randomized clinical trial was to evaluate the effect of pH and fluoride concentration in liquid dentifrices in the control of dental caries in early childhood, in non-fluoridated area. In addition, this study evaluated the influence of pH and fluoride concentration in toenails and in the fluoride uptake in plaque. The sample comprised 212 children aged 2-4 years old and was divided into three groups according to the liquid dentifrices used over 12 months: G1 (n = 39-Active/38-Inactive): 550 μ gF/g-pH 4.5; G2 (n = 33-Active/35-Inactive): 1100 μ gF/g-pH 7.0; G3 (n = 33- Active/34-Inactive): 550 μ gF/g-pH 7.0. Clinical examination was performed at baseline and after 12 months of study, using the diagnostic criteria for caries activity (active, inactive) and surface integrity of the lesion (intact, surface discontinuity, cavity). The lesions that progressed or regressed and the net increment (progression - regression) were recorded for each child. Data were checked for normality and homogeneity using the Kolmogorov-Smirnov and Bartlett tests, respectively. The data failed the normality test, even after logarithmic transformation, and the effect of dentifrice on the progression of lesions in caries-inactive, as well as progression, regression, and net increment of injuries in children caries activity was evaluated by Kruskal-Wallis test. For toenails, the data failed the normality test and were analyzed by Kruskal-Wallis test, after logarithmic transformation, followed by Dunn's test for individual comparisons. For the plaque, the data were analyzed by ANOVA and Bonferroni test for individual comparisons. In all cases, the level of significance was set at 5%. The acidic and neutral liquid dentifrice with low fluoride concentration showed to be effective for the control of dental caries since the results were similar to those found for conventional one (1100 μ gF/g). Despite a numerical difference in caries increment after 12 months (G3> G2> G1), no statistical significant difference between groups. Fluoride concentrations in toenails were significantly lower when children used the liquid dentifrice with low concentration of fluoride and low pH ($p<0.05$).The reduction of pH was able to enhance the incorporation of fluoride in the plaque, and the levels of fluoride in the plaque is not decreased over time. It can be concluded that a low fluoride concentration dentifrice can be effective for controlling dental caries without increasing the risk of dental fluorosis in young children.

Keywords: Dentifrices; Dental Caries; Fluorides; Nails; pH

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Desenho experimental do estudo.	19
Figura 2 – Um case para armazenamento de escovas de dentes com espaço para 40 escovas e o dentífrico correspondente ao CREI.	21
Figura 3 – Os kits fornecidos para toda a família.	21
Figura 4 – Técnica da gota.	21
Quadro 1 - Descrição dos critérios de diagnóstico de cárie dentária.	22
Figura 5 – Exames clínicos realizados por duas examinadoras no baseline e após 12 meses de estudo.	25
Figura 6 – Criança considerada cárie-ativa: pelo menos uma ou mais lesões de mancha branca ativa (ANC).	25
Figura 7 – Criança considerada cárie-inativa: não tinha cavidades ou lesões de mancha branca ativa (ANC).	25
Figura 8 – Amostras de unhas de cada criança com necessidade de limpeza prévia.	28
Figura 9 – Unhas de cada criança foram limpas com água deionizada usando uma escova dental.	29

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

A: cárie ativo

ANC: *active noncavitated*: mancha branca ativa

CREIs: Centros de Referência de Educação Infantil - creche

et al.: e colaborador(es)

F: flúor

g: grama

h: hora

kg: quilograma

I: cárie inativo

mg: miligrama

mV: milivoltagem

n: número de elementos amostrais

nM:nanomolar

n^o: número

PB: Paraíba

pH: Potencial hidrogeniônico

ppmF: partes de flúor por milhão de litros de água

s: segundo

UFPB: Universidade Federal da Paraíba

%: porcentagem

>: maior

<: menor

μg: micrograma

μL: microlitro

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO.....	13
METODOLOGIA.....	16
Delineamento Experimental.....	16
Regime do estudo.....	20
Treinamento.....	22
Exames clínicos.....	23
Avaliação da concentração de flúor incorporado no biofilme dental.....	26
Validação das análises.....	27
Avaliação da concentração de flúor presente nas unhas.....	27
Análise estatística.....	29
CAPÍTULO 1.....	31
CAPÍTULO 2.....	52
CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	63
CONCLUSÃO.....	64
REFERÊNCIAS.....	65
APÊNDICES.....	68
ANEXOS.....	76

INTRODUÇÃO

O uso de dentifrícios fluoretados tem sido considerado um importante fator para o declínio da cárie dentária (CLARKSON; MCLOUGHLIN, 2000). É a forma mais amplamente difundida de autoadministração tópica de flúor (F) no mundo (AMMARI, BLOCH-ZUPAN, ASHLEY, 2003). Estima-se que aproximadamente 450 milhões de pessoas sejam beneficiadas pelo uso desses produtos (AXELSSON, 2004). Entretanto, concomitantemente, um aumento na prevalência de fluorose dentária tem sido documentado (BRASIL, 2010), e os dentifrícios têm sido reconhecidos como um dos contribuintes (MASCARENHAS, 2000) devido ao excesso ingerido na primeira infância durante a escovação (LIMA, CURY, 2001; DE ALMEIDA et al., 2007; BUZALAF, LEVY, 2011).

Considerando a etiologia multifatorial da cárie dentária, uma das vantagens dos dentifrícios fluoretados é a associação das propriedades cariostáticas do flúor com a limpeza mecânica dos elementos dentários, o que permite a remoção ou desestruturação do biofilme dental. Existe um consenso na literatura quanto à recomendação do uso desses produtos como método de escolha para a prevenção de lesões cariosas, uma vez que sua utilização é aprovada e bastante difundida (MARINHO et al., 2006; MARINHO, 2009).

Os ingredientes comumente utilizados em sua fabricação são: agentes ativos (flúor, agentes para melhorar o efeito do flúor, agentes químicos, para controle do biofilme, agentes antitártaros, sistema tampão), partículas abrasivas, detergentes, flavorizantes, preservativos, corantes, espessantes, agentes reguladores da viscosidade e água (AXELSSON, 2004).

Mesmo sendo um método de aplicação de flúor indicado para todas as pessoas independente do risco, uma vez que permite que concentrações ótimas e frequentes se encontrem na cavidade bucal (TWETMAN et al., 2009), medidas para reduzir a ingestão por crianças são necessárias, para prevenir fluorose dentária (DO; SPENCER, 2007).

Uma possível alternativa seria o uso de dentifrícios de baixa concentração de F, que precisam ser tão eficazes quanto àqueles convencionais (1000, 1100, 1500 ppmF) no controle de cárie dentária. Entretanto, ainda não é consenso se a eficácia

anticárie de um de 500 ppmF é equivalente ao convencional (AMMARI, BLOCH-ZUPAN, ASHLEY, 2003).

Quando o pH é ácido tem sido sugerido um aumento da sua eficácia (VILHENA et al., 2010), já que o pH influencia consideravelmente a difusão de F no esmalte e também aumenta a concentração de F na saliva após a escovação, sem alterar a biodisponibilidade do F (OLYMPIO et al., 2007). A eficácia de dentifícios ácidos com baixa concentração de F foi testada, e resultados demonstraram aumentar significativamente tanto *in vitro* (ALVES et al., 2007; BRIGHENTI et al., 2006) como *in situ* (NOBRE-DOS-SANTOS et al., 2007).

Alguns fatores têm sido associados ao aumento ou redução da eficácia clínica desses produtos, sendo os principais o composto fluoretado utilizado e a concentração de flúor. A influência de hábitos de higiene bucal, como a quantidade de pasta colocada na escova dental, a frequência de escovação, a forma de lavagem da boca após a escovação e o horário para realização da mesma também são questões avaliadas em estudos clínicos. A frequência de escovação tem uma relação direta com a eficácia clínica, por isso recomenda-se que a escovação seja realizada ao menos duas vezes ao dia (TWETMAN, 2009).

A forma de lavagem da boca após a escovação deve ser utilizando pequena quantidade de água e com enxágue breve. Crianças pequenas poderiam ser instruídas a apenas cuspirem o excesso do dentifício. Quanto ao horário da escovação, devido ao reduzido fluxo salivar durante o sono, recomenda-se uma escovação obrigatoriamente, à noite, antes de dormir e outra podendo ser realizada após as refeições (DAVIES et al., 2003).

Outra estratégia que tem sido proposta para diminuir a ingestão de F é a redução da quantidade de dentifício a ser colocada na escova (LIMA; CURY, 2001). Neste sentido, tem sido proposto o uso de uma quantidade do tamanho de uma ervilha (TWETMAN, 2009), em torno de 0,25g (MORAES et al., 2007), o que pode ser atingido através do uso da “técnica transversal” (VILHENA, 2000). O uso da “técnica da gota”, para a aplicação do dentifício na escova mostrou diminuir significativamente a quantidade utilizada e ao mesmo tempo tornou mais fácil a padronização, quando comparada com o uso de um creme dental (VILHENA et al., 2008).

Sabe-se que os dentifícios líquidos levam a concentrações de F significativamente maiores na placa dental e significativamente menores nas unhas

quando comparados aos convencionais, levantando-se a hipótese de que a consistência desempenha um papel importante na sua capacidade de incorporar F no biofilme dental (VILHENA et al., 2010). Desta forma, dentifrícios líquidos foram utilizados no presente estudo, e a técnica da gota foi, portanto, aplicada.

A quantidade ingerida é inversamente relacionada à idade da criança. Os dentifrícios com uma concentração de 1000 ppmF contêm 1 mg de flúor por grama. Para crianças com menos de 6 anos, a quantidade média por escovação é de aproximadamente 0,55g, correspondendo a uma exposição de cerca de 0,55 mg (FOMON, 2000). Em média, 48% desta quantidade é ingerida por crianças de 2 a 3 anos, 42% por crianças de 4 anos e 34% por crianças de 5 anos. Assumindo-se pesos corporais médios de 15, 18 e 20 kg, respectivamente, a ingestão a partir de um único episódio de escovação diário seria de 0,018, 0,013 e 0,009 mg/kg peso corporal, respectivamente. Desta forma, observa-se que a escovação aumenta substancialmente a exposição ao flúor, particularmente para crianças de 2 e 3 anos (FOMON, 2000).

Progressão de cárie foi avaliada em crianças de 2-4 anos (com e sem lesões de cárie ativa) que residiam em área não fluoretada e tinham usado dentifrícios contendo 550 ou 1100 ppmF, ambos com pH neutro, durante 1 ano. A eficácia anticárie daquele de baixa concentração de F foi similar àquela apresentada pelo de 1100 ppmF, quando o mesmo foi usado por crianças cárie-inativas, porém para crianças com lesões de cárie ativa, o produto de baixa concentração de flúor foi menos eficaz que o convencional (LIMA et al., 2008).

Considerando que os pais e/ou responsáveis não têm conhecimento suficiente para escolher o produto mais adequado para seus filhos, é necessário que os cirurgiões-dentistas sejam capazes de orientar corretamente seus pacientes quanto ao produto mais apropriado para cada um, de acordo com o risco à cárie (PESSAN et al., 2008).

Devido às preocupações crescentes com relação à ingestão por crianças e fluorose dentária, faz-se necessário desenvolver novos produtos que sejam eficazes para o controle da cárie com o mínimo de risco para fluorose (DELBEM et al., 2012). Para que os dentifrícios de baixa concentração de flúor e com redução de pH possam ser amplamente prescritos, estudos clínicos randomizados precisam ser executados para que atestem sua eficácia.

A quantidade de flúor retido no biofilme dental pode desempenhar um papel importante no controle da cárie dentária (PESSAN et al., 2008). A fim de combinar estratégias disponíveis para reduzir a ingestão de F, um dentifrício líquido ácido com baixa concentração de F foi desenvolvido e mostrou ser eficaz para aumentar a absorção de F no biofilme dental, sem afetar a concentração de F nas unhas (BUZALAF et al., 2008) ou reduzindo a concentração de F nas unhas (BUZALAF et al., 2009).

O objetivo do presente estudo clínico randomizado foi avaliar o efeito do pH e da concentração de flúor presente em dentifrícios líquidos no controle de cárie dentária em crianças na primeira infância, em área não fluoretada. Em adição, este estudo avaliou a influência do pH e da concentração de flúor nas unhas e na incorporação de flúor no biofilme dental.

METODOLOGIA

Delineamento Experimental

Por se tratar de um projeto multicêntrico, o presente estudo clínico randomizado foi aprovado pelo Comitê de Ética da Faculdade de Odontologia de Bauru (protocolo 016/2009) (ANEXO A) e pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Lauro Wanderley da Universidade Federal da Paraíba, sob protocolo nº. 439/10. (ANEXO B). Envolveu crianças de dez Centros de Referência de Educação Infantil (CREIs) de três cidades sem flúor na água e sem previsão de início do programa de fluoretação nos sistemas de abastecimento (dois em Belém, um em Pirpirituba e sete em Guarabira), na Paraíba, Brasil. Análises da água de cada município foram realizadas, para garantir a condição de área não fluoretada. A amostra foi composta pela totalidade de crianças na faixa etária de 2 a 4 anos de idade, regularmente matriculadas em Belém-PB, Pirpirituba-PB e Guarabira-PB, mediante autorização da Secretaria de Educação de cada município (ANEXOS C,D e E). Foi um estudo duplo-cego, já que tanto os examinadores como os voluntários não sabiam identificar os dentifrícios, que possuíam a mesma consistência e foram armazenados em tubos idênticos, apenas a sua cor sendo diferenciada.

A determinação do tamanho da amostra necessária para atingir uma significância clínica entre os grupos de tratamento foi obtida no trabalho de Lima et al., 2008. Esses autores, baseados em um estudo piloto, avaliaram a incidência de cárie em crianças de 24 a 36 meses de idade com diferentes experiências de cárie, e concluíram que 24 crianças por tratamento resultou em um poder de 85% ($\alpha=0,05$) na detecção de um incremento de cárie de 0,23 e 0,65 nos grupos cárie inativos e ativos, respectivamente. Com relação às perdas da amostra ao longo do ano, esperava-se aproximadamente 30%.

