

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO – NÍVEL MESTRADO  
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO CLÍNICA ODONTOLÓGICA  
CARIOLOGIA/DENTÍSTICA**

Linha de Pesquisa  
Biomateriais e Técnicas Terapêuticas em Odontologia

**CONCENTRAÇÃO DE FLÚOR NO BIOFILME DENTAL DE INDIVÍDUOS EXPOSTOS A DIFERENTES  
FONTES DE FLÚOR DE BASE COMUNITÁRIA**

**Bruna Mua  
Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Marisa Maltz**

Porto Alegre, outubro de 2013.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE ODONTOLOGIA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO – NÍVEL MESTRADO  
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO CLÍNICA ODONTOLÓGICA  
CARIOLOGIA/DENTÍSTICA**

Linha de Pesquisa

Biomateriais e Técnicas Terapêuticas em Odontologia

**CONCENTRAÇÃO DE FLÚOR NO BIOFILME DENTAL DE INDIVÍDUOS EXPOSTOS A DIFERENTES  
FONTES DE FLÚOR DE BASE COMUNITÁRIA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia como parte dos requisitos obrigatórios para obtenção do título de Mestre em Clínica Odontológica com ênfase em Cariologia/Dentística.

**Bruna Mua**

**Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Marisa Maltz**

Porto Alegre, outubro de 2013.

### CIP - Catalogação na Publicação

Mua, Bruna

CONCENTRAÇÃO DE FLÚOR NO BIOFILME DENTAL DE  
INDIVÍDUOS EXPOSTOS A DIFERENTES FONTES DE FLÚOR DE  
BASE COMUNITÁRIA / Bruna Mua. -- 2013.

74 f.

Orientadora: Marisa Maltz.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do  
Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia,  
Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Porto  
Alegre, BR-RS, 2013.

1. flúor. 2. dentifricio fluoretado. 3. placa  
dental. 4. água potável. 5. sal de cozinha. I.  
Maltz, Marisa , orient. II. Título.

*O êxito da vida não se mede pelo caminho que você conquistou, mas  
sim pelas dificuldades que superou no caminho.*

Abraham Lincoln

## *Dedicatória*

---

Aos meus pais, Cíntia e Giuseppe, por me incentivarem e por não me permitirem desistir. Por compreenderem a minha ausência, mesmo quando presente. Pela confiança e torcida permanente. Por serem meus exemplos de garra, coragem, caráter e honestidade.

Ao meu namorado, Francisco, pelo respeito, apoio, amor e compreensão. Por me fazer sorrir, mesmo nos momentos estressantes. Pelo grande companheirismo nas idas e vindas à Nova Hartz, como voluntário da pesquisa, na noite sem fim das análises de flúor e em todos os outros momentos.

Amo muito vocês!

## *Agradecimentos*

---

À professora Dr<sup>a</sup> Marisa Maltz, pela oportunidade, confiança e ensinamentos. Por me aceitar como sua aluna, mesmo sem que eu pudesse estar tão presente quanto gostaríamos. Professora, eu não poderia finalizar esta etapa sem lhe dizer o quanto me sinto honrada por estar sendo lapidada pelas suas mãos.

À professora Dr<sup>a</sup> Juliana Jobim Jardim, por todo apoio, companheirismo, sinceridade, incentivo, estímulo, disponibilidade e amizade. A sua competência e perspicácia tornaram esta jornada muito mais fácil e produtiva.

À professora Dr<sup>a</sup> Lina Naomi Hashizume, pelos ensinamentos bioquímicos, paciência e dedicação.

Ao professor Dr. Rodrigo Alex Arthur, pelas contribuições, ensinamentos e apoio. Pela humildade ao ensinar e ao aprender.

À professora Dr<sup>a</sup> Berenice Barbachan e Silva por ter me iniciado no mundo científico. Por ter me possibilitado vivenciar o prazer da descoberta que a pesquisa científica proporciona. Bere, hoje estou concluindo esta fase, porque você confiou e abriu as portas desse universo para mim.

À técnica de laboratório e amiga Luisa Mercado por ser o ombro de todas as horas e meu porto seguro no laboratório. Lu, voltar ao LABIM me deu um grande presente que espero levar para toda a vida: a nossa amizade.

Às colegas de mestrado Licet Alvarez Loureiro e Anunziatta Odila Fabruccini Fager, pelo empenho e coleguismo. Com certeza nossos trabalhos renderão grandes frutos.

Aos demais colegas e amigos do Programa de Pós-Graduação, “Labinianos” queridos, Carolina Doege Brusius, Nailê Damé Teixeira, Maurício dos Santos Moura, Maurício José Santos Moreira e Luana Severo Alves, pelos momentos compartilhados, pelas ajudas científicas, pelos congressos maravilhosos, pelo apoio e palavras de incentivo quando tudo parecia perdido, e por todos os outros momentos vividos.

Aos Alunos de Graduação Emília Hagemann, Fernando Bockmann e Míriam Doege Simoneti pelo auxílio e dedicação.

Às professoras Dr<sup>a</sup> Clarissa Fatturi Parolo e Dr<sup>a</sup> Sandra Liana Henz pelo ótimo convívio e amizade.

Aos voluntários por terem participado deste estudo com empenho e dedicação. Sem vocês, nada disso teria sido possível.

À todos os meus sinceros agradecimentos.

## Sumário

---

Resumo.....	9
Abstract .....	10
Lista de abreviaturas e fórmulas químicas .....	11
Antecedentes e Justificativas .....	12
O Flúor e a Odontologia .....	13
Mecanismos de Ação do Flúor .....	16
Efeito tópico vs. Efeito sistêmico.....	16
Ação do flúor nos processos de des e remineralização .....	17
Ação do flúor na fisiologia microbiana .....	21
Métodos de Acesso ao Flúor .....	24
Fontes de flúor de base comunitária .....	24
Experiência de cárie em comunidades com acesso à água fluoretada ou a sal fluoretado .....	28
Métodos de auto-aplicação .....	32
Experiência de cárie em comunidades com acesso a dentifício fluoretado .....	34
Reservatórios de Flúor.....	37
Implicações do acesso a fontes de flúor de base comunitária e a métodos auto- aplicação de flúor na [F] do biofilme .....	37
Experiência de cárie relacionada à [F] no biofilme.....	45
Objetivos .....	48
Objetivo geral .....	49
Objetivos específicos .....	49
Artigo Científico.....	50
Considerações finais.....	63
Referências bibliográficas.....	65



## *Resumo*

---

O objetivo deste estudo foi comparar a concentração de flúor do biofilme dental de indivíduos residentes em áreas com água fluoretada (AF) ou sal fluoretado (SF) e determinar o efeito do dentifrício fluoretado na concentração de flúor [F] do biofilme dental destes indivíduos. Dezesesseis indivíduos residentes em Montevideu (SF) e dezesseis indivíduos residentes em Porto Alegre (AF) participaram deste estudo randomizado, cruzado e duplo-cego. Profilaxia dental e raspagem supragengível foram realizadas antes de cada fase experimental. Durante as fases experimentais (14 dias/cada), os indivíduos escovaram os dentes, 2x/dia, com dentifrício fluoretado (DF) ou dentifrício não-fluoretado (DNF). As amostras de biofilme dental foram coletadas 8 horas após a última escovação. As análises de [F] no biofilme dental foram realizadas com um íon específico e as leituras foram convertidas em  $\mu\text{gF}^-/\text{g}$  de biofilme. Equações de estimativas generalizadas foram aplicadas para analisar a variância de medidas repetidas e as diferenças em cada desfecho. Uma maior [F] no biofilme foi observada na área com SF ( $2.69 \pm 0.10$  IC 2.48–2.89) em comparação a área com AF ( $2.44 \pm 0.06$  IC 2.32–2.57) quando do uso regular de DNF ( $p = 0.047$ ). Entretanto, não houve diferença significativa na [F] no biofilme entre as áreas com SF ( $2.60 \pm 0.12$  IC 2.37–2.83) e AF ( $2.81 \pm 0.10$  CI 2.62–3.01) quando do uso de DF ( $p = 0.153$ ). Adicionalmente, não foi observada diferença significativa na [F] do biofilme quando DF e DNF foram usados nas áreas com SF ( $p = 0.294$ ) e AF ( $p = 0.320$ ). A maior [F] no biofilme observada na área com SF, sob uso regular DNF, pode não ter significância clínica, uma vez que ela desapareceu quando o DF foi usado.

Palavras-chave: flúor, dentifrício fluoretado, placa dental, água potável, sal de cozinha.

## *Abstract*

---

The aim of this study was to compare the fluoride concentration in dental biofilm of subjects living in fluoridated- salt (FS) or water (FW) areas and to determine the effect of fluoride dentifrice on the fluoride concentration [F] in dental biofilm of these subjects. Sixteen individuals residing in Montevideo (FS) and sixteen individuals living in Porto Alegre (FW) participated in this randomized, double-blind, crossover study. Dental prophylaxis and scaling were performed prior to each experimental phase. During the experimental phases (14d/each) subjects brushed their teeth, 2x/day, with fluoridated dentifrice (FD) or non-fluoridated fluoride (NFD). Dental biofilm samples were collected 8 hours after the last toothbrushing. Analyses were performed with a fluoride ion-specific electrode and the reading was transformed into  $\mu\text{gF}^-/\text{g}$  biofilm. Generalized estimating equations were used to analyze the variance for repeated measures and the differences in each outcome. Higher biofilm [F] was found in FS ( $2.69 \pm 0.10$  CI 2.48–2.89) compared to FW ( $2.44 \pm 0.06$  CI 2.32–2.57) areas under regular use of NFD ( $p = 0.047$ ). However, no significant differences were found on dental biofilm [F] between FW ( $2.60 \pm 0.12$  CI 2.37–2.83) and FS ( $2.81 \pm 0.10$  CI 2.62–3.01) areas under FD use ( $p = 0.153$ ). Furthermore, no significant difference was observed in the biofilm [F] when FD or NFD were used in the FS ( $p = 0.294$ ) and FW ( $p = 0.320$ ) areas. The higher dental biofilm [F] was found in FS areas under NFD use may not have clinical significance once it disappeared when FD was used.

Key Words: fluoride, fluoride dentifrice, dental plaque, drinking water, table salt.

## *Lista de abreviaturas e fórmulas químicas*

---

[F] concentração de flúor / fluoride concentration

SF sal fluoretado

AF água fluoretada

DF dentifrício fluoretado

DNF dentifrício não fluoretado

FS fluoridated salt

FW fluoridated water

FD fluoridated dentifrice

NFD non-fluoridated dentifrice

$\text{H}_2\text{PO}_4^-$  dihidrogênio fosfato

$\text{PO}_4^{-3}$  fosfato

$\text{OH}^-$  hidroxila

$\text{Ca}^{+2}$  cálcio

$\text{CO}_2^{-3}$  carbonato

NaF fluoreto de sódio

## *Antecedentes e Justificativas*

---

Apesar de o flúor ser atualmente aplicado na odontologia na prevenção e controle da progressão da cárie dentária, o seu efeito anticárie foi descoberto ao acaso, ao serem analisados dados de estudos que, em um primeiro momento, verificavam os efeitos adversos a sua exposição (Dean et al., 1941; Dean et al., 1942; McKay, 1928).

Em 1888, Kuhns observou que todos os membros de uma família proveniente de Durango (México), que haviam nascido e crescido nesta localidade, apresentavam manchas escuras em seus dentes. A intensidade de tais manchas estava relacionada diretamente ao tempo de cada indivíduo viveu nesta região. Kuhns imaginava que essas alterações dentárias fossem decorrentes da água utilizada pela família, que poderia conter grandes quantidades de compostos de ferro, os quais penetrariam nos tecidos dentários. Como os dentes mais acometidos eram os anteriores, Kuhns supôs que a descoloração se dava pela oxidação dos compostos sob a presença de luz (Kuhns, 1888). Em 1901, Eager observou manchas dentárias escurecidas em indivíduos na cidade de Nápoles (Itália), relacionando-as também ao suprimento de água local que, neste caso, ocorria em uma região vulcânica. Eager acreditava que os gases e as poeiras vulcânicas pudessem ser inalados e/ou consumidos através da água e alimentos, resultando nessas alterações dentárias desfigurantes (Eager, 1901).

Ao observar populações afetadas pelo manchamento dentário, McKay (1916b) verificou que esta alteração ocorria em pessoas que residiam em áreas geográficas específicas desde o nascimento, independentemente da condição social. Tais características fizeram-no descartar a dieta dentre os possíveis fatores etiológicos do manchamento dentário. McKay relacionou o suprimento de água à ocorrência deste evento ao tomar conhecimento de que a mesma fonte de água era utilizada para o abastecimento de três cidades do estado de Arkansas (EUA), nas quais os indivíduos apresentavam manchamento dentário (McKay e Black, 1916a).

Em Oakley (EUA), o manchamento dentário ocorreu somente em crianças nascidas após a construção de um ducto para captação de água. A partir da sugestão de McKay, a fonte de suprimento de água de Oakley foi alterada. A fim de comprovar que o manchamento dentário estava associado ao suprimento de água, McKay sugeriu que a nova fonte de água fosse a mesma utilizada em outras cidades, nas quais o manchamento dentário não ocorria. Sete anos e meio após a troca da fonte, McKay examinou as crianças nascidas durante este período e observou que nenhuma delas apresentava manchamento em seus dentes, comprovando, portanto, que as alterações dentárias observadas em diversas regiões do mundo estavam associadas ao suprimento de água (McKay, 1933). McKay e Kempf (1930) observaram uma alta prevalência de manchamento em indivíduos nascidos na cidade de Bauxita (EUA) após a alteração da fonte de abastecimento de água. Churchil (1931) verificou uma alta [F] (13,7 ppmF) na água de abastecimento da cidade de Bauxita, a qual foi relacionada com a ocorrência de manchamento dentário.

Na década de 30, a pedido do Serviço de Saúde Pública dos Estados Unidos da América, Dean liderou uma pesquisa de campo na qual mapeou a prevalência e a severidade do manchamento dentário e da cárie dentária, assim como a [F] na água de abastecimento, em 1938 áreas de 26 estados Americanos. Dean observou uma relação dose-efeito direta entre a [F] na água e a ocorrência e severidade do manchamento dentário (Dean and Elvove, 1936). Além disso, observou uma menor prevalência de cárie nas áreas que apresentavam flúor na água do que nas áreas nas quais o flúor não estava presente (Dean, 1938). Essa observação já havia sido feita por McKay (1928), quando o mesmo verificou que nas áreas em que havia manchamento dentário a prevalência de cárie era menor do que nas regiões em que a fluorose não ocorria. Anos mais tarde, Dean desenvolveu o “estudo das 21 cidades” ratificado a relação entre acesso ao flúor e redução da experiência de cárie. Nesta série de estudos, Dean demonstrou, ao cruzar os dados de prevalência e severidade de fluorose com os dados de prevalência e severidade de cárie dentária, que indivíduos expostos a 1 ppmF na água de

abastecimento tinham o máximo de benefícios anticárie com o mínimo de efeitos adversos em decorrência da exposição ao flúor. A partir de então, se chancelou a relação benéfica entre a exposição ao flúor e a redução da experiência de cárie (Dean et al., 1941; Dean and Arnold, 1942).

### **Efeito tópico vs. Efeito sistêmico**

Até a metade da década de 70, acreditava-se que o principal mecanismo de ação anticárie do flúor fosse pré-eruptivo, decorrente da sua ingestão (ação sistêmica). Acreditava-se “não ser necessário continuar o uso de água fluoretada após a calcificação do esmalte” (McKay, 1952). As evidências que suportavam a teoria do efeito pré-eruptivo do flúor advinham de estudos epidemiológicos sobre a incidência de cárie em comunidades com água fluoretada (Blayney and Hill, 1964; Burt et al., 1986; Thylstrup et al., 1982) e de ensaios clínicos sobre suplementos de flúor (Glenn et al., 1982; Margolis et al., 1975; Widenheim et al., 1986).