Os critérios de inclusão foram: crianças na faixa etária de 2 a 4 anos regularmente matriculadas nos 10 CREIS, que aceitaram participar da pesquisa, através da assinatura pelos pais/responsáveis do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Os critérios de exclusão foram: CREIs que apresentavam alta mobilidade das crianças (incompatível com o planejamento de um estudo longitudinal), crianças que haviam participado em outras pesquisas nos últimos 3 meses, crianças utilizando aparelhos ortodônticos ou crianças apresentando lesões de cárie extensas ou sensibilidade dentária durante o estudo (neste caso, estas crianças seriam excluídas do estudo e enviadas para tratamento) e crianças que não permitiram a realização do exame clínico na escola.

Para a distribuição aleatória dos grupos, os CREIs foram considerados como unidades, a fim de que apenas um tipo de dentifrício fosse distribuído em cada CREI, facilitando assim o controle de entrega dos dentifrícios pelas professoras, bem como a realização da escovação supervisionada no próprio CREI.

Trezentas e oitenta e cinco crianças foram convidadas a participar do estudo, 242 crianças cujos pais e/ou responsáveis assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (APÊNDICE A) foram selecionadas, porém 30 faltaram no dia do exame, logo 212 foram clinicamente examinadas. Essas crianças foram examinadas de acordo com o critério de diagnóstico de atividade de cárie (ativa, inativa) e integridade da superfície da lesão (NYVAD, MACHIULSKIENE E BAELUM, 1999) e alocadas em dois grupos de acordo com a experiência de cárie: 107 cárie-inativos (I) e 105 cárie-ativos (A). Cada grupo de crianças foi novamente alocado de forma aleatória em 3 grupos, de acordo com o tipo de dentifrício utilizado ao longo de 12 meses. A atribuição dos subgrupos foi feita por uma terceira pessoa (F.V.V.) com a

aplicação de um algoritmo previamente estabelecido. O software Excel gerou números aleatórios de 0 a 0,99, sendo $G1 \leq 0,33$; $G2 > 0,33$ a $\leq 0,66$; $G3 > 0,66$ a $\leq 0,99$. Assim, os três subgrupos ficaram: G1 (n = 77/39-A e 38-I): dentifrício líquido, 550 ppmF, NaF, pH 4,5; G2 (n = 68/33-A e 35-I): dentifrício líquido, 1100 ppmF, NaF, pH 7,0; G3 (n = 67/33-A e 34-I): dentifrício líquido, 550 ppmF, NaF, pH 7,0 (Figura 1).

A estabilidade do flúor e pH foi testada nas formulações experimentais e demonstrou ser mantida um ano após a fabricação. No início do estudo, todas as crianças com necessidades restauradoras foram encaminhadas para a Estratégia Saúde da Família de cada município, independentemente do tipo de dentifrício utilizado pelas crianças.

Orientações gerais de higiene bucal foram passadas aos diretores, professoras e pais de crianças envolvidas no estudo, através de reuniões. Evitou-se o uso de flúor tópico no período de 1 ano, nas crianças participantes do estudo, para não interferir nos resultados da pesquisa. Os cirurgiões-dentistas de cada município foram informados de tal condição, antes da coleta inicial dos dados.

Regime do Estudo

Instruções sobre o regime do estudo foram passadas aos diretores das escolas, professoras e pais das crianças. Os Kits escolares deixados nos CREIs incluíam: 1 case (Figura 2) para armazenamento de escovas de dentes com espaço para 40 escovas (cada tubo contendo uma escova de dente, marcado com o nome da criança) e o dentifrício correspondente. A escovação diária, no próprio CREI, foi supervisionada pelas professoras como parte de um programa de saúde bucal escolar em curso, sendo realizada após o almoço em um lugar especial sobre uma pia com acesso a água, durante 1 minuto, cronometrado pelas professoras.

Kits familiares com quatro escovas de dentes, 4 tubos de dentifrício (120g cada) e um folheto (APÊNDICE B), sobre cuidados de higiene oral, foram distribuídos para todos os participantes a cada 3 meses. Os kits (Figura 3) foram fornecidos para serem usados por toda a família, a fim de garantir o uso dos respectivos dentifrícios pelas crianças, facilitando assim o cumprimento do protocolo do estudo. Os pais foram orientados a escovar os dentes de seus filhos por 1 min, pelo menos duas vezes ao dia: pela manhã e antes de dormir, nos dias escolares; na parte da manhã, depois do almoço e antes de dormir, durante as férias e nos finais de semana. Foram também orientados a não usar outros produtos de higiene oral. Não foram fornecidas instruções quanto à forma de expelir os produtos usados. Os dentifrícios líquidos foram colocados nas escovas, utilizando-se a “técnica da gota” (Figura 4) (VILHENA et al., 2008).

Um questionário foi entregue aos voluntários após 6 meses (APÊNDICE C) de uso dos dentifrícios e ao final do estudo (APÊNDICE D). Esse questionário avaliou a frequência de escovação, o *compliance* com o estudo, as opiniões em relação aos dentifrícios, dificuldades em seguir o protocolo e possíveis alterações bucais.

Figura 2 – Um case para armazenamento de escovas de dentes com espaço para 40 escovas e o dentífrício correspondente ao CREI.



Fonte: Produção do próprio autor.

Figura 3 – Os kits fornecidos para toda a família.



Fonte: Produção do próprio autor.

Figura 4 – Técnica da gota.



Fonte: Vilhena et al., 2008.

Treinamento

Antes da coleta de dados, realizou-se o treinamento com as duas examinadoras. Orientações foram dadas previamente, através de aula ministrada pelo Prof. Dr. Fábio Correia Sampaio, em sala de aula do Programa Integrado de Doutorado em Odontologia UFPB/UFBA, utilizando Data Show com projeção de imagens características de mancha branca ativa e inativa.

Houve a calibração *in lux* (somente visual, sem o uso de instrumentos e de pacientes), para mancha branca, considerando os escores de acordo com Nyvad, Machiulskiene e Baelum (1999), sendo (Quadro 1):

Quadro 1 - Descrição dos critérios de diagnóstico de cárie dentária.

Escore	Categoria	Critérios
0	Sadio	Translucência e textura normais do esmalte (fissuras sadias podem apresentar ligeira coloração)
1	Lesão ativa de cárie (superfície intacta)	A superfície do esmalte apresenta-se esbranquiçada/amarelada, opaca ; sensação de rugosidade quando a ponta da sonda exploradora é movida suavemente pela superfície, geralmente coberta por biofilme. Nenhuma perda de substância clinicamente detectável. Superfície lisa: lesão cariiosa tipicamente localizada perto da margem gengival Sulcos e fissuras: morfologia da fissura intacta; lesão se estendendo ao longo das paredes da fissura.
2	Lesão ativa de cárie (superfície com descontinuidade)	O mesmo critério do escore 1. Defeito de superfície (microcavidade) localizado somente em esmalte. Sem esmalte desapoado ou assoalho amolecido detectável com sonda.
3	Lesão ativa de cárie (cavidade)	Cavidade em esmalte/dentina facilmente visível a olho nu; a cavidade, quando sondada suavemente, dá uma sensação de toque em uma superfície feita de couro ou de consistência amolecida . Pode haver ou não envolvimento pulpar.
4	Lesão inativa de cárie (superfície intacta)	A superfície do esmalte é esbranquiçada, acastanhada ou negra. O esmalte pode estar brilhoso com textura lisa e endurecida , quando a ponta da sonda exploradora é passada suavemente pela superfície.

		Sem perda de substância clinicamente detectável. Superfície lisa: lesão cáriosa tipicamente localizada à alguma distância da margem gengival. Sulcos e fissuras: morfologia da fissura intacta; lesão se estendendo ao longo das paredes da fissura.
5	Lesão inativa de cárie (superfície com descontinuidade)	O mesmo critério do escore 4. Defeito de superfície (microcavidade) localizado somente em esmalte. Sem esmalte desapoado ou assoalho amolecido detectável com sonda exploradora.
6	Lesão inativa de cárie (cavidade)	Cavidade em esmalte/dentina facilmente visível a olho nu; a superfície da cavidade pode estar brilhosa e endurecida à sondagem com leve pressão. Sem envolvimento pulpar.
7	Restauração (superfície sadia)	-
8	Restauração + Lesão ativa de cárie	Lesão de cárie pode estar cavitada ou não.
9	Restauração + Lesão inativa de cárie	Lesão de cárie pode estar cavitada ou não.

Fonte: Nyvad, Machiulskiene e Baelum (1999). Adaptado de Ribeiro (2012).

Nesse momento, não foram acrescentados escores relativos à descontinuidade de superfície, pois não é possível avaliar a rugosidade visualmente.

Em seguida, houve o teste de calibração *in vivo* com 50 crianças previamente examinadas para que apresentassem diferentes escores (Escola Municipal Fenelon Câmara), tendo como padrão ouro a categoria definida pela Prof^a. Dr^a.Jainara Ferreira. Os escores foram anotados (APÊNDICE E) de acordo com Nyvad, Machiulskiene e Baelum (1999).

O resultado da calibração inter-examinadores *in vivo* foi 0,78. Este valor foi considerado satisfatório, o que possibilitou o início dos exames clínicos, considerando atividade de cárie dentária.

Exames clínicos

Os exames clínicos foram realizados por 2 examinadoras (C.A.B.C e D.F.B.M.L.) no baseline e após 12 meses de estudo (Figura 5), considerando todos

os dentes da arcada (APÊNDICE F), usando o critério de diagnóstico de atividade de cárie (ativa, inativa) e integridade da superfície da lesão (intacta, superfície com descontinuidade, cavidade), de acordo com Nyvad, Machiulskiene e Baelum (1999). Dentes perdidos foram registrados como não irrompidos ou extraídos, com escore “X”.

A confiabilidade intra e inter-examinador foi avaliada através do Kappa, considerando-se a superfície do dente como unidade. A concordância intra-examinador foi testada pela duplicação de 20 exames por examinador no início ($k=0,88$ e $k=0,78$, para examinadores 1 e 2 respectivamente) e ao final do estudo ($k=0,84$ e $k=0,75$, respectivamente). A confiabilidade inter-examinador também foi avaliada. Vinte crianças foram examinadas duas vezes por ambos os cirurgiões-dentistas, e os valores do kappa foram 0,78 e 0,75, para o primeiro e segundo exames, respectivamente. No exame realizado ao final do estudo, os examinadores não tinham acesso ao exame clínico realizado no baseline.

Antes dos exames, cada criança escovou seus dentes para a remoção do biofilme dental, e o exame clínico foi conduzido sob as mesmas condições para os dez CREIs, como segue: mesas e cadeiras da escola e um equipo portátil contendo ar comprimido foram alocados em um ambiente com luz natural e todas as superfícies dos dentes decíduos foram registradas usando-se gaze, espelho clínico e explorador, após a secagem com ar comprimido por 3-5s.

As crianças foram consideradas cárie-ativas (Figura 6) quando tinham pelo menos uma ou mais lesões de mancha branca ativa (ANC) ou cavidade e aquelas que não tinham cavidades ou lesões de mancha branca ativa (ANC) foram consideradas como cárie-inativas (Figura 7). A progressão ou regressão das lesões foi avaliada por meio dos dados do exame clínico no início e após 12 meses de estudo. As lesões foram consideradas como progressão, quando originalmente se apresentavam como superfície sadia ou lesão de cárie inativa não cavitada e após 12 meses foram reavaliadas como lesão de cárie ativa não cavitada ou cavidade (cavidade não tratada ou dente restaurado) ou quando uma lesão de cárie ativa não cavitada se transformou em cavidade (cavidade não tratada ou dente restaurado). A regressão foi considerada quando uma lesão de cárie ativa não cavitada foi

reavaliada após 12 meses como uma lesão de cárie inativa não cavitada ou superfície sadia.

Figura 5 – Exames clínicos realizados por duas examinadoras no baseline e após 12 meses de estudo.



Fonte: Produção do próprio autor.

Figura 6 – Criança considerada cárie-ativa: pelo menos uma ou mais lesões de mancha branca ativa (ANC).



Fonte: Produção do próprio autor.

Figura 7 – Criança considerada cárie-inativa: não tinha cavidades ou lesões de mancha branca ativa (ANC).



Fonte: Produção do próprio autor.

Avaliação da concentração de flúor incorporado no biofilme dental

Uma amostra de 59 crianças participantes do estudo clínico randomizado há 6 meses foi selecionada e dividida em 3 grupos de acordo com o tipo de dentifrício utilizado (n = 20, G1: dentifrício líquido, 550 ppmF, pH 4,5; n = 23, G2: dentifrício líquido, 1100 ppmF, pH 7,0; n = 16, G3: dentifrício líquido, 550 ppmF, pH 7,0).

Para a coleta de biofilme, optou-se por realizar a escovação na escola, coletando-se, através do esculpador Hollenback 3S, biofilme 5 minutos após a escovação (de uma das hemi-arcadas) e 1h após a escovação (da outra hemi-arcada). Neste período de 1h de espera, as professoras foram orientadas a não deixarem que a criança bebesse ou comesse qualquer coisa, nem mesmo água. Foram enviados bilhetes aos pais no dia anterior ao experimento. Esta metodologia foi adotada, pela dificuldade de contato com todos os pais das crianças participantes da pesquisa, para lembrá-los de que no dia anterior à coleta escovassem somente as superfícies oclusais dos elementos dentários.

As amostras de biofilme dental foram analisadas quanto ao flúor usando eletrodo iônico-específico, após difusão facilitada com hexametil-disiloxano (HMDS), de acordo com o método de Taves (1968), conforme modificado por Whitford (1996). Para tanto, as amostras de biofilme foram colocadas em placas de Petri plásticas (Falcon, n° 1007), juntamente com 2 mL de água. Na tampa destas placas, foram colocados 50 µL de NaOH 0,05 M, distribuídos em 3 gotas. As placas foram então fechadas, seladas com vaselina, e por um orifício feito previamente na tampa foi colocado HMDS (Aldrich, 2,0 mL em ácido sulfúrico 3M). O orifício foi imediatamente selado com vaselina e parafilme. As placas foram colocadas numa mesa agitadora orbital plana (Nova Técnica, modelo NT 145) em velocidade 2-3, durante a noite. No dia seguinte, as tampas foram removidas, invertidas e as gotas de NaOH foram combinadas numa única gota. O NaOH foi tamponado pela adição de 25 µL de ácido acético 0,2M. O volume total foi então ajustado para 75 µL com água deionizada usando uma pipeta. A gota, que contém todo o flúor do biofilme foi analisada com o eletrodo Orion 9409 e um micro-eletrodo de referência calomelano (Accumet, No. 13-620-79), ambos acoplados ao potenciômetro Orion EA 940. Durante a leitura, os

dois eletrodos foram mantidos unidos através de bandas de borracha e colocados em contato com a gota na parte interna da tampa da placa.