A discussão dos possíveis efeitos tópicos dos compostos fluoretados é antiga (Klein, 1946; Russell, 1949a; Russell, 1949b). Bibby *et al.* (1955) comparou a eficácia anticárie de pastilhas de flúor (que eram mastigadas e entravam em contato com a superfície dentária) e de comprimidos de flúor revestidos (que eram deglutidos sem que o flúor entrasse em contato com a superfície dentária). Esse estudo, apesar de apresentar um baixo poder em virtude do alto índice de drop-outs, sinalizou para o efeito tópico do flúor, uma vez que o grupo que utilizou pastilhas de flúor apresentou uma menor incidência de cárie que o grupo que ingeriu comprimidos revestidos. Anos mais tarde, Stephen e Campbell (1978) confirmaram os achados de Bibby *et al.* (1955), ao demonstrarem uma redução considerável da cárie dentária em indivíduos que chuparam pastilhas fluoretadas (flúor agindo topicamente na superfície do esmalte) em relação aos indivíduos que chupavam pastilhas placebo (não fluoretada).

Evidências sobre o efeito tópico do flúor também são observadas em estudos de suplementação pré e pós-natal. Em um ensaio clínico randomizado duplo-cego, Leverett *et al.* (1997) não observou benefício do flúor pré-natal (comprimido de 1mgF/dia, durante os seis últimos meses de gravidez), quando comparado ao grupo controle (comprimido placebo,



durante os seis últimos meses de gravidez). Em adição, Reich *et al.* (1992) observou que crianças que receberam suplementos de flúor desde o nascimento não apresentaram uma experiência de cárie significativamente menor que as crianças que receberam a suplementação a partir dos sete meses. Mais recentemente, Slade *et al.* (2013) investigaram as associações entre a percentagem de vida exposta à água fluoretada e a experiência de cárie em adultos nascidos antes de 1960 (grupo pré-fluoretação; n = 2.270) e entre 1960-1990 (grupo pós-fluoretação; n = 1.509). Nesta amostra, nacionalmente representativa de adultos australianos, o efeito preventivo da água fluoretada sobre a cárie dentária foi semelhante em adultos nascidos antes da implementação da fluoretação da água (antes de 1960) comparada a dos adultos nascidos após tal implementação. Dessa forma, fica evidente que o principal efeito do flúor se dá através do seu mecanismo de ação tópico.

Atualmente, está consolidado que o mecanismo de ação do flúor se dá através do seu efeito tópico, uma vez que o flúor inibe a desmineralização e potencializa a remineralização (Featherstone *et al.*, 1990; ten Cate, 1999). O flúor incorporado à estrutura dos cristais de esmalte durante a sua formação apresenta um efeito anticárie mínimo ou inexistente (Featherstone, 1999; Limeback, 1999). Adicionalmente, se existe um pequeno efeito pré-eruptivo do flúor, o mesmo é perdido se não houver acesso contínuo ao flúor após a erupção dentária (Marthaler, 1967). Além de inibir a des e potencializar a remineralização, o flúor também parece interferir na fisiologia das células microbianas (Koo, 2008; Marquis *et al.*, 2003).

### **Ação do flúor nos processos de des e remineralização**

Apesar de os fenômenos de des e remineralização ocorrem simultaneamente, os mesmos serão abordados separadamente para fins didáticos. Entretanto, para compreender como o flúor atua nestes processos, é necessário, primeiramente, elucidar como os processos

de des e remineralização ocorrem na ausência do flúor, para então ser possível compreender de que maneira o que o flúor altera esses processos.

Em um meio aquoso, a hidroxiapatita sofrerá dissolução até que a solução esteja saturada em relação aos íons presentes no cristal. Para tanto, íons fosfato e hidroxila serão liberados para o meio até a saturação da solução. Quando a solução estiver saturada, não haverá dissolução nem precipitação de íons no cristal. Se a esta solução saturada for adicionado um ácido, ocorrerá uma queda do pH e o equilíbrio da solubilidade do cristal será perdido. Íons  $H^+$  provenientes do ácido se ligarão aos íons fosfato e hidroxila presentes na solução, formando  $H_2PO_4^-$  e  $H_2O$ . Esse fenômeno tornará a solução novamente insaturada com relação a estes íons do cristal e, assim, mais íons  $PO_4^{3-}$  e  $OH^-$  serão removidos do cristal para saturar a solução, aumentando o grau de dissolução do mesmo (Buzalaf et al., 2011).

Todos estes fenômenos químicos ocorrem no meio bucal na interface entre os tecidos dentários e o fluido do biofilme. Quando o biofilme está em repouso, ou seja, não está metabolizando carboidratos e produzindo ácidos, o fluido do biofilme se encontra supersaturado em relação cristal de hidroxiapatita. Entretanto, quando a metabolização de carboidratos ocorre, a produção de ácidos leva a uma queda de pH (Geddes, 1975), que torna o fluido do biofilme insaturado com relação ao cristal e, desta forma, a dissolução do cristal ocorre (Featherstone and Rodgers, 1981), caracterizando o fenômeno de desmineralização.

É importante ressaltar que os cristais do esmalte não são compostos por hidroxiapatita pura, uma vez que os mesmos contêm íons inorgânicos diversos àqueles que originalmente compõe a hidroxiapatita. Os cristais de esmalte permitem que íons exógenos sejam incorporados a sítios que normalmente são reservados para os íons  $Ca^{+2}$ ,  $PO_4^{3-}$  e  $OH^-$ .

Os íons  $OH^-$  podem ser ilimitadamente substituídos por íons  $F^-$ . Se todos os íons  $OH^-$  forem substituídos por íons  $F^-$ , o cristal se tornará uma fluorapatita (37.000 ppmF) (Featherstone, 1999). Entretanto, isso não ocorre em tecidos biológicos, sendo a fluorapatita

extremamente rara em seres vivos, com exceção ao esmalte do tubarão. Já os íons  $\text{PO}_4^{-3}$  podem ser substituídos por íons  $\text{CO}_3^{-2}$ , apesar de, ao contrário do que ocorre com o íon F, essa substituição ser limitada, a fim de que não haja rompimento do cristal. Tais substituições iônicas influenciam diretamente nas propriedades químicas e físicas do mineral: o carbonato torna a hidroxiapatita mais solúvel, enquanto o flúor a torna mais insolúvel (Nelson, 1981).

Traços de flúor na solução durante uma queda de pH fazem com que a mesma esteja subsaturada em relação a hidroxiapatita e, ao mesmo tempo, supersaturada em relação a fluorapatita, em uma faixa de pH de 5,5 a 4,5. Assim, enquanto a hidroxiapatita é dissolvida, a fluorapatita é depositada. Sabendo que o cristal de esmalte se trata de uma hidroxiapatita carbonatada (LeGeros, 1991), ao passo que o mesmo é dissolvido, os íons carbonatos são eliminados enquanto íons de  $\text{F}^-$  são incorporados a sua estrutura. Dessa forma, há uma redução na quantidade de íons de carbonato no cristal e, conseqüentemente, sua solubilidade é diminuída pela incorporação de íons  $\text{F}^-$  (Featherstone et al., 1990; Featherstone, 1999; Shellis and Duckworth, 1994; ten Cate and Featherstone, 1991).

Conforme os processos de des e remineralização irão ocorrendo na presença de flúor, mais flúor será incorporado ao cristal e conseqüentemente, menos solúvel o mesmo se tornará, inibindo a desmineralização nestas áreas. Estudos que comparam o desenvolvimento de lesões de cárie em esmalte de tubarão (fluorapatita) com o desenvolvimento de lesões de cárie em esmalte humano, demonstram que o esmalte de tubarão é mais resistente a dissolução que o esmalte humano. Entretanto, o flúor presente no meio ambiente oral parece ser mais importante no controle da perda mineral do que o flúor incorporado a estrutura do cristal, uma vez que a perda mineral no esmalte humano tratado com NaF a 0,2% é menor do que no esmalte de tubarão, porém sem diferença estatisticamente significativa (Ogaard et al., 1988). Teoricamente, quanto maior a quantidade de flúor livre na solução, maior será a probabilidade de o mesmo ser incorporado ao cristal. Estudos demonstram que mesmo

soluções com baixas concentrações de  $F^-$ , em uma faixa sub-ppm, tem a capacidade de inibir substancialmente a dissolução do mineral (Featherstone et al., 1990; Lynch et al., 2004; Margolis et al., 1986; Page, 1991; ten Cate and Duijsters, 1983; ten Cate and Featherstone, 1991).

O fluoreto de cálcio ( $CaF_2$ ) é formado quando a  $[F^-]$  no ambiente (saliva, fluido de biofilme) é superior a 100 ppm F. O fluoreto de cálcio funciona como um reservatório mineral que, na presença de um desafio cariogênico, se dissocia, liberando  $F^-$ , o qual irá reagir com cálcio e fosfato, inibindo a desmineralização e potencializando a remineralização do tecido dentário. Quando na ausência de um desafio ácido, o  $CaF_2$  se mantém na forma estável, recoberto por íons fosfato e proteínas salivares, sendo observado microscopicamente como pequenas esferas (glóbulos) minerais (Duschner et al., 1997; Saxegaard and Rölla, 1988).

O flúor presente no momento da dissolução irá aumentar a velocidade do processo de remineralização, uma vez que ele irá se adsorver a superfície do cristal parcialmente dissolvido e atrairá íons cálcio presentes na solução (advindos tanto dos próprios cristais parcialmente dissolvidos, quanto da saliva), potencializando a remineralização de lesões de cárie. O flúor depositado na superfície dentária (Nelson et al., 1983) e no interior do biofilme, na forma  $CaF_2$ , também auxiliará nesse processo, liberando íons  $F^-$  que irão interagir com os íons cálcio e fosfato perdidos do dente, acelerando a deposição mineral.

Além do flúor presente na solução, os componentes da saliva desempenham um papel fundamental no processo de remineralização. Uma vez que a saliva é supersaturada em relação ao cálcio e ao fosfato presentes na estrutura do cristal, estes íons são depositados sobre os cristais parcialmente dissolvidos (ten Cate and Featherstone, 1991). Os componentes tampão da saliva (bicarbonato, fosfato e peptídeos) atuam neutralizando os ácidos produzidos pelas bactérias cariogênicas, propiciando uma elevação mais rápida do pH e uma redução na taxa de dissolução mineral.

Para exercer este efeito inibidor da desmineralização e estimulador da remineralização, o flúor deve ser mantido em concentrações mínimas, porém constantemente na cavidade bucal, principalmente nas interfaces biofilme/esmalte e saliva/esmalte (Arends and Christoffersen, 1990; Featherstone, 1999; ten Cate, 1997).

### **Ação do flúor na fisiologia microbiana**

Uma vez que a maior parte das evidências a respeito da ação antimicrobiana do flúor advém de estudos laboratoriais *in vitro*, muito cuidado deve haver ao se interpretarem tais resultados. Já os estudos clínicos que avaliaram o efeito antimicrobiano do flúor parecem demonstrar que o flúor apresenta tal efeito, entretanto o mesmo seria dependente de uma série de fatores como a concentração do produto fluoretado aplicado e a componentes antimicrobianos associados (Buzalaf et al., 2011).

O flúor pode atuar sobre as células microbianas de duas formas principais: inibindo a atividade enzimática bacteriana ou aumentando a permeabilidade da membrana celular para prótons (Koo, 2008; Marquis et al., 2003). Apesar de existir a discussão de que o flúor teria capacidade bactericida sobre o biofilme dental, sabe-se que a mesma somente seria obtida ao serem aplicadas concentrações muito altas de flúor (Caufield and Wannemuehler, 1984), as quais não são utilizadas em seres humanos por questões de segurança.

Apesar de o fluoreto ( $F^-$ ) não ter a capacidade de atravessar a parede celular e a membrana citoplasmática das bactérias, o ácido fluorídrico (HF) as atravessa rapidamente. Tal ácido é oriundo da associação entre o íon  $H^+$  liberado durante o metabolismo bacteriano e o íon  $F^-$  presente no fluido do biofilme dentário. Durante o metabolismo bacteriano, a produção de ácidos leva à dissociação do HF que penetrou na célula em íons  $H^+$  e  $F^-$ , acidificando o citoplasma bacteriano. O  $F^-$  liberado irá interferir em enzimas como a enolase, resultando na redução da produção de energia pela bactéria, na inibição de fosfatases e da bomba de

prótons, sendo estes últimos responsáveis por um maior aumento da acidificação intracelular. A redução da produção de energia resultará, conseqüentemente, e em uma menor produção de ácido, tornando a bactéria menos acidogênica (Hamilton, 1990; Van Loveren, 1990). Uma vez que os prótons resultantes da dissociação do HF não serão eliminados do interior celular, o efeito da dissociação do HF na acidificação celular será cumulativo. Assim, além de uma menor acidogenicidade, as bactérias se tornam menos acidúricas, tendo uma menor tolerância ao ambiente ácido de um biofilme cariogênico (Koo, 2008).

Além de inibir a atividade da enolase, o flúor também inibe o funcionamento de outras enzimas como a uréase (Burne and Marquis, 2001; Todd and Hausinger, 2000), P-ATPase (Murphy and Coll, 1992), fosfatases (Eisenberg and Marquis, 1980) e heme catalase (Phan et al., 2001) – através da sua ligação direta a tais enzimas na forma de  $F^-$  ou HF (Buzalaf et al., 2011) –, F-ATPase (Sternweis and Gilman, 1982; Sturr and Marquis, 1990) e nitrogease (Clarke et al., 1999), através da ligação de complexos metálicos de flúor às enzimas (Buzalaf et al., 2011).

Estudos demonstram uma redução significativa na deposição de biofilme pela utilização de dentifrícios fluoretados com alta [F] (5000 ppmF) (Baysan et al., 2001; Nordström et al., 2009). Entretanto, o efeito observado não pode ser unicamente atribuído à [F] no dentifrício, uma vez que tais dentifrícios contêm laurilsulfato de sódio na sua composição. Apesar de soluções com 1,5% de laurilsulfato de sódio reduzirem significativamente a quantidade de biofilme formado sobre a superfície dentária, a sua associação com 5000 ppm de flúor parece promover uma redução ainda maior. Dessa forma, Nordström *et al.* (2009) concluíram que é a associação entre laurilsulfato de sódio e flúor em uma concentração de 5000 ppm F que é capaz de reduzir a formação de biofilme.

O ensaio clínico de boca dividida de Takahashi e Washio (2011), avaliou os efeitos inibitórios de suspensões de NaF no metabolismo central do carbono em biofilmes

supragengivais. Os voluntários acumularam biofilme durante 24 horas e, após este período realizaram bochechos com 10 mL de uma suspensão de NaF (225 ou 900 ppm F) durante 60 segundos e, em seguida, o biofilme supragengival de um quadrante superior e um inferior foi coletado. Após 10 min, os voluntários foram solicitados a realizar um novo bochecho com uma solução de glicose (10 mM), xilitol (10 mM) ou glicose (10 mM) mais xilitol (10 mM) durante 60 s. Passados 10 min, o biofilme supragengival foi coletado dos demais quadrantes. A análise metabolômica demonstrou que o flúor (225 e 900 ppm F) inibiu significativamente a produção de lactato a partir de glicose, reduzindo a acidogenicidade do biofilme. Adicionalmente, o flúor promoveu uma redução na produção de fosfoenolpiruvato, reduzindo a produção de energia. A análise do metaboloma bacteriano evidenciou o efeito inibitório do flúor no metabolismo bacteriano.

Estudos *in vitro* demonstram que o flúor inibe a atividade de diversas enzimas. Os poucos estudos *in vivo* disponíveis na literatura a fim de validar tais achados sugerem que o flúor inibe os eventos metabólicos bacterianos. A inibição da formação de biofilme parece estar relacionada ao uso contínuo de produtos que associem altas concentrações de flúor e laurilsulfato de sódio. Entretanto, não existem estudos clínicos que testem a associação entre o efeito do flúor no biofilme e redução da experiência de cárie.

Uma vez que o acesso ao flúor através da água naturalmente fluoretada demonstrou reduzir a experiência de cárie, inúmeros esforços foram empreendidos a fim de que o este benefício atingisse toda a população. Neste sentido, fontes de flúor de base comunitária (água, sal, leite e açúcar fluoretados) e métodos de auto-aplicação caseira de produtos fluoretados foram desenvolvidos. Ainda, métodos de aplicação profissional de flúor (soluções, géis, espumas e vernizes de alta [F], dispositivos de liberação lenta de flúor e materiais dentários liberadores de flúor) também constituem o leque de formas de acesso ao flúor (Ellwood et al., 2008).

A seguir serão discutidos os diferentes fontes de flúor de base comunitária e de auto-aplicação de flúor.

### **Fontes de flúor de base comunitária**

O flúor adicionado em baixas concentrações a água, sal, leite e açúcar tem como objetivo a prevenção da cárie dentária. Eram denominados como métodos sistêmicos de acesso ao flúor, uma vez que se acreditava que o flúor ingerido tinha efeito na época de formação dos dentes. Atualmente, sabe-se que o seu efeito anticárie é obtido através dos efeitos tópicos do contato direto do flúor com a superfície dentária previamente a ingestão e quando do seu retorno à cavidade oral através da saliva e do fluido crevicular (Sampaio and Levy, 2011). Portanto, frente ao reconhecimento do mecanismo de ação tópico destes métodos, Ellwood *et al.* (2008) propôs que a classificação dos mesmos fosse alterada de métodos sistêmicos para fontes de flúor de base comunitária, a fim de desmistificar e desassociar de tais métodos a ideia de efeito sistêmico pré-eruptivo.



A água fluoretada é o método de fluoretação comunitário mais estudado. A fluoretação das águas de abastecimento é uma técnica simples que consiste na adição de uma quantidade controlada de flúor ao suprimento de água, a fim de se obter uma concentração entre 0,7 e 1,2 mg/L, de acordo com a temperatura local (Sampaio and Levy, 2011). Aproximadamente 377,7 milhões de pessoas tem acesso à água artificialmente fluoretada em 25 países (Argentina, Austrália, Brasil, Brunei, Canadá, Chile, China, Coreia do Sul, Espanha, Estados Unidos, Fiji, Grã-Bretanha, Guatemala, Guiana, Irlanda, Israel, Líbia, Malásia, Nova Zelândia, Panamá, Papua Nova Guiné, Peru, Sérvia, Singapura e Vietnam) (British Fluoridation Society, 2012). Se considerarmos as comunidades com água naturalmente fluoretada com nível de flúor ideal ou próximo, a abrangência do método aumenta para aproximadamente 435,1 milhões de pessoas. A fluoretação das águas de abastecimento é considerada como um dos dez avanços em saúde pública mais importantes do século 20, por estabelecer um meio abrangente, econômico e eficaz de promover continuamente a saúde (Centers for Disease Control and Prevention, 1999).

Em locais nos quais por razões políticas, geográficas e/ou técnicas a fluoretação da água de abastecimento não pode ser implementada, outras fontes de flúor de base comunitária tem sido sugeridas, como o sal, leite e açúcar fluoretados (Künzel, 1993).

A fluoretação do leite foi idealizada no ano de 1953 por Ziegler, um importante médico pediatra suíço (Burt and Marthaler, 1996). Programas de fluoretação do leite foram introduzidos em diversos países a partir da década de 80, como Bulgária, Chile, China, Peru, Reino Unido, República da Macedônia, Rússia e Tailândia (Sampaio and Levy, 2011; Yeung et al., 2005). Considera-se que atualmente 800 mil crianças recebam leite fluoretado (WHO, 2009), através de esquemas escolares ou programas nutricionais (Yeung et al., 2005). Adição de flúor ao leite parte da premissa que este procedimento atinge diretamente as crianças (Burt and Marthaler, 1996), uma vez que este alimento faz parte da dieta diária infantil (Yeung et al.,

2005). A fluoretação do leite é realizada a partir da adição de fluoreto de sódio ou monofluorofosfato dissódico em uma [F] de 5mg/L, em uma técnica simples independente do tipo de leite (pasteurizado, UHT, esterilizado ou em pó) (Sampaio and Levy, 2011).

A redução da cárie a partir do consumo de leite fluoretado varia entre os estudos. Em uma revisão sistemática da literatura, dos 29 estudos selecionados, apenas dois foram incluídos (Yeung et al., 2005). Tais estudos apresentavam problemas metodológicos (ausência de cálculo amostral e de poder), assim como diferenças na [F] no leite utilizado, o que não permitiu que seus resultados fossem agrupados. Estes estudos sugeriram um efeito benéfico do consumo de leite fluoretado na redução da experiência de cárie de 78,4 e 31,2% na dentição permanente de escolares, após três e cinco anos de acompanhamento, respectivamente. Os autores concluíram que existem estudos insuficientes que forneçam evidência de boa qualidade sobre o efeito do leite fluoretado na prevenção da cárie dentária.

A fluoretação do açúcar como meio de acesso comunitário ao flúor apresenta poucos registros na literatura. O raciocínio utilizado para este método é de que na presença do flúor, o desafio cariogênico proporcionado pela metabolização da sacarose é reduzido. A associação do flúor com o açúcar em um único produto promoveria uma inibição da desmineralização proporcionada pela metabolização bacteriana da sacarose e um aumento da remineralização das lesões (O'Mullane, 1995). Ao contrário do raciocínio utilizado para as outras fontes de flúor de base comunitária, o consumo de açúcar fluoretado não teria por objetivo sustentar um consumo mínimo de flúor diário. Uma vez que o consumo de açúcar é variável, a ideia é que pequenas concentrações de flúor seriam benéficas, se presente nos locais onde a cárie dentária ocorre. O açúcar é fluoretado em uma concentração de 10 mg F/Kg, através de um procedimento chamado co-cristalização, que consiste na pulverização do açúcar com uma solução de fluoreto de sódio (Mulyani and McIntyre, 2002).

Dois estudos clínicos avaliaram o efeito anticárie do açúcar fluoretado. Nestes trabalhos as crianças não tinham acesso a qualquer fonte adicional de flúor. O consumo de alimentos adoçados com açúcar fluoretado, resultou na redução de experiência de cárie de 80% em um período de 18 meses (Mulyani and McIntyre, 2002) e de 42% no período de três anos (Luoma et al., 1979). Estes autores concluíram que o uso de açúcar fluoretado parece ter benefícios significativos em áreas rurais e urbanas dos países em desenvolvimento, em particular, nas quais carboidratos refinados são introduzidos rapidamente em grandes escalas e outras fontes de flúor não estão disponíveis ou não estão sendo amplamente utilizadas na comunidade.

De todos os métodos alternativos à fluoretação da água, o sal fluoretado é o mais disseminado. A fluoretação do sal foi sugerida pela primeira vez por Wespi, um médico ginecologista que, ao verificar o sucesso da adição do iodo ao sal na prevenção do bócio, sugeriu a adição do flúor ao sal para prevenir a cárie (Burt and Marthaler, 1996). Atualmente o sal fluoretado está disponível em todos os países da América Latina (exceto na Argentina, Brasil, Chile e Guiana Francesa), na França, Alemanha e Suíça (Sampaio and Levy, 2011). O principal benefício do uso do sal fluoretado é que o seu uso pode não ser compulsório (Jones et al., 2005). A fluoretação do sal pode atingir toda a população como, por exemplo, na Jamaica e na Costa Rica – onde todo o sal para consumo humano é fluoretado–, ou pode ter seu acesso limitado ao consumo doméstico, sendo o seu uso proibido nos demais canais de distribuição (padarias, grandes cozinhas de empresas ou instituições, e indústria de alimentos) (Marthaler, 2005). Na América Latina e na Suíça, todos os canais de distribuição são utilizados, entretanto, na França e na Alemanha, o acesso se dá basicamente pelo consumo doméstico de sal fluoretado (Sampaio and Levy, 2011).

A fluoretação do sal é realizada através da adição de fluoreto de potássio ou fluoreto de sódio. Sua concentração deve variar entre 250 a 300 mg F/Kg, sendo a concentração mínima

aceitável de 200 mg F/Kg (Sampaio and Levy, 2011). Esta concentração foi estabelecida por um estudo que verificou que, após o consumo de alimentos preparados com sal fluoretado a 250mgF/Kg, a [F] na urina de 24 horas foi similar a [F] encontrada na urina de indivíduos expostos a água fluoretada a 1ppm (Wespi and Bürgi, 1971). O sal fluoretado controle a cárie através da manutenção de um baixo, porém constante, nível de flúor na cavidade bucal (Burt and Marthaler, 1996).

Do ponto de vista da saúde geral, o consumo de sal é associado à ocorrência de hipertensão arterial e, neste sentido, a indicação de fluoretação do sal para o controle da cárie tem sido discutida. O princípio da fluoretação do sal parte do efeito anticárie “automático” ou passivo do consumo do sal e, portanto, as pessoas não precisam modificar seus hábitos dietéticos para se beneficiarem com esta fonte de flúor de base comunitária. Jones *et al.* (2005) enfatiza que a redução no consumo do sal deve ser encorajada e que, neste caso, um aumento na [F] no sal para manter seu benefício anticárie deve ser considerado e adequadamente testado.

Uma vez que a água fluoretada e o sal fluoretado são as fontes de flúor de base comunitária mais difundidas no mundo, suas implicações sobre a experiência de cárie serão abordadas com maior detalhamento.

### **Experiência de cárie em comunidades com acesso à água fluoretada ou a sal fluoretado**

Muitos estudos demonstram uma redução consistente na progressão de cárie em indivíduos com acesso à água fluoretada. Em virtude do reconhecimento do flúor como agente anticárie, a água de abastecimento da cidade de Grand Rapids (Michigan) foi artificialmente fluoretada em uma concentração de 1 ppmF. Nesse estudo a cidade de Muskegon (Michigan) foi usada como controle negativo (0,1ppm de flúor na água de abastecimento) e a cidade de Aurora (Illinois) como controle positivo (água de abastecimento naturalmente fluoretada a 1,2

ppmF). Exames de cárie foram realizados antes da fluoretação da água, 6,5 e 10 e 15 anos após a fluoretação. Após seis anos e meio, houve uma redução significativa na experiência de cárie em Grand Rapids, em relação a Muskegon e Aurora. Após 10 anos, as crianças de Grand Rapids que tiveram acesso à água fluoretada desde o nascimento apresentavam experiência de cárie similar às crianças da cidade de Aurora (controle positivo) (Arnold et al., 1953). Após 15 anos, a experiência de cárie em Grand Rapids havia sido reduzida em 50%, de 12,5 em 1944 para 6,2 em 1959 (Arnold et al., 1962). Em virtude do sucesso da água fluoretada no controle da progressão da cárie, a cidade de Muskegon teve sua água de abastecimento artificialmente fluoretada no ano de 1951 (Horowitz, 1989). A redução da cárie observada em vários países, nos quais o flúor foi adicionado à água de abastecimento, varia entre 21 e 72% (Dini et al., 2000; Evans et al., 2009; Künzel, 1982; Wiktorsson et al., 1992).

Uma recente revisão sistemática de 59 estudos publicados entre 1990 e 2010 avaliou a eficácia da água fluoretada na prevenção da cárie dentária. Os estudos incluídos forneceram dados de experiência para dentes decíduos (n = 30) e para dentes permanentes (n = 53). Esta revisão traçou um paralelo entre os resultados dos estudos publicados após 1990 e os obtidos em uma revisão prévia (Murray et al., 1991). A redução da cárie na dentição decídua observada nos estudos pré-1990 foi de 40-49% e nos estudos pós-1990 foi de 30-59%. Nos dentes permanentes, a porcentagem de redução de experiência de cárie foi menor nos estudos pós-1990 (50-59% pré-1990 versus 40-49% pós-1990). Os autores concluíram que a redução da experiência de cárie observada nos estudos pós-1990 foi menor que a observada nos estudos pré-1990. Entretanto a redução da experiência de cárie obtida pelo acesso à água fluoretada ainda foi substancial (Rugg-Gunn and Do, 2012).

Quando a fluoretação da água foi interrompida em algumas comunidades, alguns estudos demonstram uma estabilidade ou até mesmo um declínio na progressão/experiência de cárie (Attwood and Blinkhorn, 1991; Künzel et al., 2000; Seppä et al., 1998). Um estudo

realizado no Canadá comparou a experiência de cárie em duas comunidades, com fluoretação da água de abastecimento e outra que havia interrompido a fluoretação das águas. A prevalência de cárie ter permaneceu estável na comunidade que manteve a fluoretação da água, enquanto na comunidade em que a fluoretação foi descontinuada, a experiência de cárie continuou a diminuir. Entretanto, tais resultados devem ser avaliados com cuidado, uma vez que a comunidade com H<sub>2</sub>O-F apresentava uma experiência de cárie muito baixa, enquanto a comunidade sem H<sub>2</sub>O-F apresentava uma alta experiência de cárie. Mesmo com a redução progressiva da experiência de cárie na comunidade sem H<sub>2</sub>O-F, a mesma se manteve significativamente maior que os valores observados na comunidade com H<sub>2</sub>O-F durante o período estudado (Maupomé et al., 2001). A disseminação de diferentes métodos de aplicação tópica de flúor e, principalmente, o uso de dentifrícios fluoretados, são responsáveis pela estabilidade e/ou redução da prevalência de cárie após a interrupção da fluoretação da água de abastecimento nessas comunidades. Em contrapartida, ao analisarem dados de uma Pesquisa Nacional de Saúde Bucal (Brasil, 2011), Sampaio e Levy (2011) verificaram que, apesar dos dentifrícios fluoretados com 1500 ppmF serem utilizados em larga escala, a experiência de cárie nas cidades com água fluoretada foi 20 a 30% menor que nas cidades sem água fluoretada. Estes resultados observados no Brasil são similares àqueles obtidos nos Estados Unidos na década de 80 (Brunelle and Carlos, 1990) e recentemente na Austrália (Spencer et al., 2008).

Tais resultados indicam que, onde o acesso a dentifrício fluoretado não é universal, o uso de fontes de flúor de base comunitária como a água fluoretada ainda devem ser indicados (Kumar, 2008; Sampaio and Levy, 2011).

Outra fonte de flúor de base comunitária bastante difundida é o sal fluoretado. Estudos realizados na década de 70 na Hungria (Tóth, 1976; 1978) e Colômbia (Darío Restrepo et al., 1972; Gillespie and Baez, 2005) avaliaram o efeito anticárie do sal fluoretado. Nestes estudos, a

ingestão de sal fluoretado foi avaliada através da [F] na urina. A experiência de cárie nas comunidades com sal fluoretado foi comparada a das comunidades com água fluoretada e a das comunidades sem a implementação do sal fluoretado. A experiência de cárie nas comunidades com sal fluoretado foi semelhante a das cidades com água fluoretada. Já a experiência de cárie nas comunidades com sal fluoretado foi menor que nas comunidades sem a sua implementação. No Uruguai, o sal fluoretado corresponde a 90% de todo o sal comercializado (Marthaler, 2005). Um levantamento epidemiológico demonstrou que, oito anos após o início da fluoretação do sal, houve uma redução de 42% na experiência de cárie de crianças uruguaias de 11 a 14 anos (Ministerio de Salud Pública de Uruguay, 1999). Entretanto, considerando que neste período houve a introdução maciça de dentifrício fluoretado em todo o mercado mundial, a redução da experiência de cárie observada nas crianças uruguaias não pode ser exclusivamente atribuída ao acesso a sal fluoretado.