Validação das análises

As soluções-padrão (1, 5, 10, 50 e 100 nM de flúor) empregadas na realização da curva de calibração foram preparadas por diluição seriada de um estoque-padrão contendo 0,1 M F (Orion) e difundidas em triplicata, em concomitância com as amostras que foram analisadas. Foi feita a primeira leitura antes de se começar a ler as amostras de biofilme, a segunda quando a metade das amostras já havia sido lida e a terceira após o término da leitura das amostras. As leituras obtidas em mV foram convertidas para μg de F, através do Programa Excel (Microsoft). A média das leituras obtidas a partir dos padrões foi inserida na planilha, e então foi calculada a porcentagem de variação entre a quantidade de F medida e a esperada pelos padrões. Somente as curvas de calibração com porcentagem de variação de até 5% para todos os padrões e $r \geq 0,99$ foram aceitas.

Além disso, padrões que não sofreram difusão foram preparados usando-se as mesmas soluções (NaOH 0,05 M e ácido acético 0,20 M), que foram usadas para se preparar os padrões e amostras que sofreram difusão. Estes padrões não difundidos foram feitos de modo a ter exatamente a mesma concentração de F que os padrões que sofreram difusão. A comparação das leituras de milivoltagem mostrou que o F nos padrões difundidos foi completamente captado e analisado.

Avaliação da concentração de F presente nas unhas

Uma amostra de 75 crianças participantes do estudo clínico há 6 meses foi selecionada e dividida em 3 grupos de acordo com o tipo de dentifrício utilizado ($n = 25$, dentifrício líquido, 550 ppmF, pH 4,5; $n = 29$, dentifrício líquido, 1100 ppmF, pH 7,0; $n = 21$, dentifrício líquido, 550 ppmF, pH 7,0). Foram distribuídos *Eppendorfs* aos

pais para a coleta das unhas dos dedos maiores dos pés, e os pais foram instruídos através de carta de informação (APÊNDICE G) a deixar as unhas da criança crescerem durante um período de 15 dias, anteriormente ao seu corte. A coleta foi realizada em duas etapas, obtendo-se duas amostras das unhas de cada criança. Foram coletadas as unhas dos dedos maiores dos pés, por fornecerem uma massa de unha suficiente para análise e porque tem sido relatado que há menor possibilidade de contaminação nas unhas dos pés (BUZALAF, PESSAN, ALVES, 2006) As unhas foram limpas (Figuras 8 e 9) e preparadas para análise. As amostras de unha de cada criança foram limpas com água deionizada usando uma escova dental, levadas ao aparelho de ultrassom com água deionizada por 10 min, secas a $60 \pm 5^\circ\text{C}$ e pesadas. A presença de F foi analisada como descrito no item anterior, de acordo com o método de Taves (1968), conforme modificado por Whitford (1996). Padrões de F (0,00475, 0,0095, 0,019, 0,095, 0,190 e 0,95 mg F) foram preparados por diluição seriada de uma solução estoque de 0,1 MF (Orion) em triplicata e difundidos da mesma forma como as amostras. A repetibilidade média das leituras baseada nas amostras em duplicata foi de 95%. A curva padrão teve um coeficiente de determinação $\geq 0,98$. Sempre que o peso da amostra foi > 20 mg, a análise foi realizada em duplicata.

Figura 8 – Amostras de unhas de cada criança com necessidade de limpeza prévia.



Fonte: Produção do próprio autor.

Figura 9 – Unhas de cada criança foram limpas com água deionizada usando uma escova dental.



Fonte: Produção do próprio autor.

Análise estatística

Os softwares GraphPad InStat versão 3.0 para Windows e GraphPad Prism versão 4.0 para Windows (GraphPad Software, La Jolla, CA, EUA) foram utilizados. Os dados foram verificados quanto à normalidade e homogeneidade usando os testes de Kolmogorov-Smirnov e Bartlett, respectivamente. As lesões que progrediram ou regrediram e o incremento líquido (progressão - regressão) foram verificados para cada criança, comparando-se o exame clínico do baseline com o de 12 meses, e o efeito dos dentifrícios foi avaliado através destes parâmetros para cada grupo de crianças. Em função da não normalidade dos dados, mesmo quando estes foram submetidos à transformação logarítmica, o efeito dos dentifrícios sobre a progressão das lesões nas crianças cárie-inativas, bem como sobre a progressão, regressão e incremento líquido das lesões em crianças cárie-ativas foi avaliado pelo teste de Kruskal-Wallis. Para as unhas dos pés, os dados não atingiram padrão de normalidade, sendo analisados por Kruskal-Wallis, após transformação logarítmica, seguido pelo teste de Dunn, para comparações individuais. Para o biofilme dental, os dados foram analisados por ANOVA e teste de Bonferroni, para comparações individuais. Em todos os casos, o nível de significância foi fixado em 5%.

O presente trabalho encontra-se de acordo com as normas do formato alternativo para defesa de tese do Programa Integrado de Doutorado em Odontologia UFPB/UFBA. Os capítulos referem-se aos artigos de autoria ou co-autoria da doutoranda, já publicados ou submetidos para publicação em revistas científicas. Cada capítulo contém a indicação com o número arábico correspondente: Capítulo 1 e Capítulo 2.

Por se tratar de um estudo clínico randomizado, o consort (ANEXO F) foi preenchido, e o registro no *register.clinicaltrials.gov* foi realizado, obtendo-se NCT 01623362 (ANEXO G).

CAPÍTULO 1

(Under Review- ANEXO H)

Low-fluoride liquid dentifrice in low-fluoridated communities: a randomized clinical trial

D.F.B. Mangueira^{a*}, C.A.B. Cardoso^b, F.V. Vilhena^b, M.A.R. Buzalaf^b, Jardim M.C.A.M^c, F.C.Sampaio^d

^aDepartment of Restorative Dentistry - Health Sciences Center, Paraíba Federal University, Campus I - João Pessoa-PB, 58051-900, Brazil.

^bDepartment of Biological Sciences, Bauru Dental School, University of São Paulo, Bauru, SP, Brazil. Al. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 Bauru-SP, 17012-901 Brazil.

^cJoão Pessoa University Center, BR 230 - Km 22, Água Fria - João Pessoa-PB, 58053-000, João Pessoa, PB, Brazil.

^dDepartment of Public Health and Clinic Dentistry – Health Science Center, Paraíba Federal University, Campus I - João Pessoa-PB, 58051-900, Brazil.

^{a*}**Corresponding Author:** Dayane Franco Barros Mangueira – Department of Restorative Dentistry - Health Science Center, Paraíba Federal University, Campus I - João Pessoa-PB, 58051-900, Brazil. Tel. + 55 83 3216 7250; Fax +55 83 3216 7409;

E-mail: dayanemangueira@gmail.com

Abstract

Purpose: The aim of this study was to evaluate the effect of pH and fluoride concentration of liquid dentifrices (LD) on caries progression/regression and fluoride uptake in toenails of 2-4-year-old children. **Methods:** Preschoolchildren living in a low-fluoridated area, with (A) or without (I) active caries lesions, were randomly allocated into 3 groups according to the LD used over 12 months: Group 1 (n=39-A/38-I): 550µgF/g-pH4.5, Group 2 (n=33-A/35-I) 1100µgF/g-pH7.0, Group 3 (n=33-A/34-I): 550µgF/g-pH7.0. The number of lesions becoming active/cavities or inactive was clinically evaluated determining progression or regression. Toenail fluoride concentration was also evaluated. **Results:** Caries net increment followed a decreasing pattern according to the dentifrice used (G3>G2>G1), regardless caries activity, but the differences were not significant when evaluated through visual inspection. Toenail fluoride concentration significantly lower was observed when children used the low-fluoride dentifrices. **Conclusions:** Thus, in non-fluoridated communities, low-F liquid acidic dentifrice might be safe for controlling dental caries without increasing the risk of dental fluorosis in young children.

Keywords: Dentifrices; Dental Caries; Fluorides; Nails; pH

Introduction

The use of fluoridated dentifrices has been considered an important factor explaining the decline in dental caries¹. However, an increase in the prevalence of dental fluorosis has been reported² due to excessive fluoride intake during the critical period of tooth³, in addition young children swallow a large amount of toothpaste during brushing⁴.

Measures to reduce the fluoride (F) intake by children are necessary to prevent dental fluorosis⁵. Low-fluoride dentifrices have been suggested as alternatives, but there is no consensus regarding their clinical effectiveness⁶, which has been suggested to be increased when their pH is acidic⁷. It has been shown that pH considerably influences F diffusion in enamel, the anticaries effectiveness acidified dentifrices with low-F content was tested and shown to be improved *in vitro*⁸⁻⁹ and *in situ*¹⁰. The pH reduction was also shown to increase whole saliva F concentration, without altering the F bioavailability¹¹.

Caries progression was evaluated in groups of 2-to-4-year old children with and without active caries lesions which had used 500 or 1.100 µF/g dentifrices for one year in an area without drinking water fluoridation. The anticaries effectiveness of the low-F dentifrice was similar when used by caries-inactive children, but not when used by caries-active children. However, these dentifrices had neutral pH¹².

Because of the growing concerns regarding fluoride ingestion by young children and dental fluorosis, it is necessary to develop new dentifrices¹³. The amount of fluoride retained in plaque can play an important role in caries control¹⁴. In order to combine the available strategies to reduce the F intake, a low-F acidic liquid experimental dentifrice was developed and shown to be effective to increase the F uptake in dental plaque, without affecting nails F concentrations¹⁵ or reducing nails F concentration¹⁶. The term liquid refers to a product with consistency of gel dentifrices, but with lower viscosity. It has been suggested in order to make easier the standardization of the amount of dentifrice used during toothbrushing¹⁷, though the

“drop” technique¹⁸. The aim of the present randomized clinical trial was to compare the anticaries effect of low-F (550µg/g) acidic, low-F neutral and conventional (1100µgF/g) neutral in 2-4-year-old caries-active and caries-inactive preschoolchildren living in a low-fluoridated community. The response variables were visual inspection. Additionally, toenail F concentration of a subsample of the children enrolled was evaluated, in order to estimate F intake from these formulations.

Methods

Experimental Design

This randomized, double-blind clinical trial (NCT: 01623362, LOWF-UFPB) was approved by the Federal University of Paraíba Research Ethics Committee (439/10). It involved 2-to-4-year-old children who attended 10 public primary preschools, in urban areas, located in low-fluoridated different regions of Paraíba (Belém, Pirpirituba e Guarabira), Brazil. It was the same water supply and water analysis was performed.

The sample size was based on a previous trial¹². Accordingly, 24 children per dentifrice treatment resulted in a 85% power ($\alpha=0.05$) for detecting difference of 0.23 and 0.65 in caries increment in the caries-inactive and caries-active groups, respectively. Previous studies showed that in a fluoridated area, caries increase is expected to be approximately 40% lower than in a low-fluoridated area^{7,19}. Expecting a sample loss of 30% throughout the year, 31 children should be included in each group.

All 385 children from the 10 preschools were invited to participate and received the informed consent. From these, 242 signed informed consents were obtained. These children were then invited for clinical examination. From them, 30 could not be included in the study because

they missed clinical examination or filled the exclusion criteria (participation in other researches in the last 3 months). The total number of children enrolled was 212. These children were examined according to diagnostic criteria of caries activity and surface lesion integrity²⁰ and randomly allocated into two main groups (107 caries-inactive and 105 caries-active). Each group was randomly reassigned into 3 subgroups differing according to the type of dentifrice they should use over 12 months. The assignment of the subgroups was done by one of the researchers (F.V.V.) with the application of an algorithm previously established. The software Excel generated random numbers ranging from 0 to 0.99. The volunteers were assigned to the subgroups as follows: G1 \leq 0.33; G2 $>$ 0.33 to \leq 0.66; G3 $>$ 0.66 to \leq 0.99. Thus, three subgroups were composed according to the type of liquid dentifrice (LD): 1- 550 μ gF/g-pH4.5; 2- 1100 μ gF/g-pH7.0; 3- 550 μ gF/g-pH7.0. The number of children allocated in subgroups 1, 2 and 3 was 39, 33 and 33 for the caries-active children, respectively. For the caries-inactive children, the corresponding numbers were 38, 35 and 34, respectively (Figure 1). F concentration and pH of the experimental formulations were stable until the end of the experimental period. All formulations were NaF-based and identical, except for the color. The code for the colors was kept by one person that was not involved in the examination of the children. At baseline, all children with restorative needs were sent to the Family Health Program of each city and treated for caries.

Study Regimen

Instructions about the study regimen were passed to preschool directors, teachers, and children's parents. Kits containing dentifrices and toothbrushes were supplied for the whole family every 3 months to guarantee the use of the experimental LD by the children, facilitating compliance with the study protocol.

Parents and teachers were asked to brush their children's teeth for 1min, at least twice/day (in the morning and before going to bed on preschool days; in the morning, after lunch and before going to bed during holidays and weekends) and were also asked not to use other oral hygiene products. The LDs were applied onto the toothbrushes using the 'drop' technique (around 0.15g)¹⁸. A questionnaire was applied to the volunteers' parents 6 months after the use of LDs and at the end of the study. It evaluated toothbrushing frequency, compliance with the study, opinion about the dentifrices, difficulties in following the protocol and possible adverse effects.

Caries Registration

Two examiners (C.A.B.C and D.F.B.M.) evaluated the children's teeth at baseline and after 12 months, using caries-diagnostic criteria assessing the activity (active, inactive) and surface integrity (intact, surface discontinuity, cavity) of the lesions [20]. The intra-examiner agreement was tested by duplication of 20 examinations/examiner at the beginning ($k=0.88$ and 0.78 for examiners 1 and 2, respectively) and at the end of the study ($k=0.84$ and 0.75 , respectively). The inter-examiner kappa values were 0.78 and 0.75 for the first and second

examinations, respectively. The examiners were blinded with respect to the baseline caries recordings at the follow-up year.