Sagheri *et al.* (2007), comparou a experiência de cárie aos 12 anos de crianças escocesas residentes durante toda a vida em comunidades com sal fluoretado (Freiburg, n = 322) e água fluoretada (Dublin, n = 377) como fontes de flúor de base comunitária. Houve uma menor experiência de cárie nas crianças residentes na comunidade com sal fluoretado, entretanto sem diferença estatisticamente significativa em relação à experiência de cárie verificada nas crianças residentes na comunidade com água fluoretada. Yengopal *et al.* (2010), realizou uma metanálise de nove estudos que avaliaram o efeito preventivo do sal fluoretado em relação à cárie dentária, em diversas faixas etárias, publicados até 2009. Os resultados demonstram que o efeito preventivo da exposição ao sal fluoretado foi significativamente maior do que nenhuma exposição a sal fluoretado, em todas as faixas etárias. A comparação entre efeitos preventivos da exposição a sal e à água fluoretada demonstrou não haver diferença significativa entre estes métodos. Considerando que apenas um estudo comparou a eficácia preventiva do sal versus água fluoretada e que este estudo, assim como os demais, não é um ensaio clínico randomizado, os resultados desta metanálise devem ser avaliados com

cautela. As falhas metodológicas dos estudos incluídos como ausência de controle a exposição a outros métodos de acesso a flúor e de cálculo amostral, impediram que o efeito preventivo do sal fosse estimado. Entretanto, o resultado desta metanálise sugere que a exposição a sal fluoretado seja melhor que nenhuma exposição a outras fontes de flúor de base comunitária.

Quando se analisa a experiência de cárie associada ao uso do sal fluoretado, a principal diferença em relação à água fluoretada é a abrangência do acesso ao flúor. Enquanto a água fluoretada atinge toda a população, a abrangência do acesso ao sal fluoretado pode ser limitada. Primeiramente, pela escolha dos indivíduos e, em segundo lugar, de acordo com os canais de distribuição disponíveis, as quais dependem da legislação de cada País.

### **Métodos de auto-aplicação**

Historicamente, os métodos de auto-aplicação de flúor foram genericamente classificados como “métodos tópicos”. Tal generalização se refere aos métodos que tem por objetivo proteger as superfícies dentárias através da aplicação de produtos fluoretados em altas concentrações, e que não são destinados para ingestão (Marinho et al., 2003a). Ellwood *et al.* (2008), frente ao reconhecimento do mecanismo de ação tópico de todos os métodos de acesso ao flúor, propôs que a classificação destes métodos até então conhecidos como “tópicos” fosse mudada para métodos de auto-aplicação e métodos de aplicação profissional de flúor, a fim de desmistificar qualquer diferença no forma de ação anticárie entre estes métodos e as fontes de flúor de base comunitária. Segundo a classificação de Ellwood *et al.* (2008), os métodos tópicos de auto-aplicação compreendem os dentifrícios e colutórios fluoretados, além dos suplementos de flúor (pastilhas, gotas, comprimidos e gosmas de mascar).

Os suplementos de flúor foram desenvolvidos no final da década de 40, com o objetivo de promover acesso ao flúor a crianças residentes em áreas sem água fluoretada (Burt and



Marthaler, 1996). Em decorrência do entendimento do efeito tópico do flúor, este método de auto-aplicação de flúor tem sido descontinuado.

Os colutórios fluoretados foram introduzidos na odontologia há mais de 60 anos, com o objetivo tanto de aplicação individual quanto comunitária. As soluções a base de fluoreto de sódio são as mais amplamente utilizadas, com concentrações de 230 ppm F (0,05%) e de 900 ppmF (0,2%) (Marinho et al., 2003a; Pessan et al., 2011).

Marinho *et al.* (2003a) realizou uma revisão sistemática da literatura que incluiu 34 ensaios clínicos, nos quais a eficácia anticárie dos colutórios fluoretados foi comparada a dos colutórios placebo ou a nenhum tratamento. Os bochechos foram realizados em escolas de forma supervisionada em diferentes frequências (diária, semanal ou quinzenal). Os autores concluíram que, quando os bochechos com colutórios fluoretados são realizados sob supervisão, a redução média na experiência de cárie dentária é de 26%. Não foi possível verificar a existência de uma relação clara entre uma série de fatores (severidade inicial da cárie, exposição passada ao flúor, [F] e frequência de uso) e a magnitude do efeito do tratamento com bochechos fluoretados, sugerindo, portanto que tais resultados devem ser interpretados com cautela.

Os dentifrícios fluoretados são considerados a forma mais disseminada de acesso ao flúor que atingem mais de 500 milhões de pessoas em todo o mundo (WHO, 2004). Estão disponíveis no mercado na forma de pastas ou géis e, apesar de sua reconhecida propriedade anticárie, são seus benefícios cosméticos (remoção de manchas extrínsecas, branqueamento e proteção contra halitose) que tem impulsionado o seu uso e aceitabilidade pela população (Ellwood et al., 2008).

A formulação básica dos dentifrícios fluoretados contém um ou mais compostos ativos de flúor, água, abrasivos, agentes tensoativos, agentes ligantes, umidificantes, agentes aromatizantes, edulcorantes, corantes e conservantes (Zero, 2006). Entre os compostos ativos

de flúor os mais utilizados são o fluoreto de sódio, o monofluorofosfato de sódio, o fluoreto estanhoso e o fluoreto de amina (Richards and Banting, 1996). O sistema abrasivo utilizado na sua composição desempenha um importante papel na eficácia anticárie dos dentifrícios. Sistemas abrasivos contendo cálcio são incompatíveis com fluoreto de sódio, resultado em uma redução na disponibilidade de flúor (Pessan et al., 2011). Neste contexto, a sílica deve ser o sistema abrasivo associado ao NaF, a fim de manter a estabilidade química do dentifrício (Duarte et al., 1999).

Os dentifrícios podem ser classificados, conforme a sua [F], em dentifrícios não fluoretados (sem flúor), dentifrícios de baixa [F] (contendo entre 250 e 550 ppmF), dentifrícios convencionais (contendo entre 1000 e 1500 ppmF) e em dentifrícios de alta [F] (contendo 5000 ppmF). A escovação dentária com dentifrício fluoretado é considerada como o melhor método de acesso ao flúor, uma vez que combina a remoção e/ou desorganização mecânica do biofilme com os efeitos anticárie do flúor (Pessan et al., 2011).

### **Experiência de cárie em comunidades com acesso a dentifrício fluoretado**

Diversos estudos têm comprovado a eficácia clínica do flúor na prevenção da cárie dentária (Stookey, 1990) e seu uso tem sido relacionado à significativa redução da prevalência de cárie em países desenvolvidos ocorrida nas últimas décadas (Bratthall et al., 1996).

Marinho *et al.* (2003b) realizaram uma revisão sistemática da literatura com o objetivo de determinar a efetividade e a segurança de dentifrícios fluoretados na prevenção da cárie dentária em crianças e de identificar os possíveis fatores que podem modificar o seu efeito anticárie. Mais de 42.300 crianças participaram dos 74 estudos clínicos incluídos. Em tais estudos, dentifrícios fluoretados contendo monofluorofosfato de sódio, fluoreto estanhoso, fluoreto de sódio e outras formulações foram utilizados nos grupos teste, enquanto dentifrício placebo foi aplicado nos grupos controle. Resultados agrupados de 70 estudos sugerem uma

redução de 24% na experiência de cárie na dentição permanente dos indivíduos com acesso a dentifrício fluoretado. A meta-regressão demonstrou claramente que pessoas com maior experiência de cárie se beneficiam mais com a ação preventiva do dentifrício fluoretado e que o aumento da [F] e da frequência de escovação são refletidos diretamente na sua eficácia preventiva. Não foi detectada uma relação clara entre a exposição pregressa à outras fontes de flúor e a magnitude do efeito do tratamento. A análise 56 ensaios (dos quais 11 foram realizados em áreas fluoretadas) demonstrou que o efeito do dentifrício fluoretado foi semelhante entre os ensaios realizados em áreas fluoretadas e não fluoretadas. Com relação ao tipo de composto fluoretado presente no dentifrício fluoretado (fluoreto de sódio, monofluorofosfato de sódio, fluoreto estanhoso ou fluoreto de amina), não foram identificadas diferenças significativas entre a fração prevenida de cada um dos compostos.

Quinze estudos clínicos sobre a eficácia anticárie dos dentifrícios fluoretados publicados entre 2002 e 2008 foram avaliados em outra revisão sistemática (Twetman, 2009). O uso diário de dentifrício fluoretado foi fortemente associado a um efeito anticárie e a uma fração prevenida de 25%, a qual foi positivamente reforçada por fatores como escovação supervisionada, frequência de escovação de 2x/dia e o uso de dentifrícios com 1500 ppmF. Tais resultados endossam a importância dos dentifrícios fluoretados como métodos preventivos da cárie dentária em crianças.

Com relação à [F] no dentifrício e sua eficácia anticárie, estudos realizados no final da década de 80 e 90 (O'Mullane et al., 1997; Stephen et al., 1988) sugerem que, em dentifrícios com [F] entre 1.000 e 2.500 ppm F, para cada aumento de 500 ppmF na sua concentração, uma redução adicional de 6% na experiência de cárie é obtida. Entretanto, apesar de tal tendência ter sido verificada nestes estudos e nas revisões sistemáticas de Tweetman (2009) e Marinho (2003b), a relação entre riscos e benefícios de se aumentar a [F] nos dentifrícios deve

ser ponderada (Pessan et al., 2011), levando-se em consideração a idade das crianças e o risco à fluorose dentária.

Considerando a relação risco de desenvolvimento de fluorose *versus* benefícios anticárie, estudos tem sido realizados para avaliar o efeito preventivo de dentifrícios com baixas concentrações de flúor (<500 ppmF). Entretanto, a revisão sistemática de Walsh *et al.* (2010) apurou que reduções significativas no incremento de cárie só são observadas em quando se utiliza dentifrícios com concentração maior ou igual a 1000ppmF. Portanto, dentifrícios com concentrações menores que 1000ppmF são menos efetivos no controle da cárie dentária, sendo sua eficácia comparável a de dentifrícios placebo em pacientes cárie ativos.

O efeito anticárie do flúor é resultante de sua presença na cavidade bucal e participação nos processos des-re. Este flúor, obtido a partir do acesso a fontes de flúor de base comunitária e/ou a métodos de auto-aplicação/aplicação profissional, estará armazenado na superfície dentária na forma de fluoreto de cálcio, fluorapatita e/ou no biofilme dentário.

A discussão da existência de reservatórios intraorais de flúor iniciou-se com Duckworth *et al.* (1987), quando o mesmo verificou que a [F] salivar somente se tornou estável 10 a 14 dias após iniciado o uso diário de bochechos fluoretados e que a [F] salivar somente retornou aos níveis basais duas semanas após interrupção do uso bochechos fluoretados. Os autores sugeriram que a [F] salivar se tornou estável após a saturação de reservatórios intraorais de flúor e que o retorno ao nível basal de flúor só foi possível após a depleção deste nesses mesmos reservatórios, que o liberaram lenta e gradualmente para a saliva a fim de mantê-la saturada em relação a este íon.

A [F] na saliva é resultante da [F] presente na saliva excretada pelos ductos salivares, associada à [F] presente nos produtos fluoretados (Bruun *et al.*, 1982; Bruun *et al.*, 1984) e nos alimentos. A [F] na saliva produzida pelas glândulas salivares maiores (sublingual, submandibulares e parótidas) corresponde a 2/3 da [F] no plasma sanguíneo e aparece não apresentar oscilações em decorrência do fluxo salivar (Ekstrand *et al.*, 1977; Oliveby *et al.*, 1989a; b; c). Considerando-se que a saliva proveniente das glândulas salivares apresenta uma [F] muito pequena, variando de 0,3 a 0,9  $\mu\text{M F/L}$  (Oliveby *et al.*, 1990a), parece razoável afirmar que esta não represente uma importante fonte de flúor para o biofilme e demais reservatórios intraorais de flúor (Rölla and Ekstrand, 1996). Por outro lado, após a utilização de bochechos e dentifrícios fluoretados, a [F] na saliva total é rápida e significativamente aumentada (Bruun *et al.*, 1982; Bruun *et al.*, 1984) e, neste momento, torna-se uma importante fonte de flúor para os demais reservatórios. Entretanto, a [F] na saliva é rapidamente diminuída 1 hora após a aplicação de produtos fluoretados, retornando aos valores basais de flúor após 3 a 6 horas (Dawes and Weatherell, 1990). Esta rápida redução na [F] na saliva parece estar diretamente relacionada ao fluxo salivar, ao volume de flúor distribuído na cavidade bucal, a variações

anatômicas individuais e ao número de dentes presentes na cavidade bucal (Lagerlöf et al., 1987). Primeiramente, a [F] na saliva é reduzida pelas deglutições sucessivas resultantes do fluxo salivar constante. Em seguida, o flúor é captado pelo biofilme, fluido do biofilme, superfície dentária e tecidos moles. Retornada a [F] aos níveis basais, a saliva deixa de ser uma importante fonte de flúor para o biofilme. Neste momento, há uma tendência de mobilização de flúor dos reservatórios intraorais para a saliva, a fim de manter a sua saturação.

Os tecidos moles representam uma área de retenção de flúor. O flúor armazenado na intimidade dos tecidos moles na forma de HF, parece não ser facilmente liberada para a cavidade bucal (Rölla and Ekstrand, 1996). Já o flúor acumulado na superfície dos tecidos moles (tecidos conjuntivos, membranas celulares e fluídos mucosos) representa a porção de flúor mobilizável deste reservatório. Zero *et al.* (1992) observou que indivíduos edêntulos apresentaram uma maior [F] na saliva que indivíduos dentados, sugerindo que os tecidos moles sejam as maiores fontes de flúor para a saliva em repouso.

Grandes quantidades de flúor podem ser acumuladas na superfície dentária na forma de fluoreto de cálcio. Se o fluoreto de cálcio for posteriormente recoberto por biofilme, as mudanças de pH decorrentes do metabolismo bacteriano promoverão sua rápida mobilização e transferência tanto para o biofilme dentário quanto para as áreas desmineralizadas (Rölla and Ekstrand, 1996). Entretanto, se o fluoreto de cálcio acumulado sobre a superfície dentária não for recoberto pelo biofilme, o mesmo será mais lentamente liberado, auxiliando a manter uma concentração mínima de flúor na saliva (Rölla and Ekstrand, 1996) e a remineralizar os cristais parcialmente dissolvidos. Já o flúor adsorvido à estrutura do cristal (fluorapatita), independentemente da sua incorporação pré-eruptiva ou pós-eruptiva e da sua concentração, não representa um reservatório de flúor que possa ser mobilizado para a saliva ou biofilme (Vogel, 2011).

O biofilme é um importante reservatório de flúor na cavidade oral. A [F] no biofilme (peso seco) é 50 a 100 vezes maior do que aquela encontrada na saliva (Geddes and Bowen, 1990). A porção sólida do biofilme também apresenta uma maior [F] que o fluido do biofilme e o fluido crevicular. Portanto, o biofilme (porção sólida) parece capaz de reter e concentrar flúor mais eficazmente (Tatevossian, 1990). O flúor presente no biofilme pode estar na forma iônica (livre), ionizável ou fortemente ligado (Ophaug et al., 1987). Sua concentração parece depender da concentração e da frequência de exposição a agentes fluoretados (Rölla and Ekstrand, 1996). O fluido do biofilme é a fase aquosa do biofilme que entra em contato com a superfície do esmalte, bactérias do biofilme, saliva e fluido crevicular, e que transporta tanto os ácidos oriundos do metabolismo bacteriano quanto flúor, cálcio, fosfato e outros íons para superfície do esmalte (Ekstrand et al., 1990; Rölla and Ekstrand, 1996). É no fluido do biofilme, portanto, que o flúor pode influenciar os processos de des-remineralização. A fase aquosa do biofilme é, enriquecida pelo flúor advindo da saliva e do fluido crevicular, assim como pelo flúor proveniente do fluoreto de cálcio presente na superfície do esmalte e no biofilme (Rölla and Ekstrand, 1996).

Acredita-se que o flúor presente na porção sólida do biofilme esteja depositado de diversas formas. O flúor pode ser depositado no interior das bactérias, quando da queda do pH, na forma de HF, assim como na superfície bacteriana (Rölla and Ekstrand, 1996). Uma vez que a superfície bacteriana é carregada negativamente, íons cálcio presentes na saliva e fluido do biofilme se ligam a sua superfície, enquanto o flúor irá se associar a uma valência do cálcio. Segundo Rose *et al.* (1996), o cálcio se liga a superfície bacteriana através de ligações bivalentes com os grupamentos ácidos. Na presença do flúor, esta ligação bivalente seria rompida, havendo a ligação de uma das valências do cálcio com um grupamento ácido e outra com o flúor. Considerando a área superficial total que as superfícies de todas as bactérias presentes no biofilme representam, este pode ser considerado mecanismo de retenção do flúor quantitativamente efetivo (Rölla and Ekstrand, 1996). O flúor também pode

se acumular no biofilme na forma de fluoreto de cálcio quando da aplicação de agentes fluoretados com concentração maior que 100 ppmF. Frente a um desafio cariogênico, os depósitos de flúor do biofilme localizados na superfície das bactérias e na forma de fluoreto de cálcio são mobilizados para atuar nos processos de des-reminalização que ocorrem na interface entre o fluido do biofilme e a superfície dentária (Rølla and Saxegaard, 1990). A quantificação de flúor “total” no biofilme é resultado da quantidade de flúor presente no biofilme na forma de fluoreto de cálcio e ligado à superfície bacteriana e quantidade de flúor presente no fluido do biofilme.

De todos os reservatórios intraorais de flúor, o biofilme parece ser o mais importante, uma vez que estudos demonstram uma relação inversamente proporcional entre a [F] no biofilme e a prevalência de cárie (Agus et al., 1976; Gaugler and Bruton, 1982; Hartshorne et al., 1994; Margolis and Moreno, 1992; Nobre dos Santos et al., 2002). O flúor presente no biofilme e o acumulado na superfície do esmalte serão, portanto, decisivos nos processos de des-remineralização do esmalte (Rølla and Ekstrand, 1996).

### **Implicações do acesso a fontes de flúor de base comunitária e a métodos auto-aplicação de flúor na [F] do biofilme**

Diversos estudos têm sido realizados para verificar a relação entre o acesso à água fluoretada, sal fluoretado, bochechos fluoretados e dentifrícios fluoretados, e a [F] no biofilme.

Sampaio e Arneberg (1999) realizaram um estudo em duas cidades do interior da Paraíba (Brasil), no qual avaliaram o efeito da [F] na água de abastecimento na [F] do biofilme. Nestas comunidades, não havia acesso a outras fontes de flúor de base e a produtos fluoretados de auto-aplicação. Indivíduos residentes na comunidade com 2 ppmF na água apresentaram uma [F] no biofilme duas vezes maior que aquela encontrada na comunidade com 0,1 ppmF na água, porém sem diferença estatisticamente significativa. A ausência de



diferença significativa, segundo os autores, parece estar associada à variação na [F] no biofilme observada entre os indivíduos em ambos os grupos. Já Nobre dos Santos e Cury (1988) observaram que a [F] no biofilme seis meses antes da descontinuação da fluoretação da água de abastecimento (0,8 ppm F) era significativamente maior do que aquela verificada dois meses após a sua cessação (0,06 ppm F na água). Mais recentemente, estudos realizados por Whitford e colaboradores avaliaram a [F] no biofilme de indivíduos residentes em uma comunidade com água fluoretada (0,75 – 1,0 ppmF) (Whitford et al., 2002) e em uma comunidade sem qualquer fonte de flúor de base comunitária (Whitford et al., 2005). Em ambos os estudos, os indivíduos utilizaram dentifrício fluoretado e placebo em um desenho experimental cruzado. Ao comparar os resultados obtidos nos estudos de 2002 e 2005, Whitford *et al.* (2005) concluiu que a [F] no biofilme foi significativamente maior na comunidade com água fluoretada após o uso de dentifrício placebo, indo de encontro com os achados de Sampaio e Arneberg (1999) e Nobre dos Santos & Cury (1988). Nos estudos de Pessan *et al.* (2008) e Pessan *et al.* (2010), a [F] no biofilme de crianças de 8 a 10 anos, residentes três comunidades (Pirajuí, 0,04 ppm F na água; Bauru, 0,72 - 0,85 ppm F na água; e Brejo de Freitas, 3,36 - 3,5 ppm F na água), foi avaliada. Em ambos os estudos a [F] na água de abastecimento influenciou significativamente a [F] no biofilme após o uso de dentifrício placebo, apenas na comunidade com 3,36 - 3,5 ppm F na água.

A influência do sal fluoretado na [F] do biofilme só foi avaliada em um estudo clínico. Assim como a água fluoretada, os resultados deste estudo indicam que o sal fluoretado parecer aumentar significativamente a [F] no biofilme. Este estudo comparou grupos que consumiram alimentos preparados com sal fluoretado ou sal não fluoretado, e que utilizaram dentifrício não fluoretado durante todo o período experimental (Björnström et al., 2004).

Com relação aos bochechos fluoretados, Duckworth *et al.* (1987) observou uma relação dose-resposta entre o conteúdo de flúor dos bochechos de fluoreto de sódio (NaF 100, 250, e

1000 ppmF) e a [F] no biofilme. Outros estudos demonstraram que a [F] no biofilme era maior quando utilizadas soluções fluoretadas em relação a soluções placebo (Geddes and McNee, 1982; Vogel et al., 1997; Vogel et al., 2001; Vogel et al., 2008). Oliveby *et al.* (1990b) verificou que bochechos de sacarose fluoretados resultaram em concentrações de flúor significativamente maiores no biofilme, quando comparadas àquelas obtidas com o bochecho puro de sacarose.

Com relação ao dentifrício fluoretado, algumas considerações devem ser feitas em relação ao sua influência na [F] do biofilme. Apesar de estar claramente estabelecido que o mesmo aumenta significativamente a [F] no biofilme (Birkeland, 1972; Cury et al., 2001; Heijnsbroek et al., 2006; Magalhães et al., 2007; Paes Leme et al., 2004; Pessan et al., 2006; Pessan et al., 2008; Pessan et al., 2010; Sidi and Wilson, 1991; Tenuta et al., 2009; Vale et al., 2011; Whitford et al., 2002; Whitford et al., 2005), sua relação dose-efeito, sua influência na [F] do biofilme ao longo do tempo e seu efeito em áreas com diferentes métodos de fluoretação comunitária são tópicos que merecem ser discutidos.

Enquanto Duckworth e Morgan (1991), Cury *et al.* (2010), Tenuta *et al.* (2009), Nordström e Birkhed (2013) observaram uma relação direta entre a [F] do dentifrício e a [F] do biofilme, Pessan *et al.* (2010) não observou diferenças na [F] no biofilme quando dentifrícios de 513mgF/Kg e 1072 mg F/Kg foram utilizados. Da mesma forma, Nordström e Birkhed (2009) não observaram diferenças quando dentifrícios de 5000ppmF e 1450ppmF foram aplicados. Os resultados do estudo de Paes Leme *et al.* (2004) sugerem a existência de um limite de incorporação de flúor pelo biofilme, uma vez que não houve um aumento significativo da [F] no biofilme frente a associação de fluorfosfato acidulado ao uso diário de dentifrício fluoretado. Assim como Paes Leme *et al.* (2004), Whitford *et al.* (2005) também sugere que exista um limite de incorporação de flúor ao biofilme, uma vez que a [F] no biofilme após o uso dentifrício fluoretado em comunidade não-fluoretada foi semelhante aquela observada após

a utilização de dentifrício placebo em comunidade fluoretada. Os autores questionaram o porquê de a diferença de [F] entre a água fluoretada e dentifrício fluoretado não ser refletida na [F] no biofilme, uma vez que a concentração deste é cerca de 1000 vezes maior do que aquela. Whitford *et al.* (2005) discutiu que que o  $\text{CaF}^+$  e o  $\text{CaF}_2$  acumulados na superfície do biofilme, em decorrência da utilização do dentifrício fluoretado, seriam menos suscetíveis a penetrar no biofilme que íons de flúor livres, e que dessa forma seriam mais facilmente deglutidos ou expectorados. Além de não penetrarem profundamente no biofilme tais compostos criariam uma barreira superficial que impediria a penetração de íons de flúor para o interior do biofilme. Uma vez que estes complexos de cálcio e flúor ocorrem em menor escala quando o há acesso a flúor em uma menor concentração (ex.: água fluoretada), não haveria a formação de uma barreira superficial. Assim, uma penetração proporcionalmente maior de flúor iônico no biofilme ocorreria. Pessan *et al.* (2010) também obteve resultados que indicam um limite de incorporação de flúor ao biofilme, uma vez que a [F] no biofilme da comunidade que apresentava água de abastecimento a 3,36 ppmF, não foi significativamente influenciada pelo uso de dentifrícios fluoretados de diferentes concentrações (513 mg F/Kg e 1072 mg F/Kg).

Estudos que avaliam o efeito do dentifrício fluoretado na [F] no biofilme de indivíduos residentes em comunidades com diferentes concentrações de flúor na água de abastecimento apresentam resultados divergentes. Whitford *et al.* (2005) verificou que a [F] no biofilme de indivíduos residentes em uma comunidade com água fluoretada foi significativamente maior que a [F] no biofilme observada nos indivíduos residentes em uma comunidade sem água fluoretada. Assim, o dentifrício fluoretado não eliminou a diferença na [F] no biofilme observada quando dentifrícios não-fluoretados foram utilizados nestas populações. Contrariamente, outros estudos observaram que a diferença existente na [F] no biofilme de indivíduos residentes em comunidades com diferentes níveis de flúor na água foi eliminada quando do uso regular de dentifrício fluoretado (Pessan *et al.*, 2008; Pessan *et al.*, 2010).

A fim de melhor elucidar a deposição e penetração de flúor no biofilme, Watson *et al.* (2005) realizou um estudo em biofilmes formados *in vivo*, durante um período de 7 dias, no qual dentifrício fluoretado (NaF 1100 ppmF) foi utilizado. Os biofilmes foram removidos da cavidade bucal sem que o mesmo sofresse distúrbios mecânicos. Parte das amostras receberam diferentes tipos de tratamentos *ex-vivo* (imersão em solução de NaF a 1000ppmF por 30 s, 120 s ou 30 min, sendo os dois primeiros períodos seguidos ou não por imersão em solução de saliva artificial por 30 s ou 12 h), enquanto outras foram mantidas sem tratamento para controle. A [F] nos biofilmes expostos a NaF por 30 min foi significativamente maior (de 3 a 8 vezes) que as obtidas nos demais grupos (tratamento e controle). As amostras expostas a NaF por 30 ou 120 segundos (seguidas ou não de lavagem em saliva por 30s) foram significativamente maiores que as do grupo controle (de 2 a 3 vezes). Estes resultados indicam que a penetração de flúor no biofilme ocorre lentamente. Portanto, este pode ser o motivo para a escovação dentária com dentifrício fluoretado não proporcionar um aumento na [F] no biofilme proporcional a sua [F] (relação dose-efeito negativa).

Com relação à influência do dentifrício fluoretado na [F] do biofilme ao longo do tempo, não existe consenso na literatura. Uma série de estudos observou que o uso de dentifrício fluoretado resultou em uma maior [F] no biofilme que o uso de dentifrício não fluoretado, mesmo 6h (Heijnsbroek *et al.*, 2006), 10h (Paes Leme *et al.*, 2004), 12h (Cury *et al.*, 2001; Magalhães *et al.*, 2007; Pessan *et al.*, 2008; Pessan *et al.*, 2010; Whitford *et al.*, 2005) e 18h (Duckworth and Morgan, 1991) após a última escovação com dentifrício fluoretado. Já outros estudos não observaram diferença no efeito dos dentifrícios placebo e fluoretado sobre a [F] no biofilme 12h após a última escovação com dentifrício fluoretado (Pessan *et al.*, 2006; Whitford *et al.*, 2002).

Whitford *et al.* (2005) sugere que a [F] no biofilme parece ser influenciada pelo uso de dentifrício fluoretado após 12 horas quando esta é comparada ao uso de dentifrício placebo

em populações sem fontes de flúor de base comunitária. Seguindo o raciocínio de Whitford *et al.* (2005), Heijnsbroek *et al.* (2006) e Duckworth e Morgan (1991) podem ter observado diferenças significativas em virtude de seus estudos terem sido realizados em localidades nas quais parecia não haver acesso a métodos de fluoretação comunitários. Já os estudos de Pessan *et al.* (2008; 2010) foram realizados em comunidades com os suplementos de água insatisfatoriamente (Pirajuí, 0,04 ppm F na água), idealmente (Bauru, 0,72 - 0,85 ppm F na água) e excessivamente fluoretados (Brejo de Freitas, 3,36 - 3,5 ppm F na água). Seus resultados demonstram que a [F] no biofilme permaneceu significativamente maior 12 horas após a escovação com dentifrício fluoretado em relação à escovação com dentifrício placebo nas comunidades insatisfatória e idealmente fluoretadas, enquanto o mesmo não foi verdadeiro para a comunidade excessivamente fluoretada (Pessan *et al.*, 2008). Entretanto, no estudo de Pessan *et al.* (2010) a [F] no biofilme (12 horas após a última escovação) das comunidades insatisfatoriamente fluoretada e excessivamente fluoretada não foram significativamente influenciadas pelo uso de dentifrício fluoretado, quando comparado ao uso de dentifrício placebo. A comparação dos resultados de Pessan *et al.* 2008 e 2010 demonstra uma inconsistência dos autores em demonstrarem a influência em longo prazo do dentifrício fluoretado sobre a [F] no biofilme. Já os estudos de Paes Leme *et al.* (2004), Magalhães *et al.* (2007) e Cury *et al.* (2001) realizados *in situ*, podem ter superestimado a manutenção da [F] no biofilme, uma vez que a metodologia aplicada nestes estudos que não representa fielmente os fenômenos que ocorrem na cavidade bucal. Portanto, existe uma clara divergência na literatura quanto a influência em longo prazo do dentifrício fluoretado sobre a [F] no biofilme.

### **Experiência de cárie relacionada à [F] no biofilme**

A relação entre cárie e [F] no biofilme foi observada em vários estudos.

Agus *et al.* (1976) investigou a experiência de cárie de crianças de 9 a 13 anos residentes em 3 comunidades (uma com [F] menor que 0,1ppm e duas com 1 ppm de flúor na água). A análise da [F] no biofilme demonstrou uma correlação inversa significativa entre a experiência de cárie e a [F] no biofilme. Gaugler e Bruton (1982) analisaram a [F] no biofilme de recrutas militares. Os indivíduos foram divididos em dois grupos (livres de cárie e cárie ativos). Uma diferença significativa entre a [F] no biofilme dos indivíduos livres de cárie e aquela dos indivíduos cárie ativos foi observada. O grupo de indivíduos livres de cárie apresentou uma [F] média 40% maior que os indivíduos cárie ativos. Margolis e Moreno (1992) verificaram que a [F] do biofilme coletado previamente ao início do experimento era maior em indivíduos livres de cárie do que em indivíduos com experiência de cárie. Apesar desta tendência ter sido observada nos grupos de indivíduos com 18 a 22 anos e com 10 a 15 anos, a diferença somente foi significativa no grupo de 10 a 15 anos. Os autores não discutiram o motivo para tal diferença entre os grupos, entretanto possivelmente a faixa etária e a localização geográfica podem justificar esta diferença. Hartshorne *et al.* (1994) avaliou a relação entre a [F] no biofilme e a experiência de cárie em 177 crianças africanas. Observou que as crianças residentes em comunidades com 0,4 a 1,6 e >1,6ppmF apresentavam uma correlação inversa significativa entre a [F] no biofilme e a experiência de cárie. Apesar de as crianças não terem acesso a escova dental e apresentarem uma dieta cariogênica, sua experiência de cárie era baixa. Assim, os autores concluíram que a reduzida experiência de cárie observada nessas populações se devia a [F] no biofilme. Nobre Dos Santos *et al.* (2002) analisou a [F] no biofilme de 60 crianças de 18 a 48 meses que foram agrupadas em três grupos de acordo com a sua experiência de cárie (livre de cárie, cárie em fôssulas e fissuras ou cárie de mamadeira). A [F] no biofilme de crianças livres de cárie foi significativamente maior que a de crianças pertencentes ao demais grupos. Contudo, não houve correlação significativa entre ceo-d e [F] no biofilme. Os autores discutem que a ausência de tal correlação possa estar

relacionada com o fato de o biofilme ter sido coletado apenas 1 hora após a refeição, a qual pode ter afetado a sua composição.