The examiners brushed the children's teeth for plaque removal before the examinations. Exams were conducted using chairs and tables from the preschool and a portable dental unit equipped with compressed air and a suction device. Children were allocated in a natural light place. All the surfaces of the deciduous teeth were recorded using gauze and plane mouth mirrors after have been dried with compressed air for 3-5s.

Missing teeth were recorded as either unerupted or extracted. Children were considered as caries-active when they had at least 1 or more active cavities or active noncavitated caries lesions (ANC). Those having no cavities neither ANC caries lesions were considered as caries-inactive. The lesions' progression or regression was evaluated by the data from the examinations at baseline and after 12 months. Net increment was calculated from the difference between lesions progressing and regression. The lesions were considered to have progressed when a sound surface or inactive noncavitated (INC) caries lesion was reevaluated after 12 months as an ANC lesion or cavity (untreated cavity or filled tooth). The lesions' regression was considered when an ANC lesion was reevaluated after 12 months as INC or sound surface^{12, 20}.

F Concentrations in Nails

A sample of 75 children participating in the randomized clinical trial that had been using the LDs for 6 months was randomly selected and divided into 3 groups according to the type of dentifrice used. Parents were instructed to let the children's big toenails grow for 15 days before clipping them. Two samples were obtained from each child. Each nail clipping was cleaned with deionized water using an interdental brush, sonicated in deionized water for

10min, dried at $60\pm 5^{\circ}\text{C}$ and weighed. F concentrations were determined after overnight hexamethyldisiloxane-facilitated diffusion²¹ as modified²², exactly as previously described by Buzalaf *et al.*¹⁶. The mean repeatability of the readings, based on duplicate samples, was 95%. The standard curve had a coefficient of determination ≥ 0.98 .

Statistical Analysis

The softwares GraphPad InStat version 3.0 for Windows and GraphPad Prism version 4.0 for Windows (GraphPad Software, La Jolla, Ca, USA) were used. Data were checked for normality and homogeneity using Kolmogorov-Smirnov and Bartlett tests, respectively. Data from toenail F concentration were evaluated by Kruskal-Wallis and Dunn's test. Data from the clinical exams were evaluated by Kruskal-Wallis ($p < 0.05$).

Results

The initial sample of 212 children (117 male, 95 female; mean age (SD) 2.6 (0.7) years) fell to 141 (75 male, 66 female; mean age 3.6 (0.7) years) at the end of the study (33.5% loss).

Compliance with the study protocol was considered satisfactory. According to the questionnaire applied at 6 months, 94.7% of the children used only LD, a few volunteers (5.3%) reported sporadic use of another dentifrice. Of the total, 97.7% brushed 2-3 times/day or more. At 12 months, 100% have brushed 2-3 times/day and 84.3% used only LD. The majority had no difficulty in following the guidelines of treatment and said good changes at 6 and 12 months.

Regarding lesions progression in the caries-inactive group (Table 1), although a numerical difference in caries increment could be seen after 12 months ($1100\mu\text{gF/g-pH}7.0 > 550\mu\text{gF/g-pH}4.5 > 550\mu\text{gF/g-pH}7.0$), there were no significant differences among the groups ($p=0.3513$). For the lesions progression in the caries-active group (Table 2), the differences were not significant (KW=2.319, $p=0.3137$), the lesions progression was greater for $550\mu\text{gF/g-pH}7.0$ followed by $1100\mu\text{gF/g-pH}7.0$ and $550\mu\text{gF/g-pH}4.5$. For the lesions regression, the results were also favorable for low-F acidic LD because it had more lesions regressing followed by low-F neutral LD and then $1100\mu\text{gF/g}$ neutral LD, but without significant differences among the groups (KW: 0.3330, $p=0.8466$). The net increment, difference between lesions progressing and lesions arresting, after 1 year in the caries-active group showed no statistical difference (KW: 1.681, $p=0.4314$).

Regarding toenail F concentrations, a significant difference was found among the groups (KW=23.936, $P<0.0001$). Mean \pm SD toenail F concentrations were similar for the children using the dentifrices containing $550\mu\text{gF/g}$ (1.55 ± 0.64 and $1.80\pm 1.10 \mu\text{g/g}$ for the acidic and neutral dentifrices, respectively) and significantly lower than those observed for the children using the $1100\mu\text{gF/g}$ neutral dentifrice ($2.68\pm 1.15 \mu\text{g/g}$) (Table 3).

Discussion

The present study in low-fluoridated communities showed that the low-fluoride acidic of liquid dentifrice has good potential to prevent caries and reduce fluoride intake. There was no difference between the $550\mu\text{gF/g}$ acidic and $1100\mu\text{gF/g}$ neutral dentifrices, even for caries-active children.

For the caries-inactive group, the dentifrice groups did not differ in the lesion progression after 12 months. The same result was found by Lima *et al.*¹². For the caries-active group, the

results were similar to caries-inactive group, no difference in relation to progression, regression and increment. Study showed that the 550µgF/g acidic LD may not have the same efficiency as the 1100µgF/g neutral LD¹² in disagreement with this study. In a fluoridated area, the low-F acidic liquid dentifrice leads to similar caries progression rates as the conventional 1.100 ppm F neutral toothpaste⁷. The presence of F in drinking water can be made the difference between F concentration and pH less evident clinically.

Regarding the effect of the acid pH of the dentifrice, the results confirm the findings of studies *in vitro*⁸ and *in situ*¹⁰. *In vitro* study the acidic dentifrices with 412 and 550µgF/g had the same effectiveness as the commercial 1.100µgF/g dentifrice. These data suggest that the pH reduction leads to less mineral loss, probably because of the formation of more CaF₂ adsorbed to the enamel surface and therefore greater availability of F⁸. The pH can enhance enamel remineralization, promoting mineral ion penetration compared neutral solution²³. The high-F availability in biofilm, resulting from the use of conventional toothpaste compared with low-F toothpaste, may be important for reducing caries-lesion progression²⁴. However, Queiroz *et al.*²⁵ showed that the low F dentifrice presented anti-caries potential, but it was not equivalent to the dentifrices containing 1.100 µg F/g.

At 6 and 12 months, the compliance with the study protocol was considered satisfactory. There were few problems because every 3 months were distributed for the whole family. There were no reports of adverse effects and the majority had no difficulty in following the guidelines of treatment.

In relation to F concentration in toenails, children that used the 550µgF/g might have had reduced F intake throughout the study, since a significantly lower F concentration was found in their toenails, in accordance to previous studies¹⁶.

Conclusions

So, it can be concluded that in low-fluoridated area the 550 $\mu\text{gF/g}$ acidic dentifrice and 550 $\mu\text{gF/g}$ neutral dentifrice can be a good alternative for children because it is effective against caries in the same way that the 1.100 $\mu\text{gF/g}$ neutral dentifrice and can be to minimize fluoride intake.

Acknowledgements

The authors would like to thank all the children, parents and preschools for their cooperation and the Municipal Education Authorities in Belém, Pirpirituba e Guarabira-PB for all information and authorization.

References

1. Clarkson JJ, McLoughlin J. Role of fluoride in oral health promotion. *Int Dent J* 2000; 50: 119-128.
2. Mascarenhas AK. Risk factors for dental fluorosis: a review of the recent literature. *Pediatr Dent* 2000; 22: 269-277.
3. Buzalaf MA, Levy SM. Fluoride intake of children: considerations for dental caries and dental fluorosis. *Monogr Oral Sci* 2011; 22: 1-19.
4. de Almeida BS, da Silva Cardoso VE, Buzalaf MA. Fluoride ingestion from toothpaste and diet in 1- to 3-year-old Brazilian children. *Community Dent Oral Epidemiol* 2007; 35: 53-63.
5. Do LG, Spencer AJ. Risk-benefit balance in the use of fluoride among young Children. *J Dent Res* 2007; 86: 723-728.
6. Ammari AB, Bloch-Zupan A, Ashley PF. Systematic review of studies comparing the anti-caries efficacy of children's toothpaste containing 600 ppm of fluoride or less with high fluoride toothpastes of 1,000 ppm or above. *Caries Res* 2003; 37: 85-92.
7. Vilhena FV, Olympio KP, Lauris JR, Delbem AC, Buzalaf MA. Low-fluoride acidic dentifrice: a randomized clinical trial in a fluoridated area. *Caries Res* 2010; 44: 478-484.
8. Alves KM, Pessan JP, Brighenti FL, Franco KS, Oliveira FA, Buzalaf MA, et al. In vitro evaluation of the effectiveness of acidic fluoride dentifrices. *Caries Res* 2007; 41: 263-267.
9. Brighenti FL, Delbem AC, Buzalaf MA, Oliveira FA, Ribeiro DB, Sasaki KT. In vitro evaluation of acidified toothpastes with low fluoride content. *Caries Res* 2006; 40: 239-244.

10. Nobre-dos-Santos M, Rodrigues LK, Del-Bel-Cury AA, Cury JA. In situ effect of a dentifrice with low fluoride concentration and low pH on enamel remineralization and fluoride uptake. *J Oral Sci* 2007; 49: 147-154.
11. Olympio KP, Bardal PA, Cardoso VE, Oliveira RC, Bastos JR, Buzalaf MA. Low-fluoride dentifrices with reduced pH: Fluoride concentration in whole saliva and bioavailability. *Caries Res* 2007; 41: 365-370.
12. Lima TJ, Ribeiro CC, Tenuta LM, Cury JA. Low-fluoride dentifrice and caries lesion control in children with different caries experience: A randomized clinical trial. *Caries Res* 2008;42: 46-50.
13. Delbem AC, Bergamaschi M, Rodrigues E, Sasaki KT, Vieira AE, Missel EM. Anticaries effect of dentifrices with calcium citrate and sodium trimetaphosphate. *J Appl Oral Sci* 2012; 20: 94-98.
14. Pessan JP, Silva SM, Lauris JR, Sampaio FC, Whitford GM, Buzalaf MA. Fluoride uptake by plaque from water and from dentifrice. *J Dent Res* 2008; 87: 461-465.
15. Buzalaf MAR, Vilhena FV, Iano FG, Pessan JP. Influence of dentifrice pH on plaque and nails fluoride concentrations. *J Dent Res* 2008; 87 (Spec Iss B): Abs 1584.
16. Buzalaf MA, Vilhena FV, Iano FG, Grizzo L, Pessan JP, Sampaio FC, et al. The effect of different fluoride concentrations and pH of dentifrices on plaque and nail fluoride levels in young children. *Caries Res* 2009; 43: 142-146.

17. Moraes SM, Pessan JP, Ramires I, Buzalaf MAR. Fluoride intake from regular and low fluoride dentifrices by 2-3-year-old children: influence of the dentifrice flavor. *Braz Oral Res.* 2007; 21: 234- 240.
18. Vilhena FV, Silva HM, Peres SH, Caldana Mde L, Buzalaf MA. The drop technique: a method to control the amount of fluoride dentifrice used by young children. *Oral Health Prev Dent* 2008; 6: 61-65.
19. Silva MF, Melo EV, Stewart B, De Vizio W, Sintes JL, Petrone ME, et al. The enhanced anticaries efficacy of a sodium fluoride and dicalcium phosphate dihydrate dentifrice in a dual-chambered tube. A 2-year caries clinical study on children in Brazil. *Am J Dent* 2001; 14 Spec No:19A-23A.
20. Nyvad B, Machiulskiene V, Baelum V. Construct and predictive validity of clinical caries diagnostic criteria assessing lesion activity. *J Dent Res* 2003; 82: 117-122.
21. Taves DR. Separation of fluoride by rapid diffusion using hexamethyldisiloxane. *Talanta* 1968; 15: 969-974.
22. Whitford GM. The metabolism and toxicity of fluoride. *Monogr Oral Sci* 1996; 16 Rev 2: 1-153.
23. Yamazaki H, Margolis HC. Enhanced enamel remineralization under acidic conditions in vitro. *J Dent Res* 2008; 87: 569-574.
24. Cury JA, do Amaral RC, Tenuta LMA, Del Bel Cury AA, Tabchoury COM. Low-fluoride toothpaste and deciduous enamel demineralization under biofilm accumulation and sucrose exposure. *Eur J Oral Sci* 2010; 118: 370–375.

25. Queiroz CS, Hara AT, Paes Leme AF, Cury JA. H-Cycling Models to Evaluate the Effect of Low Fluoride Dentifrice on Enamel De- and Remineralization. *Braz Dent J* 2008; 19: 21-27.

The authors declare that they have no conflict of interest.

“All authors have made substantive contribution to this study and/or manuscript, and all have reviewed the final paper prior to its submission”.

Table 1. Progression of dental caries in the caries-inactive group, after 12 months of study, according to the different types of dentifrice used.

Dentifrices	Child	Lesions
G1	25	0.17 ± 0.80^a
G2	21	0.38 ± 1.04^a
G3	27	0.15 ± 0.36^a

Mean \pm SD. There were no significant difference among the groups (KW = 2.092, p = 0.3513).

Same superscripts indicate no significant differences among the dentifrices.

Table 2. Mean progression and regression of pre-existing white spot lesions and net increment after 1 year in the caries-active group, according to the type of dentifrice used.