A [F] no biofilme de indivíduos livres de cárie foi significativamente maior que aquela observada nos indivíduos com cárie (Agus et al., 1976; Gaugler and Bruton, 1982; Hartshorne et al., 1994; Margolis and Moreno, 1992; Nobre dos Santos et al., 2002), evidenciando a importância da presença do flúor no biofilme na prevenção da cárie dentária.

## *Objetivos*

---



## **Objetivo geral**

Analisar a [F] no biofilme de indivíduos expostos a água fluoretada ou a sal fluoretado associados ou não a dentifrício fluoretado.

## **Objetivos específicos**

1. Comparar a [F] no biofilme de indivíduos expostos à água fluoretada à [F] no biofilme de indivíduos expostos ao sal fluoretado
2. Comparar a [F] no biofilme de indivíduos expostos à água fluoretada à [F] no biofilme de indivíduos expostos ao sal fluoretado após o uso de dentifrício fluoretado (1.100 ppm F) em ambos os grupos
3. Comparar a [F] no biofilme de indivíduos residentes em zona com água fluoretada expostos ou não a dentifrício fluoretado (1.100 ppm F)
4. Comparar a [F] no biofilme de indivíduos usuários de sal fluoretado expostos ou não a dentifrício fluoretado (1.100 ppm F)

*Artigo Científico*

---

**Dental biofilm fluoride concentration of subjects exposed to different community-based fluoride sources**

Mua, B.<sup>a</sup> Fager, A.O.F.<sup>b</sup>, Loureiro, L.A.<sup>b</sup>, Jardim, J.J.<sup>a</sup>, Hashizume, L.N.<sup>a</sup>, Arthur, R.A.<sup>a</sup>, Maltz, M.<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Federal University of Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.

<sup>b</sup> Faculty of Dentistry of the Republic University of Uruguay, Montevideo, Montevideo, Uruguay.

**Corresponding author**

Marisa Maltz

Faculdade de Odontologia – UFRGS

Departamento de Odontologia Preventiva e Social

Ramiro Barcelos, 2492, Bom Fim

CEP 90035-003 (Brazil)

Tel +55 51 33085193

Fax +55 51 33085189

E-mail: [marisa.maltz@gmail.com](mailto:marisa.maltz@gmail.com)

**Key words**

Key Words: fluoride, fluoride dentifrice, dental plaque, drinking water, table salt.

## Abstract

The aim of this study was to compare the fluoride concentration in dental biofilm of subjects living in fluoridated- salt (FS) or water (FW) areas and to determine the effect of fluoride dentifrice on the fluoride concentration [F] in dental biofilm of these subjects. Sixteen individuals residing in Montevideo (FS) and sixteen individuals living in Porto Alegre (FW) participated in this randomized, double-blind, crossover study. Dental prophylaxis and scaling were performed prior to each experimental phase. During the experimental phases (14d/each) subjects brushed their teeth, 2x/day, with fluoridated dentifrice (FD) or non-fluoridated fluoride (NFD). Dental biofilm samples were collected 8 hours after the last toothbrushing. Analyses were performed with a fluoride ion-specific electrode and the reading was transformed into  $\mu\text{gF}^-/\text{g}$  biofilm. Generalized estimating equations were used to analyze the variance for repeated measures and the differences in each outcome. Higher biofilm [F] was found in FS ( $2.69\pm 0.10$  CI 2.48–2.89) compared to FW ( $2.44\pm 0.06$  CI 2.32–2.57) areas under regular use of NFD ( $p = 0.047$ ). However, no significant differences were found on dental biofilm [F] between FW ( $2.60\pm 0.12$  CI 2.37–2.83) and FS ( $2.81\pm 0.10$  CI 2.62–3.01) areas under FD use ( $p = 0.153$ ). Furthermore, no significant difference was observed in the biofilm [F] when FD or NFD were used in the FS ( $p = 0.294$ ) and FW ( $p = 0.320$ ) areas. The higher dental biofilm [F] was found in FS areas under NFD use may not have clinical significance once it disappeared when FD was used.

## Introduction

The worldwide caries experience reduction observed during the last decades has been attributed to regular use of fluoride (Bratthall et al., 1996). Its presence in the right place (biofilm fluid and saliva) and at the right time (during acidification of dental biofilm/tooth interface) is claimed to interfere with de- and remineralization events (Cury and Tenuta, 2008). Dental biofilm is an important fluoride reservoir whose concentrations are 50 to 100 times higher than in the saliva (Geddes and Bowen, 1990). It is important to have continuous fluoride access – by regular use of fluoride dentifrices and/or by community-based fluoride sources, such as fluoridated- salt or water, to maintain a constant fluoride concentration in biofilm and saliva. It is known that the cariostatic action promoted by regular fluoride use is obtained even under low fluoride concentrations, so sub-ppm-fluoride-levels available in both saliva and biofilm fluid will enhance the remineralization of enamel and dentin (Gibbs et al., 1995). Moreover, some studies have reported that biofilm fluoride concentration is inversely related to caries experience (Agus et al., 1976; Nobre dos Santos et al., 2002).

Many studies have reported a positive correlation between the use of fluoride dentifrices and the increase in dental biofilm fluoride concentration (Pessan et al., 2006; Pessan et al., 2008; Pessan et al., 2010; Tenuta et al., 2009; Whitford et al., 2002; Whitford et al., 2005). Access to continuous low-fluoride concentrations provided by fluoridated water is also responsible for an increase in biofilm fluoride concentration (Pessan et al., 2008; Pessan et al., 2010; Whitford et al., 2002). The consumption of fluoridated salt is also able to increase fluoride concentration in dental biofilm (Björnström et al., 2004). This study has shown high fluoride concentration in dental biofilm even two-hours after the ingestion of a snack prepared with fluoridated salt. However, besides this above mentioned study there is not any other available information about fluoride concentration in dental biofilm of subjects living in fluoridated salt areas.

Considering that salt fluoridation is known to be a cost-effective community strategy for decreasing dental caries (WHO, 1994) and it is an alternative to communities where water fluoridation is unavailable (Petersen and Lennon, 2004), this study compared the fluoride concentration in dental biofilm of subjects living in fluoridated- salt (FS) or water (FW) areas of two different communities. It also intended to determine whether the use of fluoride dentifrice affects dental biofilm fluoride concentration 8 hours after the toothbrushing. Our hypothesis is that there is not difference in dental biofilm fluoride concentration irrespective to the community-source of fluoride (salt or water) and there is no effect of fluoridated dentifrice on dental biofilm fluoride concentration after 8 hours.

## **Materials and methods**

### Participants

Sixteen Brazilian subjects (aged  $24 \pm 2$  years) and sixteen Uruguayan subjects (aged  $27 \pm 10$  years) participated in this double-blind, cross-over, randomized, controlled study, performed in two phases of 14 days each (Figure). Participants were residents of their respectively cities, presented good oral health and at least three posterior teeth per quadrant, were not using orthodontic appliance, did not received professional topical fluoride application or used antibiotics during the two months prior to the beginning of the experiment. Subjects were exposed to FW (0.7 – 1 ppm) in Porto Alegre (Brazil) and to FS (250 mg F/Kg) in Montevideo (Uruguay) both as community-based fluoride sources. The research protocol was approved by the Research Ethics Committee of Federal University of Rio Grande do Sul (protocol # 92,941) and of the Faculty of Dentistry of the Republic University of Uruguay. All subjects signed an informed written consent before the beginning of the study.

## Sample size calculation, blinding and allocation procedures

The sample size calculation was based on a difference of 0.3 mmol F/kg in the subjects dental biofilm fluoride concentration between communities with different water fluoride concentration (0.04 and 0.72 ppm F) (Pessan et al., 2010), at  $\alpha = 5\%$  with a power of 95%. This indicated the need for 12 subjects per group. Taking into account a dropout rate of 30%, the number of subjects was 16 per group. In order to ensure blinding of all participants and operators, both dentifrices (fluoridated and non-fluoridated) had the same taste, color, were labeled with standardized tags, and the samples were coded. The allocation sequence, participants' enrollment, and participants' assignment to interventions were performed by an operator who was not involved in the sample collection and analysis.

## Experimental design

Subjects from Porto Alegre and from Montevideo were allocated in two groups: Fluoridated dentifrice – FD (1100 ppm F as NaF, silica-based, Condor Junior™, Condor S/A, São Bento do Sul, Brazil) and non-fluoridated dentifrice – NFD (silica-based, Condor Baby™, Condor S/A, São Bento do Sul, Brazil). Subjects were instructed to use these products two times a day during 14d and not to use any other fluoride-containing dental products during the study. Before the beginning of each phase, professional dental prophylaxis and scaling were performed to remove dental biofilm and calculus. During the first experimental phase, subjects used FD or NFD according to the randomization, and in the second experimental phase subjects had crossed-over regimens. Subjects were instructed to gently rinse 10 mL of tap water after toothbrushing. At the pre-experimental (PE) phase and wash-out period all subjects used NFD (Figure). Prior to the biofilm sampling, subjects were instructed to allow biofilm accumulation at the posterior teeth during 48 h. Only anterior teeth were brushed with the correspondent dentifrice, 2x/day, during 1 minute, and the subjects should grant the slurry to

reach the posterior teeth. The last toothbrushing was performed in the morning and dental biofilm was collected from the posterior teeth 8h later. Subjects were instructed to do not drink or eat during 2 hours prior to dental biofilm collection. Dental biofilm was collected from buccal, lingual and interproximal surfaces of molars and premolars from upper and lower jaws by a dentine excavator. Samples were stored and kept at  $-20^{\circ}\text{C}$  until the fluoride analysis.

#### F analysis of dental biofilm

Dental biofilms were desiccated in the presence of  $\text{P}_2\text{O}_5$  for 48h (Pearce et al., 1984). The dry weight of the samples was then determined by an analytical balance (Sartorius, Gottingen, Germany) and 0,1mg of HCl (0.5 M) was added to each 10 mg of biofilm dry weight. Samples were constantly agitated during 3h at room temperature to allow fluoride extraction. The same volume of Total Ionic Strength Adjustment Buffer (TISAB) II (containing 20g NaOH/l) was then added to the samples which were centrifuged for 5 minutes at  $11,000 \times g$  (Eppendorf, Hamburg, Germany). The supernatant was collected and stored at  $-20^{\circ}\text{C}$  (Cury et al., 2000). The fluoride concentration in the supernatant was performed in triplicate, using a fluoride-sensitive electrode (ORION 96-09, Orion Research Inc., Beverly, USA) connected to an ion analyzer SA-720 (Procyon Instrumentos Científicos, São Paulo, Brazil). In order to evaluate the fluoride content, calibration curves were drawn from standardized solutions containing known amounts of fluoride ranging from 0.1–16 ppm F. The standard solutions were prepared by serial dilution of a 100ppm F stock solution (ORION 940907, Orion Research Inc., Beverly, USA). The readings were expressed in millivolt (mV) and transformed into  $\mu\text{gF/mL}$  by linear regression of the calibration curve. The results were expressed in  $\mu\text{gF/g}$  biofilm.

#### Statistical analysis

Data reliability was analyzed by interclass correlation coefficient (ICC). Data of fluoride concentrations were not normally distributed and they were log transformed. Even after log transformation, data of fluoride concentrations of NFD in fluoridated salt area remained with



not normal distribution (Shapiro-Wilk test  $p < 0.05$ ). Two outliers were removed from the group NDF in fluoridated water community. The generalized estimating equations (GEE) were used to analyze the variance for repeated measures and the differences in each outcome. A significance level of 5% was selected. The software IBM SPSS Statistics version 20.0.0 for Windows was used.

## Results

The ICC of the fluoride concentration readings, based on triplicate sample analysis, was 0.986. One Uruguayan volunteer dropped out of the study during the last experimental phase. So, the group NFD in fluoridated salt community had 15 analyzed samples and the group NFD in fluoridated water community had 14 analyzed samples due to two outlier cases removal (3.66 and 3.40  $\mu\text{g F/g}$ ). The other groups had 16 analyzed samples each (Table 1). Participants had no important harm or unintended effects as caries or gingivitis during the study.

The results of GEE analysis are shown in Table 1. Statistically higher fluoride concentration was found on dental biofilm of subjects living in FS areas when NFD was used, than in the dental biofilm of subjects living in FW area using the same dentifrice ( $p=0.047$ ) No difference was observed between these two community fluoridation methods when FD was introduced. Irrespective to the community-based fluoride source, no significant differences of dentifrice use were found in fluoride concentration on dental biofilms ( $p>0.05$ ).

## Discussion

Higher fluoride concentration on dental biofilms was found in FS area compared to FW area under NFD use. However, this difference was small ( $0.55 \pm 0.18 \mu\text{F/g}$ ). No difference was observed between the two community-based fluoride sources (FS and FW) when FD was

introduced. Furthermore, dental biofilm fluoride concentration was not increased by FD in both communities. However, dental biofilm fluoride concentration was affected by the community-based fluoride source when NFD was regularly used.

In the present study, no increase in dental biofilm fluoride concentration was observed 8 hours after the use of FD in the area with different community-based fluoride sources (FS and FW). There is no consensus in the literature about fluoride concentration in dental biofilm of subjects living in areas supplied with FW under regular use of FD. Pessan et al. (2008) and Pessan et al (2010) have found that FD increases dental biofilm fluoride concentration. However, Whitford et al. (2002) and Pessan et al. (2006) did not observe this event, which is in agreement with the data provided by the present study. Previous studies that evaluated the effect of fluoride from dentifrices and from other local-action fluoridated products also did not have shown an effect on dental biofilm fluoride concentration during most time of the day (Oliveby et al., 1990; Whitford et al., 2005; Zero et al., 1992). The reason for the lack of increase in the fluoride concentration in dental biofilm could be due to the fact that fluoride does not penetrate deeply into the biofilm (Watson et al., 2005), being easily lost to the oral environment. In addition, the continuous access to fluoride in low concentrations, such as FW and FS, seems to occupy almost all biofilm long-term fluoride binding sites, reducing the biofilm fluoride uptake (Whitford et al., 2005). Furthermore, the similar fluoride concentration found in the biofilm 8 hours after FD use could be explained by the time that the last toothbrushing was performed. In the present study, the last toothbrushing occurred in the morning and the fluoride concentration was measured 8h later. In addition to that, dental biofilm samples were collected 2 hours after the last meal and drink, which might have resulted in higher salivary flow and salivary clearance than that observed in studies that perform the measurement of biofilm fluoride concentration after an overnight period (Pessan et al., 2008; Pessan et al., 2010).