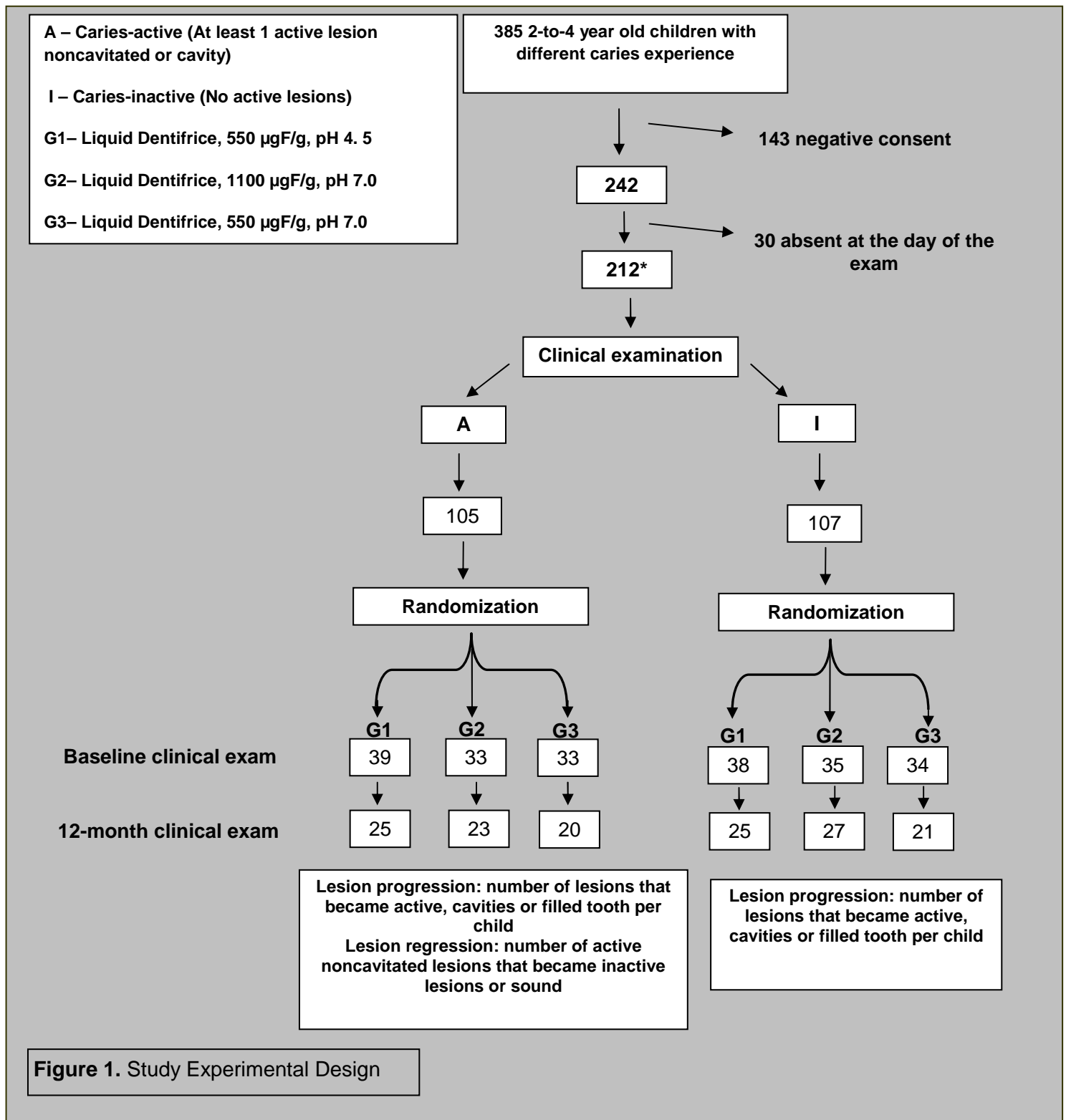
Dentifrices	n	Progression	Regression	Net Increment
G1	25	1.38 ± 2.35	1.76 ± 2.37	-0.38 ± 2.41
G2	23	2.17 ± 2.35	1.57 ± 1.50	0.61 ± 2.74
G3	20	2.90 ± 5.80	1.70 ± 1.46	1.2 ± 6.60

Mean±SD (n). There were no significant differences among the groups (KW = 2.319, p = 0.3137; KW = 0.3330, p = 0.8466; KW = 1.681, p = 0.4314, for progression, regression and net increment, respectively).

Table 3. Toenail F concentrations, according to the type of dentifrice used.

Dentifrices	n	Mean ± DP
G1	25	1.55 ± 0.64
G2	29	2.68 ± 1.15
G3	21	1.80 ± 1.10

Significant differences among the groups (KW=23.936, P<0.0001).



* Reasons for exclusion: children that did not permit the exam, children with extensive carious lesions, children with toothache or fistules.

CAPÍTULO 2

(Under Review- ANEXO I)

Fluoride concentrations and pH of liquid dentifrices on plaque in young children living in non-fluoridated community

D.F.B. Manguiera^a C.A.B. Cardoso^b, F.V. Vilhena^b, M.A.R. Buzalaf^b, Jardim M.C.A.M^c, F.C.Sampaio^{a*}

^aHealth Sciences Center, Paraíba Federal University, João Pessoa, PB, Brazil

^bDepartment of Biological Sciences, Bauru Dental School, University of São Paulo, Bauru, SP, Brazil

^cJoão Pessoa University Center, João Pessoa, PB, Brazil

***Corresponding Author:** Fábio Correia Sampaio – Department of Public Health and Clinic Dentistry - Health Science Center, Paraíba Federal University, Campus I - João Pessoa-PB, 58051-900, Brazil. Tel. + 55 83 3216 7795; Fax +55 83 3216 7409; E-mail: fabio.sampa@uol.com.br

Abstract

Introduction: The use of fluoride involves a balance between protection against dental caries and risk of dental fluorosis. It has been suggested that fluoride retention in plaque is limited by available binding sites. **Objective:** The aim of the present study was to assess fluoride uptake in plaque of caries-active and caries inactive children living in non-fluoridated community, which used liquid dentifrices. **Material and Methods:** A sample of 59 children was randomly selected to participate. After 6 months of dentifrice use (550 μ gF/g pH4.5 or pH7.0 or 1100 μ gF/g pH7.0), plaque samples of 2-to-4-year-old children were collected 5min (from the right side of the mouth) and 60min (from the left side of the mouth) after the last brushing at school, in preweighed plastic tubes, using a curette. Plaque samples were dried for 2h at 95 $^{\circ}$ C and weighed to the nearest 1 μ g. Plaque F concentrations were determined after overnight hexamethyldisiloxane-facilitated diffusion using a model 9409 F electrode (Orion) and a miniature calomel reference electrode (Accumet, No. 13-620-79) connected to a potentiometer (model EA 940; Orion). The mean repeatability of the readings, based on duplicate samples, was 95%. The standard curve had a coefficient of determination ≥ 0.98 . Data were checked for normality and homogeneity using Kolmogorov, Smirnov and Bartlett tests, respectively. Data were analyzed by RM-ANOVA and Bonferroni's. The significance level was set at 5%. **Results:** In this non-fluoridated community, the reduction of the pH of liquid dentifrice (LD) was able to increase plaque fluoride uptake. Plaque fluoride levels did not decrease along time, suggesting that fluoride from dentifrice occupied more stable binding sites not previously filled by fluoride from water. **Conclusions:** This present study showed that the reduction of dentifrice pH seems to increase F uptake in dental plaque but does not affect F bioavailability. The use of liquid dentifrices contributes to reducing F intake from dentifrice.

Keywords: Dentifrices. Fluoride. Plaque

Introduction

Caries is a disease of the hard tissues of the teeth caused by an imbalance, over time, in the interactions between cariogenic bacteria in dental plaque and fermentable carbohydrates (mainly sugars)¹. Dental fluorosis is a hypoplasia or hypomineralization of tooth enamel or dentin produced by the chronic ingestion of excessive amounts of fluoride during the period when teeth are developing. Over the last two decades, the prevalence of dental caries in children has decreased and the prevalence of dental fluorosis has increased². The use of fluoride involves a balance between protection against dental caries and risk of dental fluorosis³. In addition to the considerable benefits, the use of fluoride increases the risk of dental fluorosis, a condition that has been observed in both fluoridated and non-fluoridated populations⁴.

There is an ongoing debate whether early exposure to fluoride is necessary. The effect of early exposure to fluoride needs to be understood to inform the appropriate population oral health policy⁵.

Although both primary and permanent teeth may be affected by fluorosis, under uniform conditions of fluoride availability, fluorosis tends to be greater in permanent teeth than in primary teeth². However, only a few studies assessed the primary dentition. In young children, an alternative would be the use of low-F (500µgF/g) dentifrice. There is no consensus about the effectiveness of low-F dentifrices concentration to prevent caries when compared to conventional ones (1000µgF/g)¹. Strategies have been proposed to increase the anticaries efficacy of low-F dentifrices, such as the reduction of the dentifrice pH. *In vitro*⁶⁻⁷ and *in situ*⁸ studies have shown that low-F (500µgF/g) acidic (pH4.5-5.0) toothpastes are able to reduce the enamel mineral loss. The pH reduction was also shown to increase whole saliva F concentration, without altering the F bioavailability⁹.

The present study was developed in attempt to gain insight into the mechanisms by which fluoridated acidic liquid dentifrice protect against caries. This clinical study took advantage of ongoing clinical trials to allow the determination of whole plaque F levels. Thus, the aim of this present study was to assess fluoride uptake in plaque of caries-active and caries inactive children living in non-fluoridated community, which used liquid dentifrices with different fluoride concentrations.

Material and Methods

This randomized, double-blind clinical trial (NCT: 01623362) was approved by Federal University of Paraíba (protocol 439/10). The participants were chosen among 212 2-to-4-year-old children attending 10 public primary schools from three non-fluoridated cities: Belém, Pirpirituba and Guarabira (state of Paraíba, Brazil). The inclusion criteria to participate in the study were: age 2-to-4 years; lack of participation in other researches in the last 3 months; no use of orthodontic appliances; signature of informed consent by the parents. There was no fluoride systemic program and the children did not use fluoride for 12 months previously and during the study.

The sample size was calculated according to Pessan, et al.¹⁰(2008). Fifty-nine children were randomly selected to participate. These children had used LD for 6 months. They were also randomly divided into 3 groups: G1: 550 μ gF/g, pH 4.5 (n=20); G2: 1100 μ gF/g, pH 7.0 (n=23); G3: 550 μ gF/g, pH 7.0 (n=16).

LDs were provided for use by children and their families 3 times/day throughout the study. The LDs were applied to the toothbrushes using the 'drop' technique¹¹. F and pH of the experimental formulations were maintained stable one year after manufacturing.

To collect the plaque samples, brushing was performed at school. Plaque was collected 5min (from one side of the mouth) and 60min (from the other side) after brushing, in preweighed plastic tubes, using a curette. During this period, children refrained from eating or drinking anything, including water.

Plaque samples were dried for 2h at 95°C and weighed to the nearest 1 μ g. Plaque F concentrations were determined after overnight hexamethyldisiloxane-facilitated diffusion¹² as modified by Whitford¹³ (1996) using a model 9409 F electrode (Orion) and a miniature calomel reference electrode (Accumet, No. 13-620-79) connected to a potentiometer (model EA 940; Orion), as previously described¹⁴. The mean repeatability of the readings, based on duplicate samples, was 95%. The standard curve had a coefficient of determination ≥ 0.98 .

Regarding the statistical analysis, the softwares GraphPad InStat version 3.0 for Windows and GraphPad Prism version 4.0 for Windows (GraphPad Software, La Jolla, Ca, USA) were used. Data were checked for normality and homogeneity using Kolmogorov and Smirnov and Bartlett tests, respectively. Data from this non-fluoridated community were analyzed by 2-way RM-ANOVA and Bonferroni's tests. The significance level was set at 5%.

Results

For this non-fluoridated community, despite the plaque F concentrations found for the G1 and G2 were around 30% higher than that observed for the G3, the difference was not significant ($p=0.592$). In addition, plaque F concentrations found 60min after the last use was similar to that observed 5min and the difference was not significant ($p=0.991$, Table 1).

Discussion

The present study takes advantage of the study in progress to evaluate F concentrations in dental plaque of a subsample of the children enrolled in the clinical trial, in order to provide new insights into the mechanism of action of low-F dentifrices, as well as into the F bioavailability from these formulations. Participants were taking part in this randomized clinical trial to evaluate the anticaries efficacy of a low-F acidic liquid dentifrice, conducted in non-fluoridated area. Since the volunteers involved in the present study were taking part in a longitudinal study and had been using the dentifrices for 1 year, and since the dentifrices were provided for use by the whole family, compliance problems were minimized.

It has been suggested that fluoride retention in plaque is limited by available binding sites. In areas where the water contains fluoride close to 1.0 ppm the use of fluoridated dentifrice is likely to increase plaque fluoride concentrations significantly for up to 12 hrs¹⁰. The profile found for whole plaque F concentrations was quite different in the fluoridated and non-fluoridated communities. Plaque F uptake was influenced significantly by dentifrice consistency and nonsignificantly by pH and F concentration¹⁴.

The use of fluoride toothpaste is the primary intervention for the prevention of caries¹. Introduction of the 400–550-ppmF toothpaste and use of smaller amount of toothpaste restricted risk associated with early toothpaste use. Less use and possibly a stricter fluoride supplements regimen also restricted fluorosis risk. Periodic monitoring of risk of fluorosis is required to adjust guidelines for fluoride use in caries prevention¹⁵. Policy measures were introduced to control fluoride exposure so as to reduce the prevalence of fluorosis³.

The relative caries-preventive effects of fluoride toothpastes of different concentrations increase with higher fluoride concentration. However, there is weak, unreliable evidence that starting the use of fluoride toothpaste in children under 12 months of age may be associated with an increased risk of fluorosis. The decision of what fluoride levels to use for children under 6 years should be balanced between the risk of developing dental caries and that of mild fluorosis¹⁶. Children who did not have fluorosis had a higher prevalence and severity of caries compared to those with fluorosis after controlling for other factors. There was a significant negative association between fluorosis status and caries experience in the permanent dentition⁵. The reduction of fluoride (F) intake by children is imperative to reduce the occurrence of dental fluorosis¹⁶⁻¹⁹.

Information is lacking regarding the mechanisms by which the reduction of the dentifrice pH could increase its anticaries efficacy. Another plausible hypothesis would be the potential of acidic LDs to enhance plaque F uptake, as observed in a study conducted in a fluoridated community¹⁴. This may include the understanding of consistent fluoride ions in subsurfaces of dental tissues. This clinical study was planned to address whether the dentifrice pH could affect plaque F uptake. This was done to confirm the positive results found for the G1.

In this non-fluoridated community, despite the plaque F concentrations found for the G1 were similar to those observed for the G2 and both were higher than the values found for the G3, no significant differences were detected. An interesting and unexpected finding was that, regardless the type of dentifrice, plaque F concentrations found 60min after toothbrushing were similar to those observed 5min after and the difference was not significant. Previous studies have reported the same trend, despite in a less pronounced pattern. This non-fluoridated community included in the present study is isolated and not likely to be affected by the diffusion effects of F, as might have happened in prior studies^{10,20}. Thus, it is believed that in the non-fluoridated community included in the present study, plaque sites available for more stable F uptake were free upon toothbrushing, which allowed the retention of this ion for a longer time. Thus, the results of the present study provide additional insights on the mechanism of action of dentifrices with different F concentrations and pH against dental caries. The use of liquid dentifrices contributes to reducing F intake from dentifrice.