Fluoride concentration in finger- and toenails were significantly higher in children living in the FS area compared to children living in FW area (Buzalaf *et al.*, 2011). The significantly higher concentrations of fluoride on dental biofilms of subjects living in FS area under regular use of NFD found in our study are in agreement with these findings. The difference in dental biofilm fluoride concentration of subjects living in two areas with different community-based fluoride sources was absent when FD was regularly used ( $p>0.05$ ). Similar results were observed in studies that assessed the biofilm fluoride concentration of individuals from communities with different FW concentration. (Pessan *et al.*, 2008; Pessan *et al.*, 2010).

The higher dental biofilm fluoride concentration found in the subjects using NFD in the FS area compared to FW area may not have any clinical influence in the occurrence and progression of dental caries, once this difference disappeared when FD was used.

### **Acknowledgements**

We thank the volunteers for their valuable participation in the study and the Condor S/A (São Bento do Sul, Santa Catarina, Brazil) for donating the dentifrices.

### **References**

- Agus HM, Schamschula RG, Barmes DE, Bunzel M (1976). Associations between the total fluoride content of dental plaque and individual caries experience in Australian children. *Community Dent Oral Epidemiol* 4(5):210-214.
- Björnström H, Naji S, Simic D, Sjöström I, Twetman S (2004). Fluoride levels in saliva and dental plaque after consumption of snacks prepared with fluoridated salt. *Eur J Paediatr Dent* 5(1):41-45.
- Bratthall D, Hänsel-Petersson G, Sundberg H (1996). Reasons for the caries decline: what do the experts believe? *Eur J Oral Sci* 104(4 ( Pt 2)):416-422; discussion 423-415, 430-412.
- Cury JA, Rebelo MA, Del Bel Cury AA, Derbyshire MT, Tabchoury CP (2000). Biochemical composition and cariogenicity of dental plaque formed in the presence of sucrose or glucose and fructose. *Caries Res* 34(6):491-497.
- Geddes D, Bowen W (1990). Summary of Session III: Fluoride in Saliva and Dental Plaque. *Journal of Dental Research* 69(special issue):1.

- Gibbs CD, Atherton SE, Huntington E, Lynch RJ, Duckworth RM (1995). Effect of low levels of fluoride on calcium uptake by demineralized human enamel. *Arch Oral Biol* 40(9):879-881.
- Nobre dos Santos M, Melo dos Santos L, Francisco SB, Cury JA (2002). Relationship among dental plaque composition, daily sugar exposure and caries in the primary dentition. *Caries Res* 36(5):347-352.
- Oliveby A, Weetman DA, Geddes DA, Lagerlöf F (1990). The effect of salivary clearance of sucrose and fluoride on human dental plaque acidogenicity. *Arch Oral Biol* 35(11):907-911.
- Pearce EI, Hancock EM, Gallagher IH (1984). The effect of fluorhydroxyapatite in experimental human dental plaque on its pH, acid production and soluble calcium, phosphate and fluoride levels following glucose challenge. *Arch Oral Biol* 29(7):521-527.
- Pessan JP, Sicca CM, de Souza TS, da Silva SM, Whitford GM, Buzalaf MA (2006). Fluoride concentrations in dental plaque and saliva after the use of a fluoride dentifrice preceded by a calcium lactate rinse. *Eur J Oral Sci* 114(6):489-493.
- Pessan JP, Silva SM, Lauris JR, Sampaio FC, Whitford GM, Buzalaf MA (2008). Fluoride uptake by plaque from water and from dentifrice. *J Dent Res* 87(5):461-465.
- Pessan JP, Alves KM, Ramires I, Taga MF, Sampaio FC, Whitford GM *et al.* (2010). Effects of regular and low-fluoride dentifrices on plaque fluoride. *J Dent Res* 89(10):1106-1110.
- Tenuta LM, Zamataro CB, Del Bel Cury AA, Tabchoury CP, Cury JA (2009). Mechanism of fluoride dentifrice effect on enamel demineralization. *Caries Res* 43(4):278-285.
- Watson PS, Pontefract HA, Devine DA, Shore RC, Nattress BR, Kirkham J *et al.* (2005). Penetration of fluoride into natural plaque biofilms. *J Dent Res* 84(5):451-455.
- Whitford GM, Wasdin JL, Schafer TE, Adair SM (2002). Plaque fluoride concentrations are dependent on plaque calcium concentrations. *Caries Res* 36(4):256-265.
- Whitford GM, Buzalaf MA, Bijella MF, Waller JL (2005). Plaque fluoride concentrations in a community without water fluoridation: effects of calcium and use of a fluoride or placebo dentifrice. *Caries Res* 39(2):100-107.
- WHO, World Health Organization (1994). Fluorides and Oral Health. In: WHO Technical Report Series Nr. 846. Geneva.
- Zero DT, Raubertas RF, Fu J, Pedersen AM, Hayes AL, Featherstone JD (1992). Fluoride concentrations in plaque, whole saliva, and ductal saliva after application of home-use topical fluorides [published eerratum appears in *J Dent Res* 1993 Jan;72(1):87]. *J Dent Res* 71(11):1768-1775.

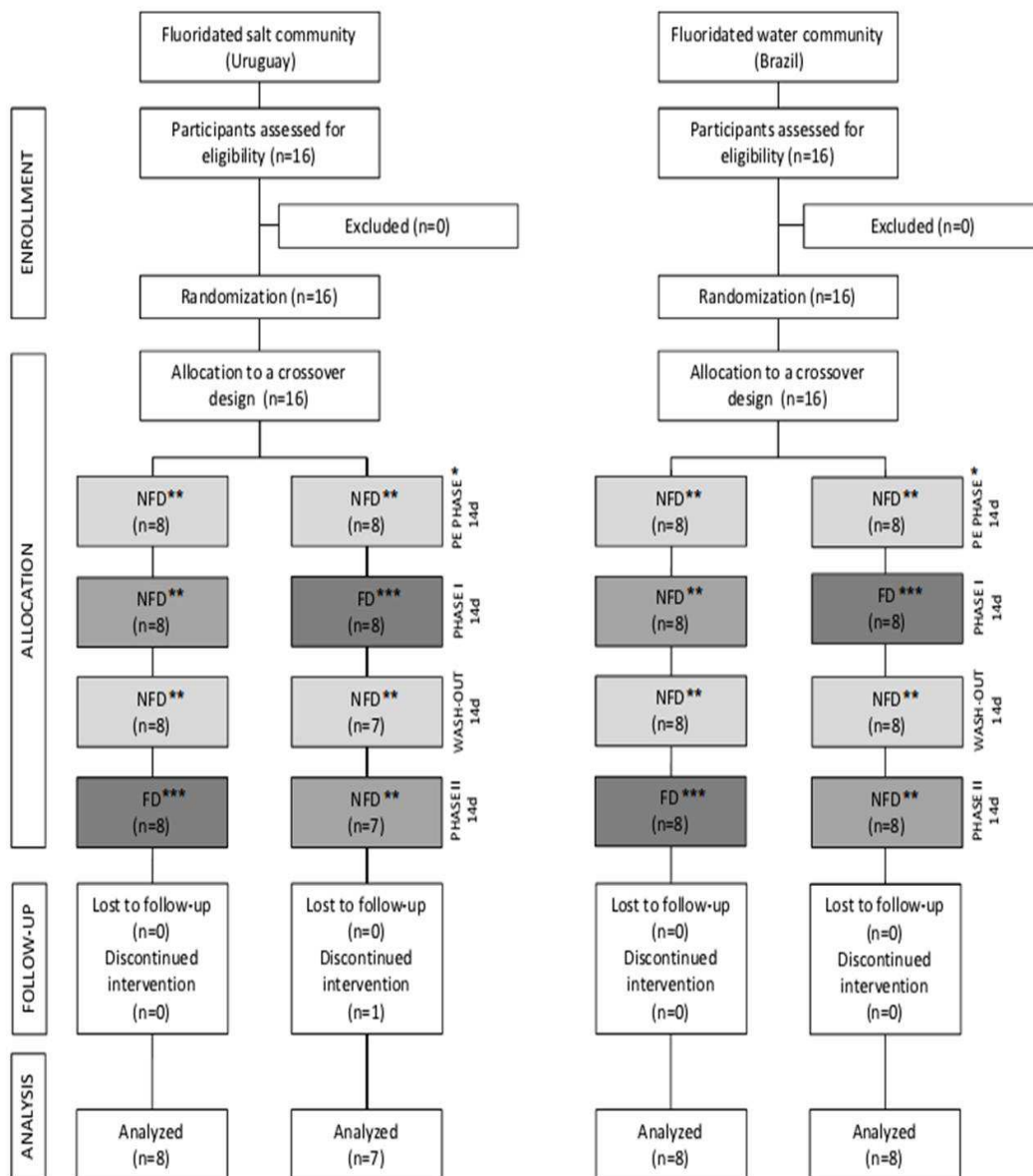


Figure. The study flow chart. \*Pre-experimental phase; \*\* Non-fluoridated dentifrice; \*\*\* Fluoridated dentifrice.

Table 1: Number of samples of each group, mean  $\pm$  SE ( $\log_{10}$ ) and confidence interval values of biofilm fluoride concentration ( $\mu\text{g F/g}$ ) and according to dentifrice use and community-based fluoride sources.

		FW (Porto Alegre, Brazil)	FS (Montevideo, Uruguay)
NFD	n = 14	2.44 $\pm$ 0.06 <sup>Ab</sup> (2.32 – 2.57)	n = 15 2.69 $\pm$ 0.10 <sup>Ac</sup> (2.48 – 2.89)
FD	n = 16	2.60 $\pm$ 0.12 <sup>Aa</sup> (2.37 – 2.83)	n = 16 2.81 $\pm$ 0.10 <sup>Aa</sup> (2.62 – 3.01)

Values in the same column with the same upper-case superscript letter are not significantly different. Values in the same row with the same lower-case superscript letter are not significantly different ( $p > 0.05$ ). Comparisons were performed by GEE test.

FW: fluoridated-water; FS: fluoridated-salt; NFD = non-fluoridated dentifrice; FD = fluoridated dentifrice.

## *Considerações finais*

---

No presente estudo não foi observado um efeito em longo prazo do dentífrico fluoretado na [F] do biofilme dental, uma vez que não houve um aumento significativo na [F] no biofilme dental dos indivíduos 8h após o uso de dentífrico fluoretado em ambas as comunidades.

O acesso a sal fluoretado promoveu uma [F] significativamente maior no biofilme que o acesso à água fluoretada, quando indivíduos não tiveram acesso a dentífrico fluoretado. A maior [F] no biofilme observada nos indivíduos residentes em uma área com sal fluoretado e que utilizaram dentífrico não-fluoretado regularmente, parece não ter influência na ocorrência e progressão da cárie dentária, uma vez que esta diferença deixou de existir quando o dentífrico fluoretado foi utilizado regularmente em ambas as comunidades.



## Referências bibliográficas

---

Agus HM, Schamschula RG, Barmes DE, Bunzel M (1976). Associations between the total fluoride content of dental plaque and individual caries experience in Australian children. *Community Dent Oral Epidemiol* 4(5):210-214.

Arends J, Christoffersen J (1990). Nature and role of loosely bound fluoride in dental caries. *J Dent Res* 69 Spec No(601-605; discussion 634-606.

Arnold FA, Dean HT, Knutson JW (1953). Effect of fluoridated public water supplies on dental caries prevalence. *Public Health Rep* 68(2):141-148.

Arnold FA, Likins RC, Russell AL, Scott DB (1962). Fifteenth year of the Grand Rapids fluoridation study. *J Am Dent Assoc* 65(780-785.

Attwood D, Blinkhorn AS (1991). Dental health in schoolchildren 5 years after water fluoridation ceased in south-west Scotland. *Int Dent J* 41(1):43-48.

Baysan A, Lynch E, Ellwood R, Davies R, Petersson L, Borsboom P (2001). Reversal of primary root caries using dentifrices containing 5,000 and 1,100 ppm fluoride. *Caries Res* 35(1):41-46.

Bibby BG, Wilkins E, Witol E (1955). A preliminary study of the effects of fluoride lozenges and pills on dental caries. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 8(2):213-216.

Birkeland JM (1972). Fluoride content of dental plaque after brushing with a fluoride dentrifice. *Scand J Dent Res* 80(1):80-81.

Björnström H, Naji S, Simic D, Sjöström I, Twetman S (2004). Fluoride levels in saliva and dental plaque after consumption of snacks prepared with fluoridated salt. *Eur J Paediatr Dent* 5(1):41-45.

Blayney JR, Hill IN (1964). Evanston dental caries study. XXIV. Prenatal fluorides--value of waterborne fluorides during pregnancy. *J Am Dent Assoc* 69(291-294.

Brasil (2011). Pesquisa Nacional de Saúde Bucal 2010: Resultados principais. In: Md Saúde editor. Brasília.

Bratthall D, Hänsel-Petersson G, Sundberg H (1996). Reasons for the caries decline: what do the experts believe? *Eur J Oral Sci* 104(4 ( Pt 2)):416-422; discussion 423-415, 430-412.

British Fluoridation Society (2012). The extent of fluoridation worldwide. One in a Million: the facts about water fluoridation: American Dental Association.

Brunelle JA, Carlos JP (1990). Recent trends in dental caries in U.S. children and the effect of water fluoridation. *J Dent Res* 69 Spec No(723-727; discussion 820-723.

Bruun C, Lambrou D, Larsen MJ, Fejerskov O, Thylstrup A (1982). Fluoride in mixed human saliva after different topical fluoride treatments and possible relation to caries inhibition. *Community Dent Oral Epidemiol* 10(3):124-129.

Bruun C, Givskov H, Thylstrup A (1984). Whole saliva fluoride after toothbrushing with NaF and MFP dentifrices with different F concentrations. *Caries Res* 18(3):282-288.

Burne RA, Marquis RE (2001). Biofilm acid/base physiology and gene expression in oral bacteria. *Methods Enzymol* 337(403-415).

Burt BA, Eklund SA, Loesche WJ (1986). Dental benefits of limited exposure to fluoridated water in childhood. *J Dent Res* 65(11):1322-1325.

Burt BA, Marthaler TM (1996). Fluoride tablets, salt fluoridation, and milk fluoridation. In: Fluorides in Dentistry. O Fejerskov and J Ekstrand editors. Copenhagen: Munksgaard.

Buzalaf MA, Pessan JP, Honório HM, ten Cate JM (2011). Mechanisms of action of fluoride for caries control. *Monogr Oral Sci* 22(97-114).

Caufield PW, Wannemuehler Y (1984). pH-dependent bactericidal effects of acidulated fluoride gels on preformed plaque aggregates of *Streptococcus mutans* 6715. *Antimicrob Agents Chemother* 26(6):807-810.

Centers for Disease Control and Prevention (1999). Ten great public health achievements--United States, 1900-1999. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 48(12):241-243.

Churchill HV (1931). Occurrence of fluoride in some waters of the United States. *Ind Eng Chem* 23(996-998).

Clarke TA, Yousafzai FK, Eady RR (1999). Klebsiella pneumoniae nitrogenase: formation and stability of putative beryllium fluoride-ADP transition state complexes. *Biochemistry* 38(31):9906-9913.

Cury JA, Hashizume LN, Del Bel Cury AA, Tabchoury CP (2001). Effect of dentifrice containing fluoride and/or baking soda on enamel demineralization/remineralization: an in situ study. *Caries Res* 35(2):106-110.

Cury JA, do Amaral RC, Tenuta LM, Del Bel Cury AA, Tabchoury CP (2010). Low-fluoride toothpaste and deciduous enamel demineralization under biofilm accumulation and sucrose exposure. *Eur J Oral Sci* 118(4):370-375.

Darío Restrepo D, Gillespie GM, Vélez H (1972). Estudio sobre la fluoruración de la sal / Study of salt fluoridation. *Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana (OSP)* 73(5):418-423.

Dawes C, Weatherell JA (1990). Kinetics of fluoride in the oral fluids. *J Dent Res* 69 Spec No(638-644; discussion 682-633).