Acknowledgements

The authors would like to thank all the children, parents and schools for their cooperation and the Municipal Education Authorities in Belém, Pirpirituba e Guarabira-PB for all information and authorization.

Table 1. Mean fluoride concentrations and ranges in whole plaque (mmol/kg, dry weight) at 5 and 60 min after the last use of the G1: 550 µgF/g pH 4.5, G2: 1100 µgF/g pH 7.0 and G3: 550 µgF/g pH 7.0 dentifrices in the non-fluoridated communities.

Communitie	Time after brushing with G1 ^a		Time after brushing with G2 ^a		Time after brushing with G3 ^a	
	5 min ^A	60 min ^B	5 min ^A	60 min ^B	5 min ^A	60 min ^B
	n=20		n=23		n=16	
Paraíba	0.53±0.16	0.58±0.16	0.57±0.11	0.49±0.10	0.37±0.08	0.41±0.06
(non-fluoridated)	(0.07-3.31)	(0.10-3.13)	(0.08-1.94)	(0.07-1.89)	(0.12-1.43)	(0.12-0.72)

Mean ± SD. For the non-fluoridated community, no significant differences were found. Same upper case superscripts indicate no significant differences between the times after last use of dentifrices, while same lower case superscripts indicate no significant differences among the dentifrices ($p > 0.05$). Comparison was made by two-way, repeated measures ANOVA and Bonferroni's *post hoc* test.

References

1. Walsh T, Worthington HV, Glenny AM, Appelbe P, Marinho VCC, Shi X. Fluoride toothpastes of different concentrations for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev* 1:CD007868.2010.
2. Bardal PAP, Olympio KPK, Buzalaf MAR, Bastos JRM. Dental caries and dental fluorosis in 7-12-year-old schoolchildren in Catalão, Goiás, Brazil . *J. Appl. Oral Sci.* 2005;13(1): 35-40.
3. Do LG, Spencer AJ. Decline in the prevalence of dental fluorosis among South Australian children. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2007; 35(4):282-91.
4. Ermis RB, Koray F, Akdeniz G. Dental caries and fluorosis in low and high-fluoride areas in Turkey. *Quintessence Int.* 2003; 34(5):354-60.
5. Do LG, Spencer AJ, Ha DH. Association between Dental Caries and Fluorosis among South Australian Children *Caries Res.* 2007; 43(5):366-73.
6. Alves KM, Pessan JP, Brighenti FL, Franco KS, Oliveira FA, Buzalaf MA, et al. In vitro evaluation of the effectiveness of acidic fluoride dentifrices. *Caries Res.* 2007; 41:263-67.
7. Brighenti FL, Delbem AC, Buzalaf MA, Oliveira FA, Ribeiro DB, Sasaki KT . In vitro evaluation of acidified toothpastes with low fluoride content. *Caries Res.* 2006; 40:239-44.
8. Nobre-dos-Santos M, Rodrigues LK, Del-Bel-Cury AA, Cury JA. In situ effect of a dentifrice with low fluoride concentration and low pH on enamel remineralization and fluoride uptake. *J Oral Sci.* 2007; 49:147-54.
9. Olympio KP, Bardal PA, Cardoso VE, Oliveira RC, Bastos JR, Buzalaf MA. Low-fluoride dentifrices with reduced pH: fluoride concentration in whole saliva and bioavailability. *Caries Res.* 2007; 41:365-70.
10. Pessan JP, Silva SM, Lauris JR, Sampaio FC, Whitford GM, Buzalaf MA. Fluoride uptake by plaque from water and from dentifrice. *J Dent Res.* 2008; 87:461-65.
11. Vilhena FV, Silva HM, Peres SH, Caldana Mde L, Buzalaf MA. The drop technique: a method to control the amount of fluoride dentifrice used by young children. *Oral Health Prev Dent.* 2008; 6:61-5.

12. Taves DR. Separation of fluoride by rapid diffusion using hexamethyldisiloxane. *Talanta*. 1968;15:6.
13. Whitford GM. *The metabolism and toxicity of fluoride*. 2nd ed. Basel: Karger; 1996.
14. Buzalaf MA, Vilhena FV, Iano FG, Grizzo L, Pessan JP, Sampaio FC, et al. The effect of different fluoride concentrations and pH of dentifrices on plaque and nail fluoride levels in young children. *Caries Res*. 2009; 43:142-14.
15. Spencer AJ, Do LG. Changing risk factors for fluorosis among South Australian children. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2008; 36(3): 210-18.
16. Wong MCM, Glenny AM, Tsang BWK, Lo ECM, Worthington HV, Marinho VCC. Topical fluoride as a cause of dental fluorosis in children. *Cochrane Database Syst Rev* 1:CD007693.2010.
17. Buzalaf MA, Levy SM. Fluoride intake of children: considerations for dental caries and dental fluorosis. *Monogr Oral Sci*. 2011; 22:1-19.
18. de Almeida BS, da Silva Cardoso VE, Buzalaf MA. Fluoride ingestion from toothpaste and diet in 1- to 3-year-old Brazilian children. *Community Dent Oral Epidemiol*. 2007; 35:53-63.
19. Franzman MR, Levy SM, Warren JJ, Broffitt B. Fluoride dentifrice ingestion and fluorosis of the permanent incisors. *J Am Dent Assoc*. 2006; 137:645-52.
20. Pessan JP, Alves KM, Ramires I, Taga MF, Sampaio FC, Whitford GM, et al. Effects of regular and low-fluoride dentifrices on plaque fluoride. *Jf Dent Res* 2010; 89:1106-10.

CONSIDERAÇÕES GERAIS

Os capítulos 1 e 2 foram construídos a partir dos resultados encontrados sobre o efeito do pH e da concentração de flúor presente em dentifrícios líquidos no controle de cárie em área não fluoretada. No capítulo 1, foi possível sugerir que o dentifrício líquido experimental (550ppmF, pH 4,5), através de uma fórmula inovadora, e o de 550ppmF, pH 7,0 apresentaram o benefício semelhante ao efeito anti-cárie do dentifrício de maior concentração de F, podendo assim contribuir para uma redução no risco de ocorrência de fluorose dentária. No capítulo 2, observou-se que a redução do pH indica tendência de melhorar a incorporação de flúor no biofilme dental, e os níveis de fluoreto no biofilme não diminuíram ao longo do tempo. As observações de ambos os capítulos são importantes porque sugerem o uso de creme dental fluoretado de baixa concentração ácido e neutro na infância de forma segura sem riscos para desenvolvimento de fluorose dentária.

CONCLUSÃO

- Os dentifrícios líquidos acidulado e neutro com baixa concentração de F (550 ppmF- pH 4,5 e pH 7,0) mostraram-se eficazes para o controle da cárie dentária, uma vez que ambos apresentaram resultados semelhantes àqueles encontrados para o dentifrício convencional (1100 ppmF – pH 7,0);
- Os dentifrícios 550 ppmF–pH 7,0 e 550 ppmF- pH 4,5 levaram a uma incorporação significativamente menor de F nas unhas das crianças avaliadas, quando comparados com o dentifrício convencional (1100 ppmF – pH 7,0);
- Níveis de F no biofilme dental não diminuíram ao longo de 1h, sugerindo que o F proveniente do dentifrício líquido ocupou reservatórios mais estáveis, já que não existe F na água;

REFERÊNCIAS¹

- ALVES, K.M. et al. In vitro evaluation of the effectiveness of acidic fluoride dentifrices. **Caries res.**, Basel, v.41,p.263-267, 2007.
- AMMARI, A.B.; BLOCH-ZUPAN, A.; ASHLEY, P.F. 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.**, Basel, v.37,p.85-92, 2003.
- AXELSSON, P. Use of fluorides. In: Axelsson P, editor. Preventive materials, methods and programs. Slovakia: **Quintessence**, p.263-268, 2004.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Coordenação Geral de Saúde Bucal. SB Brasil 2010. Pesquisa Nacional de Saúde Bucal - Resultados Principais. Brasília: Ministério da Saúde, 2011. 92p.
- BRIGHENTI, F.L.; DELBEM, A.C.; BUZALAF, M.A.; OLIVEIRA, F.A.; RIBEIRO, D.B.; SASSAKI, K.T. In vitro evaluation of acidified toothpastes with low fluoride content. **Caries res.**, Basel, v.40,p.239-244, 2006.
- BUZALAF, M.A.; LEVY, S.M. Fluoride intake of children: considerations for dental caries and dental fluorosis. **Monogr Oral sci.**, Basel, v.22,p.1-19, 2011.
- BUZALAF, M.A.; PESSAN, J.P.; ALVES, K.M. Influence of growth rate and length on fluoride detection in human nails. **Caries res.**, Basel, v.40, n.3,p.231-238, 2006.
- BUZALAF, M.A. et al. The effect of different fluoride concentrations and pH of dentifrices on plaque and nail fluoride levels in young children. **Caries res.**, Basel, v.43,p.142-146, 2009.
- BUZALAF, M.A.R.; VILHENA, F.V.; IANO, F.G.; PESSAN, J.P. Influence of dentifrice pH on plaque and nails fluoride concentrations. **J. dent. res.**, Washington, 87 (Spec Iss B): Abs 1584, 2008.

¹ Trabalho de acordo com as normas do Programa Integrado de Doutorado em Odontologia UFPB/UFBA e de documentação da Associação Brasileira de Normas Técnicas

NBR 6023: Informação e documentação – referências – elaboração 2002;

NBR 6024: Informação e documentação – numeração progressiva das seções de um documento escrito – apresentação 2003;

NBR 6027: Informação e documentação – sumário – Apresentação 2003;

NBR 6028: Informação e documentação – resumos – Apresentação 2003;

NBR 10520: Informação e documentação – citação em documentos – Apresentação 2002;

NBR 14724: Informação e documentação – trabalhos acadêmicos – Apresentação 2011.

CLARKSON, J.J.; MCLOUGHLIN, J. Role of fluoride in oral health promotion. **Int. dent. j.**, London, v.50,p.119-128, 2000.

DAVIES, R.M.; DAVIES, G.M.; ELLWOOD, R.P.; KAY, E.J. Prevention. Part 4: What advice should be given to patients? **Br. dent. J.**, London, v.195,p.135-141, 2003.

de ALMEIDA, B.S.; DA SILVA CARDOSO, V.E.; BUZALAF, M.A. Fluoride ingestion from toothpaste and diet in 1- to 3-year-old Brazilian children. **Community dent. oral epidemiol.**, Copenhagen, v.35, n.1,p.53-63, 2007.

DELBEM, A.C.; BERGAMASCHI, M.; RODRIGUES, E.; SASSAKI, K.T.; VIEIRA, A.E.; MISSEL, E.M. Anticaries effect of dentifrices with calcium citrate and sodium trimetaphosphate. **J. appl. oral sci.**, Bauru, v.20, n.1,p.94-98, 2012.

DO, L.G.; SPENCER, A.J. Risk-benefite balance in the use of fluoride among young Children . **J. dent. res.**, Washington, v.86, n.8,p.723-728, 2007.

FOMON, S.J.; EKSTRAND, J.; ZIEGLER, E.E. Fluoride intake and prevalence of dental fluorosis: trends in fluoride intake with special attention to infants. **J. public health dent.**, Raleigh, v.60, n.3,p.131-139, 2000.

LIMA, T.J.; RIBEIRO, C.C.; TENUTA, L.M.; CURY, J.A. Low-fluoride dentifrice and caries lesion control in children with different caries experience: A randomized clinical trial. **Caries res.**, Basel, v.42,p.46-50, 2008.

LIMA, Y.B.; CURY, J.A. Fluoride intake by children from water and dentifrice. **Rev. Saude Publica**, São Paulo, v.35,p.576-581, 2001.

MARINHO, V.C.C.; HIGGINS, J.P.T.; LOGAN, S.; SHEIHAM, A. Fluoride toothpastes for preventing dental caries in children and adolescents (Cochrane Review). In: The Cochrane Library, Issue 1, Oxford:Update Software, 2006.

MARINHO, V.C. Cochrane reviews of randomized trials of fluoride therapies for preventing dental caries. **Eur. Arch. Paediatr. Dent.**, Leeds, v.10,n.3,p.183-191, 2009.

MASCARENHAS, A.K. Risk factors for dental fluorosis: a review of the recent literature. **Pediatr. dent.**, Chicago, v.22, n.4,p.269-277, 2000.

MORAES, S.M.; PESSAN, J.P.; RAMIRES, I.; BUZALAF, M.A.R. Fluoride intake from regular and low fluoride dentifrices by 2-3-year-old children: influence of dentifrice flavor. **Braz. oral res.**, São Paulo, v.21, n.3,p.234-240, 2007.

NOBRE-DOS-SANTOS, M.; RODRIGUES, L.K.; DEL-BEL-CURY, A.A.; CURY, J.A. In situ effect of a dentifrice with low fluoride concentration and low pH on enamel remineralization and fluoride uptake. **J. oral sci.**, Tokyo, v.49,p.147-154, 2007.

NYVAD, B.; MACHIULSKIENE, V.; BAELUM, V. Reliability of a New Caries Diagnostic System Differentiating between Active and Inactive Caries Lesions. **Caries res.**, Basel, v.33, n.4,p. 252-260, 1999.

OLYMPIO, K.P.; BARDAL, P.A.; CARDOSO, V.E.; OLIVEIRA, R.C.; BASTOS, J.R.; BUZALAF, M.A. Low-fluoride dentifrices with reduced pH: fluoride concentration in whole saliva and bioavailability. **Caries res.**, Basel, v.41, n.5,p.365-370, 2007.

PESSAN, J.P.; SILVA, S.M.; LAURIS, J.R.; SAMPAIO, F.C.; WHITFORD, G.M.; BUZALAF, M.A. Fluoride uptake by plaque from water and from dentifrice. **J. dent. res.**, Washington, v.87,p.461-465, 2008.

RIBEIRO A.A. Relatório do Workshop de calibração para o índice Nyvad. Nova Friburgo. Jun de 2012. NP

SILVA, M.F. et al. The enhanced anticaries efficacy of a sodium fluoride and dicalcium phosphate dihydrate dentifrice in a dual-chambered tube. A 2-year caries clinical study on children in Brazil. **Am. j. dent.**, San Antonio, v.14,n.19A-23A, 2001.

TAVES, D.R. Separation of fluoride by rapid diffusion using hexamethyldisiloxane. **Talanta.** v.15,p.6,1968.

TWETMAN, S. Caries prevention with fluoride toothpaste in children: an update. **Eur. Arch. Paediatr. Dent.**, Leeds, v.10, n.3,p.162-167, 2009.

VILHENA, F.V.; OLYMPIO, K.P.; LAURIS, J.R.; DELBEM, A.C.; BUZALAF, M.A. Low-fluoride acidic dentifrice: a randomized clinical trial in a fluoridated area. **Caries res.**, Basel, v.44, n.5,p.478-484, 2010.

VILHENA, F.V.; SILVA, H.M.; PERES, S.H.; CALDANA, M.D.E.L.; BUZALAF, M.A. The drop technique: A method to control the amount of fluoride dentifrice used by young children. **Oral health prev. dent.**, New Malden, v.6,p.61-65, 2008.

VILHENA, R.S. An investigation of the transverse technique of dentifrice application to reduce the amount of fluoride dentifrice for young children. **Pediatr. dent.**, Chicago, v.22, p.312-317, 2000.

WHITFORD, G.M. The metabolism and toxicity of fluoride, ed 2nd. Basel, Karger, 1996.

APÊNDICE A- Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

PROGRAMA INTEGRADO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Estamos solicitando a participação de seu filho no projeto “**Efeito do pH, da consistência e da concentração de flúor presente em dentifrícios líquidos no controle de cárie em áreas fluoretada e não fluoretada: estudos clínicos randomizados**”. Esperamos com este estudo estabelecer um protocolo de uso correto de pastas de dente, procurando minimizar o risco de fluorose dentária e maximizar o efeito anti-cárie dos mesmos, beneficiando assim a população infantil. Como benefício direto aos participantes, tem-se o fornecimento de dentifrício e escova dentária para toda a família durante o período de estudo. Os riscos contidos no presente estudo são mínimos, visto que existirá um monitoramento constante dos pesquisadores envolvidos, e também a supervisão de adultos em relação à população alvo. Seu filho deverá escovar os dentes 3 vezes ao dia com o dentifrício que será distribuído por nós durante 1 ano. Além da pasta de dente, o participante e toda a família receberão também escovas dentais para a prática da escovação dentária. O material distribuído para toda a família **não terá nenhum custo**. O participante não poderá em hipótese alguma escovar os dentes com outra pasta de dente, a não ser com a pasta de dentes recebida. Durante o período do projeto serão realizados 3 exames de cárie dentária para que dessa forma possamos avaliar a progressão da cárie em seu filho. Este exame não é invasivo (não usa nenhum aparelho que possa machucar a criança), é indolor e será realizado na escola. A participação neste projeto como citado anteriormente será totalmente gratuita e caso seja diagnosticado algum problema de saúde bucal, será encaminhado ao serviço de saúde bucal.

Caso necessite de maiores informações sobre o presente estudo, favor ligar para a pesquisadora Dayane Manguieira (Tel.: (83) 99671543/dayanemanguieira@gmail.com) ou entrar em contato com Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Lauro Wanderley, 4º andar Campus I UFPB, Cidade Universitária, CEP: 58059900, Tel.: (83) 2167302.

.....

Pelo presente instrumento que atende às exigências legais, o Sr. (a) _____, responsável pelo aluno _____ após leitura minuciosa da **CARTA DE INFORMAÇÃO AO SUJEITO DA PESQUISA**, devidamente explicada pelos profissionais em seus mínimos detalhes, ciente dos serviços e procedimentos aos quais será submetido, não restando quaisquer dúvidas a respeito do lido e explicado, firma seu **CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO** concordando em participar do projeto de pesquisa proposta.

Fica claro que o sujeito da pesquisa ou seu representante legal, pode a qualquer momento retirar seu **CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO** e deixar de participar desta pesquisa e ciente de que todas as informações prestadas tornaram-se confidenciais e guardadas por força de sigilo profissional (Art. 9º do Código de Ética Odontológica).

Por estarem de acordo assinam o presente termo.

_____, _____ de _____ de 20__.

POLEGAR
DIREITO

Assinatura do responsável do
Sujeito da Pesquisa

Assinatura do pesquisador

APÊNDICE B- Folheto sobre cuidados de higiene oral

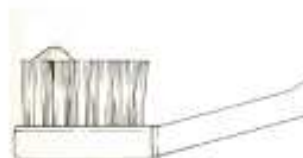
Maria Luiza

Mat II I Abigail Vieira azul

Senhores Pais,

Peço à gentileza que leiam atentamente e sigam estas orientações no uso deste material para escovação dos dentes.

1. Este material deverá ser usado por toda a família;
2. Não utilizar outra pasta de dente diferente desta fornecida pela pesquisa;
3. Escove os dentes 2 a 3 vezes ao dia (Crianças e Adultos);
4. Utilize uma pequena quantidade para a escovação dos dentes das crianças (1 gota).



***Qualquer dúvida ou caso seu filho(a) mude de escola ou de endereço, favor avisar nos fones (83) 99671543/3226-1232 (83) 99821111.**

Dra. Dayane Mangueira e Dr. Fábio Sampaio

APÊNDICE C- Questionário após 6 meses

1. Quantas vezes por dia a criança tem escovado os dentes desde a entrega das pastas de dente? Se algum dia houve mudança na frequência de escovação, explique.

R.: _____

2. Desde o início do tratamento, a criança esqueceu e usou outra pasta de dentes diferente da recomendada? Quantas vezes isto aconteceu?

R.: _____

3. Você percebeu se a criança está tendo alguma dificuldade em seguir as orientações do tratamento? Se a resposta for sim, qual (is)?

R.: _____

4. Após o início do tratamento, você percebeu alguma mudança na boca da criança? Se a resposta for sim, qual (is)?

R.: _____

Nome da mãe:

Nome da criança:

Turma:

APÊNDICE D- Questionário ao final do estudo

QUESTIONÁRIO DE ACOMPANHAMENTO**Srs Pais,**

Este questionário é referente à pesquisa concluída em julho, em que seu filho utilizou a pasta de dentes fornecida por nós. Assim como o outro questionário entregue aos 6 meses de uso da pasta de dentes, a sua informação ao final do estudo é muito importante para nós! Por favor, seja sincero, responda e entregue na secretaria da escola. Obrigada.

1. Nos últimos meses da pesquisa, quantas vezes por dia a criança escovou os dentes? Se houve alguma mudança neste período, explique.

R.: _____

2. Nos últimos 6 meses do tratamento, a criança usou outra pasta de dentes diferente da recomendada? Quantas vezes isto aconteceu?

R.: _____

3. Você percebeu se a criança teve alguma dificuldade em seguir as orientações do tratamento? Se a resposta for sim, qual (is)?

R.: _____

4. Até o final do tratamento, você percebeu alguma mudança na boca da criança? Se a resposta for sim, qual (is)?

R.: _____

Creche:**Nome da mãe:****Nome da criança:****Turma:**

APÊNDICE F- Ficha utilizada para os exames clínicos

Exame N°

Projeto de Pesquisa Doutorado ♦ Bauru 2010 - 2011

Nome:

Sala:

Período:

NUM FICHA	SEXO	ETNIA	ESCOLA	REGIAO	DATA
<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

Condição de Saúde Bucal

Arco Superior

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Arco Inferior

<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	.	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

APÊNDICE G- Carta de informação sobre coleta das unhas

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Solicitamos a participação de seu filho no projeto “**Análise de concentração de flúor nas unhas de crianças expostas a diferentes tipos de dentifrício**”. **O projeto é simples**, a coleta das amostras não é invasiva e não trará risco algum ao seu filho. Como benefício pela participação, sua família está recebendo escova e creme dental. Serão coletadas unhas dos dedos maiores dos pés em duas datas distintas, separadas por um intervalo entre 15 e 30 dias. Previamente à coleta você será instruído **a não cortar as unhas de seu filho por 15 dias**. Depois de cortadas, as unhas deverão ser colocadas nos tubinhos plásticos que acompanham esta carta. Depois de cortadas e colocadas nos tubinhos, entregar na secretaria da escola. Novamente será entregue mais 1 tubinho e deverá esperar mais 15 dias sem cortar as unhas para depois cortá-las e entregá-las na secretaria da escola. Lembramos que você não terá gasto algum com a participação de seu filho nesta pesquisa que é uma extensão da pesquisa que seu filho já participa.

Caso necessite de maiores informações sobre o presente estudo, favor ligar para a pesquisadora Dayane Manguiera (Tel.: (83) [99671543/dayanemanguiera@gmail.com](tel:558399671543)) ou entrar em contato com Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Lauro Wanderley, 4º andar Campus I UFPB, Cidade Universitária, CEP: 58059900, Tel.: (83) 2167302.

.....

Pelo presente instrumento que atende às exigências legais, o Sr. (a) _____, após leitura minuciosa da **Termo do Consentimento Livre Esclarecido** devidamente explicada pelos profissionais em seus mínimos detalhes, ciente dos serviços e procedimentos aos quais será submetido, não restando quaisquer dúvidas a respeito do lido e explicado, firma seu **CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO** concordando em participar do projeto de pesquisa proposta.

Fica claro que o sujeito da pesquisa ou seu representante legal, pode a qualquer momento retirar seu **CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO** e deixar de participar desta pesquisa e ciente de que todas as informações prestadas tornaram-se confidenciais e guardadas por força de sigilo profissional (Art. 9º do Código de Ética Odontológica ou Art. 29º do Código de Ética do Fonoaudiólogo).

Por estarem de acordo assinam o presente termo.

_____, _____ de _____ de 2011

Assinatura do responsável do
Sujeito da Pesquisa


Assinatura do pesquisador

POLEGAR DIREITO

Nome da Criança: _____

Turma: _____

ANEXO A- Aprovação do Comitê de Ética da Faculdade de Odontologia de Bauru/USP



Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Bauru
Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla, 9-75 – Bauru-SP – CEP 17012-901 – C.P. 73
PABX (0XX14)3235-8000 – FAX (0XX14)3223-4679

Comitê de Ética em Pesquisa (14)3235-8356
e-mail: mferrari@fob.usp.br

Processo nº 016/2009

Bauru, 4 de março de 2009.

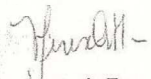
Senhora Professora,

O projeto de pesquisa encaminhado a este Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos, denominado "Efeito do pH, da consistência e da concentração de flúor presente em dentifrícios líquidos no controle de cárie em áreas fluoretadas e não fluoretadas: estudos clínicos randomizados", de autoria de Fabiano Vieira Vilhena, que será desenvolvido sob sua orientação, foi enviado ao relator para avaliação.

Na reunião de 18 de fevereiro de 2009 o parecer do relator, aprovando o projeto, foi aceito pelo Comitê, considerando que não existem infrações éticas pendentes.

Informamos que após o envio do trabalho concluído, este Comitê enviará o parecer final, que será utilizado para publicação do trabalho.

Atenciosamente,


Profª Drª Maria Teresa Atta
Coordenadora

Profª Drª Marília Afonso Rabelo Buzalaf
Docente do Departamento de Ciências Biológicas



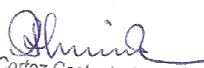
UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAIBA - UFPB
HOSPITAL UNIVERSITÁRIO LAURO WANDERLEY - HULW
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA COM SERES HUMANOS

CERTIDÃO

Com base na Resolução nº 196/96 do CNS/MS que regulamenta a ética da pesquisa em seres humanos, o Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Universitário Lauro Wanderley da Universidade Federal da Paraíba, em sua sessão realizada no dia 31/08/10, após análise do parecer do relator, resolveu **RATIFICAR A APROVAÇÃO** do CEP/BAURU-SP, do projeto de pesquisa multicêntrico, Grupo I, intitulado **EFEITO DO PH, DA CONSISTÊNCIA E DA CONCENTRAÇÃO DE FLÚOR PRESENTE EM DENTRIFÍCIOS LÍQUIDOS NO CONTROLE DE CÁRIE EM ÁREAS FLUORETADA E NÃO FLUORETADA: estudos clínicos randomizados**, sob o nº. 016/2009, da pesquisadora responsável **DAYANE FRANCO BARROS MANGUEIRA**, considerando que permanece inalterado do protocolo de pesquisa original. Protocolo CEP/HULW Nº. 439/10, FOLHA DE ROSTO: 361747 - CAAE: 0360.1.126.224-10 - data de recebimento: 11 de agosto de 2010.

Solicitamos enviar ao CEP/HULW uma cópia em CD da pesquisa concluída.

João Pessoa, 01 de setembro de 2010.


Iaponira Cortez Costa de Oliveira
Coordenadora do Comitê de Ética
em Pesquisa - CEP/HULW

Prof Dr^a Iaponira Cortez Costa de Oliveira
Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa-HULW

Endereço: Hospital Universitário Lauro Wanderley-HULW - 4º andar. Campus I - Cidade Universitária.
Bairro: Castelo Branco - João Pessoa - PB. CEP: 58051-900 CNPJ: 24098477/007-05
Fone: (83) 32167302 - Fone/fax: (083)32167522 E-mail - cepulw@hotmail.com

ANEXO C- Autorização da Secretaria de Educação de Belém



**ESTADO DA PARAÍBA
PREFEITURA MUNICIPAL DE BELÉM
SECRETARIA DE SAÚDE BELÉM**

Ofício Nº 171

Belém 10 de Agosto de 2010

Venho por meio desta autorizar **Dayane Franco Barros Manguiera**, doutoranda do Programa Integrado de Pós-Graduação em Odontologia, pela Universidade Federal da Paraíba (UFPB), a realizar a pesquisa intitulada **“Efeito do pH, consistência e da concentração de flúor presente em dentifrícios líquidos no controle de cárie em área fluoretada e não fluoretada: estudos clínicos randomizados”**, que está sob orientação do Prof. Dr. Fábio Correia Sampaio e co-orientação da Prof^a. Dr^a. Marília Afonso Buzalaf.

LUZIA MACÊDO CAVALCANTE OLIVEIRA
SECRETÁRIA MUNICIPAL DE SAÚDE

Luzia C. Macêdo Oliveira
Sec. de Saúde Belém - PB
CPF: 640.145.254-49

Pirpirituba



ESTADO DA PARAIBA
PREFEITURA MUNICIPAL DE PIRIPITUBA
SECRETARIA MUNICIPAL DE EDUCAÇÃO E ESPORTE

Ofício nº 024/2010

Pirpirituba, 01 de Setembro de 2010.

Venho por meio deste autorizar **Dayane Franco Barros Mangueira**, doutoranda do Programa Integrado de Pós-Graduação em Odontologia, pela Universidade Federal da Paraíba (UFPB), a realizar a pesquisa intitulada “**Efeito do pH, consistência e da concentração de flúor presente em dentifrícios líquidos no controle de cárie em área fluoretada e não fluoretada: estudos clínicos randomizados**”, que esta sob orientação do Prof. Dr. Fábio Correia Sampaio e co-orientação da Prof^a. Dr^a. Marília Afonso Buzalaf.

MARIA VERÔNICA COSTA SILVA
Secretária de Educação

Maria Verônica Costa Silva
MATRICULA 01000515
SECRETARIA DE EDUCAÇÃO

Guarabira



ESTADO DA PARAÍBA
PREFEITURA DE GUARABIRA
Secretaria Municipal de Educação

OFÍCIO Nº. 178/SME/2010

Guarabira, 01 de setembro de 2010.

Sr^a. Elim dos Santos
Gestora da Creche Municipal Luzia Paulino
NESTA

Sr^a. Gestora Escolar

Venho por meio deste autorizar **Dayane Franco Barros Manguiera**, doutoranda do Programa Integrado de Pós-Graduação em Odontologia, pela Universidade Federal da Paraíba (UFPB), a realizar a pesquisa intitulada “**Efeito do pH, consistência e da concentração de flúor presente em dentifrícios líquidos no controle de cárie em área fluoretada e não fluoretada: estudos clínicos randomizados**”, que está sob orientação do Prof. Dr. Fábio Correia Sampaio e co-orientação da Prof^a. Dr^a. Marília Afonso Buzalaf.

Atenciosamente,

Michelline P. Pereira
Secretária de Educação

Michelline Paulino Pereira
SECRETÁRIA DE EDUCAÇÃO
MAT 02270-1

ANEXO F - Consort


CONSORT 2010 checklist of information to include when reporting a randomised trial*

Section/Topic	Item No	Checklist item	Reported on page No
Title and abstract			
	1a	Identification as a randomised trial in the title	1
	1b	Structured summary of trial design, methods, results, and conclusions (for specific guidance see CONSORT for abstracts)	2
Introduction			
Background and objectives			
	2a	Scientific background and explanation of rationale	3
	2b	Specific objectives or hypotheses	3
Methods			
Trial design			
	3a	Description of trial design (such as parallel, factorial) including allocation ratio	4
	3b	Important changes to methods after trial commencement (such as eligibility criteria), with reasons	-
Participants			
	4a	Eligibility criteria for participants	4
	4b	Settings and locations where the data were collected	4
Interventions			
	5	The interventions for each group with sufficient details to allow replication, including how and when they were actually administered	5
Outcomes			
	6a	Completely defined pre-specified primary and secondary outcome measures, including how and when they were assessed	7, 13, 14
	6b	Any changes to trial outcomes after the trial commenced, with reasons	-
Sample size			
	7a	How sample size was determined	4
	7b	When applicable, explanation of any interim analyses and stopping guidelines	-
Randomisation:			
Sequence generation			
	8a	Method used to generate the random allocation sequence	4
	8b	Type of randomisation; details of any restriction (such as blocking and block size)	4
Allocation concealment mechanism			
	9	Mechanism used to implement the random allocation sequence (such as sequentially numbered containers), describing any steps taken to conceal the sequence until interventions were assigned	4
Implementation			
	10	Who generated the random allocation sequence, who enrolled participants, and who assigned participants to interventions	4
Blinding			
	11a	If done, who was blinded after assignment to interventions (for example, participants, care providers, those	5

		assessing outcomes) and how	
Statistical methods	11b	If relevant, description of the similarity of interventions	-
	12a	Statistical methods used to compare groups for primary and secondary outcomes	6
	12b	Methods for additional analyses, such as subgroup analyses and adjusted analyses	-
Results			
Participant flow (a diagram is strongly recommended)	13a	For each group, the numbers of participants who were randomly assigned, received intended treatment, and were analysed for the primary outcome	15
	13b	For each group, losses and exclusions after randomisation, together with reasons	15
Recruitment	14a	Dates defining the periods of recruitment and follow-up	-
	14b	Why the trial ended or was stopped	-
Baseline data	15	A table showing baseline demographic and clinical characteristics for each group	15
Numbers analysed	16	For each group, number of participants (denominator) included in each analysis and whether the analysis was by original assigned groups	15
	17a	For each primary and secondary outcome, results for each group, and the estimated effect size and its precision (such as 95% confidence interval)	13-14
Ancillary analyses	17b	For binary outcomes, presentation of both absolute and relative effect sizes is recommended	-
	18	Results of any other analyses performed, including subgroup analyses and adjusted analyses, distinguishing pre-specified from exploratory	-
Harms	19	All important harms or unintended effects in each group (for specific guidance see CONSORT for harms)	-
Discussion			
Limitations	20	Trial limitations, addressing sources of potential bias, imprecision, and, if relevant, multiplicity of analyses	8-9
Generalisability	21	Generalisability (external validity, applicability) of the trial findings	8-9
Interpretation	22	Interpretation consistent with results, balancing benefits and harms, and considering other relevant evidence	8-9
Other information			
Registration	23	Registration number and name of trial registry	10
Protocol	24	Where the full trial protocol can be accessed, if available	10
Funding	25	Sources of funding and other support (such as supply of drugs), role of funders	-

*We strongly recommend reading this statement in conjunction with the CONSORT 2010 Explanation and Elaboration for important clarifications on all the items. If relevant, we also recommend reading CONSORT extensions for cluster randomised trials, non-inferiority and equivalence trials, non-pharmacological treatments, herbal interventions, and pragmatic trials. Additional extensions are forthcoming; for those and for up to date references relevant to this checklist, see www.consort-statement.org.

ClinicalTrials.gov

Protocol Registration System



Protocol Registration Receipt
06/15/2012

Evaluation of a Low Fluoride Dentifrice for Caries Control

This study has been completed.

Sponsor:	Federal University of Paraíba
Collaborators:	
Information provided by (Responsible Party):	Fabio Correia Sampaio, Federal University of Paraíba
ClinicalTrials.gov Identifier:	NCT01623362

► Purpose

The aim of this randomized clinical trial is to evaluate the effect of pH and fluoride concentration in liquid dentifrices in the control of dental caries in early childhood, in non-fluoridated area. This study also aims to assess the effect of the consistency of liquid dentifrices in the fluoride uptake in the plaque and the fluoride concentration in the toenails, to estimate the fluoride intake from these formulations.

Condition	Intervention	Phase
Dental Caries	Low-fluoride acidic dentifrice conventional dentifrice neutral pH and low-fluoride dentifrice	Phase 3

Study Type: Interventional

Study Design: Prevention, Parallel Assignment, Double Blind (Subject, Caregiver, Investigator), Randomized, Safety/Efficacy Study

Official Title: Low-fluoride Acidic Liquid Dentifrice in Non-fluoridated Communities: a Randomized Clinical Trial

Further study details as provided by Fabio Correia Sampaio, Federal University of Paraíba:

Primary Outcome Measure:

- Evaluation of the concentration of fluoride incorporated into the biofilm and nails 6 months after initiation of dentifrices use in non-fluoridated communities [Time Frame: 6 months] [Designated as safety issue: Yes]
Samples of plaque and nails were analysed for fluoride using an ion-specific electrode after diffusion with hexamethyldisiloxane-facilitated (HMDS)

Secondary Outcome Measures:

- New caries diagnostic criteria: caries progression/regression in caries-active children and caries progression in caries-inactive children after 12 months according to the type of dentifrice used in non-fluoridated communities [Time Frame: 12 months] [Designated as safety issue: Yes]

The caries progression/regression of active noncavitated and progression of inactive noncavitated was evaluated by the date from the examinations at baseline and after 12 months using Nyvad, Machiulskienc, Baelum, 1999: Score 0: Sound/ Score 1: Active caries (intact surface)/Score 2: Active caries (surface discontinuity)/Score 3: Active caries (cavity)/Score 4: Inactive caries(intact surface) /Score 5: Inactive caries (surface discontinuity) /Score 6: Inactive caries(cavity)/Score 7: Filling (sound surface)/Score 8: Filling + active caries/Score 9: Filling + inactive caries

Enrollment: 212

Study Start Date: September 2010

Study Completion Date: February 2012

Primary Completion Date: July 2011

Arms	Assigned Interventions
Experimental: Low-fluoride acidic dentifrice	Low-fluoride acidic dentifrice 550 ppm (mg/L) of sodium fluoride in pH 4,5; 12 months , 3 times a day. Other Names: G1
No Intervention: Conventional dentifrice 1100µgF/g-pH7.0	conventional dentifrice 1100 ppm (mg/L) of sodium fluoride, pH 7 , 3 times a day for 12 months Other Names: G2
Experimental: neutral pH and low-fluoride dentifrice 550 ppm pH 7	neutral pH and low-fluoride dentifrice 500 ppm sodium fluoride, pH 7 , 3 times a day for 12 months Other Names: G3

The study was carried out with schoolchildren living in a non-fluoridated area, with (A) or without (I) active caries lesions, were randomly allocated into 3 groups according to the LD used over 12 months: Group 1 (n=39-A/38-I):

550µgF/g-pH4.5, Group 2 (n=33-A/35-I) 1100µgF/g-pH7.0, Group 3 (n=33-A/34-I): 550µgF/g-pH7.0.

▶ Eligibility

Ages Eligible for Study: 2 Years to 4 Years

Genders Eligible for Study: Both

Accepts healthy volunteers.

Inclusion Criteria:

- Age 2 to 4 years;
- Not having participated in any other clinical study within 3 months prior to selection;
- Not having very large carious lesions or dentin sensitivity during the study;
- Signature of informed consent by the parents.

Exclusion Criteria:

- Using orthodontic appliances

▶ Contacts and Locations

Locations

Brazil

Paraíba Federal University

João Pessoa, Paraíba, Brazil

Investigators

Principal Investigator: Fábio Sampaio, PhD

Paraíba Federal University

▶ More Information

Responsible Party: Fabio Correia Sampaio, PhD, Federal University of Paraíba

Study ID Numbers: LOWF-UFPB

Health Authority: Brazil: Ethics Committee



[Main Menu](#) → [Author Dashboard](#) → Submission Confirmation

You are logged in as Dayane Mangueira

Submission Confirmation

Thank you for submitting your manuscript to *Pediatric Dentistry*.

Manuscript ID: PediaD-2012-09-2388

Title: Low-fluoride liquid dentifrice in low-fluoridated communities: a randomized clinical trial

Authors: Mangueira, Dayane
Cardoso, Cristiane
Vilhena, Fabiano
Buzalaf, Marilia
Jardim, Maria
Sampaio, Fábio

Date Submitted: 09-Sep-2012

Print Return to Dashboard

ScholarOne Manuscripts™ v4.9.0 (patent #7,257,767 and #7,263,655). © ScholarOne, Inc., 2012. All Rights Reserved.
ScholarOne Manuscripts is a trademark of ScholarOne, Inc. ScholarOne is a registered trademark of ScholarOne, Inc.

Follow ScholarOne on Twitter

[Terms and Conditions of Use](#) - [ScholarOne Privacy Policy](#) - [Get Help Now](#)

24/07/12

Active Submissions



**JOURNAL OF
APPLIED
ORAL SCIENCE**

[HOME](#) [ABOUT](#) [USER HOME](#) [ARCHIVES](#)

Home > User > Author > **Active Submissions**

Active Submissions

ACTIVE		ARCHIVE				
ID	MM-DD SUBMIT	SEC	AUTHORS	TITLE	STATUS	
JAOS-2544	07-24	GEN	Mangueira, Cardoso, Vilhena, Buzalaf,...	FLUORIDE CONCENTRATIONS AND PH OF LIQUID DENTIFRICES ON...	IN REVIEW	

1 - 1 of 1 Items

Start a New Submission
[CLICK HERE](#) to go to step one of the five-step submission process.

USER

You are logged in as...
dayanemangueira
[My Journals](#)
[My Profile](#)
[Log Out](#)

AUTHOR

Submissions
[Active \(1\)](#)
[Archive \(0\)](#)
[New Submission](#)

LANGUAGE

English

Please do not submit your manuscript before checking the new guidelines for submission. [Click here to access the new rules.](#)

©2012

Faculdade de Odontologia de Bauru - USP
 Serviço de Biblioteca e Documentação FOB-USP
 Al. Dr. Octávio Pinheiro Brisolla 9-75
 17012-901 Bauru SP Brasil
 Tel.: (14) 3235-8373

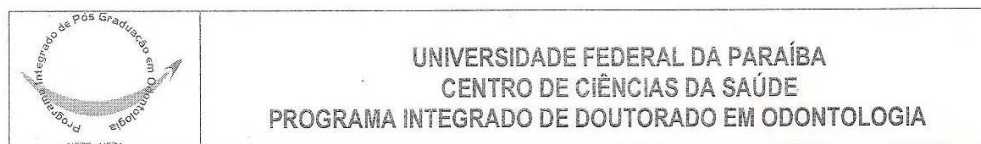
Warning for international contributors:

The Journal of Applied Oral Science kindly asks the non-Brazilian contributors who are interested in having any kind of information regarding their submissions to directly contact Dr. Carlos F. Santos, the Editor-in-Chief, through the journal's e-mail address (jaos@usp.br) or phone (+55 14 91131833).



jaos@usp.br

ANEXO J – Suplemento financeiro pela maior produção acadêmica (2010-2012)

DECLARAÇÃO

Declaramos para fins de comprovação curricular que a Doutoranda **DAYANE FRANCO BARROS MANGUEIRA LEITE** foi contemplada com suplemento financeiro de apoio a projeto de pesquisa em função de ter sido eleita a doutoranda com maior produção acadêmica no período 2010 -2012.

Maria Sueli Marques Soares
Prof.ª Maria Sueli Marques Soares
Coordenadora Geral do Programa Integrado de
Pós-Graduação em Odontologia UFPB/UFPA
Matrícula SIAPE: 10090114

João Pessoa, 24 de julho de 2012.