Dean HT, Elvove E (1936). Some Epidemiological Aspects of Chronic Endemic Dental Fluorosis. *Am J Public Health Nations Health* 26(6):567-575.

Dean HT (1938). Endemic fluorosis and its relationship to dental caries. *Public Health Rep* 53(1443-1452).

Dean HT, Jay P, Arnold FA, Elvove E (1941). Domestic water and dental caries. II. A study of 2,832 white children, aged 12-14 years, of 8 suburban Chicago communities, including *Lactobacillus acidophilus* studies of 1,761 children. *Public Health Rep* 56(761-792).

Dean HT, Arnold FA (1942). Domestic water and dental caries. V, Additional studies of the relation of fluoride domestic waters to dental caries experience : in 4,425 white children, aged 12 to 14 years of 13 cities in 4 states. *Public Health Rep* 57(1155-1179).

Dean HT, Arnold FA, Elvove E (1942). Domestic water and dental caries V. Additional Studies of the Relation of Fluoride Domestic Waters to Dental Caries Experience in 4,425 White Children, Aged 12 to 14 Years, of 13 Cities In 4 States. *Public Health Reports* 57(32):38.

Dini EL, Holt RD, Bedi R (2000). Prevalence of caries and developmental defects of enamel in 9-10 year old children living in areas in Brazil with differing water fluoride histories. *Br Dent J* 188(3):146-149.

Duarte FF, Pisaneschi E, Cury JA (1999). Avaliação do flúor dos dentifrícios mais consumidos no Brasil e comercializados nas cinco regiões do país. *Rev ABOPREV* 2(2):3-10.

Duckworth RM, Morgan SN, Murray AM (1987). Fluoride in saliva and plaque following use of fluoride-containing mouthwashes. *J Dent Res* 66(12):1730-1734.

Duckworth RM, Morgan SN (1991). Oral fluoride retention after use of fluoride dentifrices. *Caries Res* 25(2):123-129.

Duschner H, Götz H, Ogaard B (1997). Fluoride-induced precipitates on enamel surface and subsurface areas visualised by electron microscopy and confocal laser scanning microscopy. *Eur J Oral Sci* 105(5 Pt 2):466-472.

Eisenberg AD, Marquis RE (1980). Uptake of fluoride by cells of *Streptococcus mutans* in dense suspensions. *J Dent Res* 59(7):1187-1191.

Ekstrand J, Alván G, Boréus LO, Norlin A (1977). Pharmacokinetics of fluoride in man after single and multiple oral doses. *Eur J Clin Pharmacol* 12(4):311-317.

Ekstrand J, Spak CJ, Vogel G (1990). Pharmacokinetics of fluoride in man and its clinical relevance. *J Dent Res* 69 Spec No(550-555; discussion 556-557).

Ellwood RP, Fejerskov O, Cury JA, Clarkson BH (2008). Fluorides in caries control. In: *Dental caries: the disease and its clinical management*. O Fejerskov and EAM Kidd editors. Oxford: Blackwell Munksgaard Ltd, pp. 287 - 323.

Evans RW, Hsiau AC, Dennison PJ, Patterson A, Jalaludin B (2009). Water fluoridation in the Blue Mountains reduces risk of tooth decay. *Aust Dent J* 54(4):368-373.

Featherstone JD, Rodgers BE (1981). Effect of acetic, lactic and other organic acids on the formation of artificial carious lesions. *Caries Res* 15(5):377-385.

Featherstone JD, Glana R, Shariati M, Shields CP (1990). Dependence of in vitro demineralization of apatite and remineralization of dental enamel on fluoride concentration. *J Dent Res* 69 Spec No(620-625; discussion 634-626).

- Featherstone JD (1999). Prevention and reversal of dental caries: role of low level fluoride. *Community Dent Oral Epidemiol* 27(1):31-40.
- Gaugler RW, Bruton WF (1982). Fluoride concentration in dental plaque of naval recruits with and without caries. *Arch Oral Biol* 27(3):269-272.
- Geddes D, Bowen W (1990). Summary of Session III: Fluoride in Saliva and Dental Plaque. *Journal of Dental Research* 69(special issue):1.
- Geddes DA (1975). Acids produced by human dental plaque metabolism in situ. *Caries Res* 9(2):98-109.
- Geddes DA, McNee SG (1982). The effect of 0.2 per cent (48 mM) Naf rinses daily on human plaque acidogenicity in situ (stephan curve) and fluoride content. *Arch Oral Biol* 27(9):765-769.
- Gillespie GM, Baez R (2005). Development of salt fluoridation in the Americas. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 115(8):663-669.
- Glenn FB, Glenn WD, Duncan RC (1982). Fluoride tablet supplementation during pregnancy for caries immunity: a study of the offspring produced. *Am J Obstet Gynecol* 143(5):560-564.
- Hamilton IR (1990). Biochemical effects of fluoride on oral bacteria. *J Dent Res* 69 Spec No(660-667; discussion 682-663).
- Hartshorne JE, Grobler SR, Louw AJ, Carstens IL, Laubscher JA (1994). The relationship between plaque index scores, fluoride content of plaque, plaque pH, dental caries experience and fluoride concentration in drinking water in a group of primary school children. *J Dent Assoc S Afr* 49(1):5-10.
- Heijnsbroek M, Gerardu VA, Buijs MJ, van Loveren C, ten Cate JM, Timmerman MF *et al.* (2006). Increased salivary fluoride concentrations after post-brush fluoride rinsing not reflected in dental plaque. *Caries Res* 40(5):444-448.
- Horowitz HS (1989). Grand Rapids: The Public Health Story. *J Public Health Dent* 49(1):62-63.
- Jones S, Burt BA, Petersen PE, Lennon MA (2005). The effective use of fluorides in public health. *Bull World Health Organ* 83(9):670-676.
- Klein H (1946). Dental caries (DMF) experienced by relocated children exposed to water containing fluorine. *J Am Dent Assoc* 33(1136-1141).
- Koo H (2008). Strategies to enhance the biological effects of fluoride on dental biofilms. *Adv Dent Res* 20(1):17-21.
- Kuhns C (1888). *Dt Mschr Zahnheilk* 6(446) *apud* Pereira, AC. Odontologia em saúde coletiva. Planejando ações e promovendo saúde. Cap. 14, p. 265-74. Porto Alegre, Artmed, 2003.
- Kumar JV (2008). Is water fluoridation still necessary? *Adv Dent Res* 20(1):8-12.
- Künzel W (1982). Reduction in caries after 7 years of water fluoridation under climatic conditions in Cuba. *Caries Res* 16(3):272-276.

- Künzel W (1993). Systemic use of fluoride--other methods: salt, sugar, milk, etc. *Caries Res* 27 Suppl 1(16-22).
- Künzel W, Fischer T, Lorenz R, Brühmann S (2000). Decline of caries prevalence after the cessation of water fluoridation in the former East Germany. *Community Dent Oral Epidemiol* 28(5):382-389.
- Lagerlöf F, Oliveby A, Ekstrand J (1987). Physiological factors influencing salivary clearance of sugar and fluoride. *J Dent Res* 66(2):430-435.
- LeGeros RZ (1991). Calcium phosphates in oral biology and medicine. *Monogr Oral Sci* 15(1-201).
- Leverett DH, Adair SM, Vaughan BW, Proskin HM, Moss ME (1997). Randomized clinical trial of the effect of prenatal fluoride supplements in preventing dental caries. *Caries Res* 31(3):174-179.
- Limeback H (1999). A re-examination of the pre-eruptive and post-eruptive mechanism of the anti-caries effects of fluoride: is there any anti-caries benefit from swallowing fluoride? *Community Dent Oral Epidemiol* 27(1):62-71.
- Luoma H, Nyman A, Toivonen A, Söderholm S, Nuuja T, Kantero RL *et al.* (1979). Effect of caries in mentally handicapped children of addition of fluoride and bicarbonate-phosphate to dietary sugar products. *Scand J Dent Res* 87(3):197-207.
- Lynch RJ, Navada R, Walia R (2004). Low-levels of fluoride in plaque and saliva and their effects on the demineralisation and remineralisation of enamel; role of fluoride toothpastes. *Int Dent J* 54(5 Suppl 1):304-309.
- Magalhães AC, Furlani TeA, Italiani FeM, Iano FG, Delbem AC, Buzalaf MA (2007). Effect of calcium pre-rinse and fluoride dentifrice on remineralisation of artificially demineralised enamel and on the composition of the dental biofilm formed in situ. *Arch Oral Biol* 52(12):1155-1160.
- Margolis FJ, Reames HR, Freshman E, MaCauley CD, Mehaffey H (1975). Flouride. Ten-year prospective study of deciduous and permanent dentition. *Am J Dis Child* 129(7):794-800.
- Margolis HC, Moreno EC, Murphy BJ (1986). Effect of low levels of fluoride in solution on enamel demineralization in vitro. *J Dent Res* 65(1):23-29.
- Margolis HC, Moreno EC (1992). Composition of pooled plaque fluid from caries-free and caries-positive individuals following sucrose exposure. *J Dent Res* 71(11):1776-1784.
- Marinho VC, Higgins JP, Logan S, Sheiham A (2003a). Fluoride mouthrinses for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev* 3):CD002284.
- Marinho VC, Higgins JP, Sheiham A, Logan S (2003b). Fluoride toothpastes for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev* 1):CD002278.
- Marquis RE, Clock SA, Mota-Meira M (2003). Fluoride and organic weak acids as modulators of microbial physiology. *FEMS Microbiol Rev* 26(5):493-510.

Marthaler TM (1967). The value in caries prevention of other methods of increasing fluoride ingestion, apart from fluoridated water. *Int Dent J* 17(3):606-618.

Marthaler TM (2005). Increasing the public health effectiveness of fluoridated salt. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 115(9):785-792.

Maupomé G, Clark DC, Levy SM, Berkowitz J (2001). Patterns of dental caries following the cessation of water fluoridation. *Community Dent Oral Epidemiol* 29(1):37-47.

McKay FS (1928). The relation of mottled enamel to dental caries. *J Am Dent Assoc* 15(1429-1437).

Ministerio de Salud Pública de Uruguay (1999). Encuesta de salud bucal en escolares de 11 a 14 años. In: Sector Publico editor. Montevideo: Uruguay.

Mulyani D, McIntyre J (2002). Caries inhibitory effect of fluoridated sugar in a trial in Indonesia. *Aust Dent J* 47(4):314-320.

Murphy AJ, Coll RJ (1992). Fluoride is a slow, tight-binding inhibitor of the calcium ATPase of sarcoplasmic reticulum. *J Biol Chem* 267(8):5229-5235.

Murray JJ, Rugg-Gunn AJ, Jenkins G (1991). Community fluoridation schemes throughout the world. In: Fluorides in caries prevention. Oxford: Wright, pp. 76-93.

Nelson DG (1981). The influence of carbonate on the atomic structure and reactivity of hydroxyapatite. *J Dent Res* 60 Spec No C(1621-1629).

Nelson DG, Jongebloed WL, Arends J (1983). Morphology of enamel surfaces treated with topical fluoride agents: SEM considerations. *J Dent Res* 62(12):1201-1208.

Nobre dos Santos M, Cury JA (1988). Dental plaque fluoride is lower after discontinuation of water fluoridation. *Caries Res* 22(5):316-317.

Nobre dos Santos M, Melo dos Santos L, Francisco SB, Cury JA (2002). Relationship among dental plaque composition, daily sugar exposure and caries in the primary dentition. *Caries Res* 36(5):347-352.

Nordström A, Mystikos C, Ramberg P, Birkhed D (2009). Effect on de novo plaque formation of rinsing with toothpaste slurries and water solutions with a high fluoride concentration (5,000 ppm). *Eur J Oral Sci* 117(5):563-567.

Nordström A, Birkhed D (2013). Effect of a third application of toothpastes (1450 and 5000 ppm F), including a 'massage' method on fluoride retention and pH drop in plaque. *Acta Odontol Scand* 71(1):50-56.

O'Mullane DM (1995). Reducing the cariogenic effect of sugar by adding fluoride to sugar--project background. *Adv Dent Res* 9(1):6-8.

O'Mullane DM, Kavanagh D, Ellwood RP, Chesters RK, Schafer F, Huntington E *et al.* (1997). A three-year clinical trial of a combination of trimetaphosphate and sodium fluoride in silica toothpastes. *J Dent Res* 76(11):1776-1781.

- Ogaard B, Rölla G, Ruben J, Dijkman T, Arends J (1988). Microradiographic study of demineralization of shark enamel in a human caries model. *Scand J Dent Res* 96(3):209-211.
- Oliveby A, Lagerlöf F, Ekstrand J, Dawes C (1989a). Studies on fluoride concentrations in human submandibular/sublingual saliva and their relation to flow rate and plasma fluoride levels. *J Dent Res* 68(2):146-149.
- Oliveby A, Lagerlöf F, Ekstrand J, Dawes C (1989b). Studies on fluoride excretion in human whole saliva and its relation to flow rate and plasma fluoride levels. *Caries Res* 23(4):243-246.
- Oliveby A, Lagerlöf F, Ekstrand J, Dawes C (1989c). Influence of flow rate, pH and plasma fluoride concentrations on fluoride concentration in human parotid saliva. *Arch Oral Biol* 34(3):191-194.
- Oliveby A, Twetman S, Ekstrand J (1990a). Diurnal fluoride concentration in whole saliva in children living in a high- and a low-fluoride area. *Caries Res* 24(1):44-47.
- Oliveby A, Weetman DA, Geddes DA, Lagerlöf F (1990b). The effect of salivary clearance of sucrose and fluoride on human dental plaque acidogenicity. *Arch Oral Biol* 35(11):907-911.
- Ophaug RH, Jenkins GN, Singer L, Krebsbach PH (1987). Acid diffusion analysis of different forms of fluoride in human dental plaque. *Arch Oral Biol* 32(7):459-461.
- Paes Leme AF, Dalcico R, Tabchoury CP, Del Bel Cury AA, Rosalen PL, Cury JA (2004). In situ effect of frequent sucrose exposure on enamel demineralization and on plaque composition after APF application and F dentifrice use. *J Dent Res* 83(1):71-75.
- Page DJ (1991). A study of the effect of fluoride delivered from solution and dentifrices on enamel demineralization. *Caries Res* 25(4):251-255.
- Pessan JP, Sicca CM, de Souza TS, da Silva SM, Whitford GM, Buzalaf MA (2006). Fluoride concentrations in dental plaque and saliva after the use of a fluoride dentifrice preceded by a calcium lactate rinse. *Eur J Oral Sci* 114(6):489-493.
- Pessan JP, Silva SM, Lauris JR, Sampaio FC, Whitford GM, Buzalaf MA (2008). Fluoride uptake by plaque from water and from dentifrice. *J Dent Res* 87(5):461-465.
- Pessan JP, Alves KM, Ramires I, Taga MF, Sampaio FC, Whitford GM *et al.* (2010). Effects of regular and low-fluoride dentifrices on plaque fluoride. *J Dent Res* 89(10):1106-1110.
- Pessan JP, Toumba KJ, Buzalaf MA (2011). Topical use of fluorides for caries control. *Monogr Oral Sci* 22(115-132).
- Phan TN, Kirsch AM, Marquis RE (2001). Selective sensitization of bacteria to peroxide damage associated with fluoride inhibition of catalase and pseudocatalase. *Oral Microbiol Immunol* 16(1):28-33.
- Reich E, Schmalz G, Bergmann RL (1992). Kariesbefall von Kindern nach unterschiedlich langer Applikation von Fluoridtabletten. *Dtsch Zahnarztl Z* 47(232-234).
- Richards A, Banting DW (1996). Fluoride toothpastes. In: Fluorides in Dentistry. O Fejerskov and J Ekstrand editors. Copenhagen: Muskgard, pp. 328-345.

Rose RK, Shellis RP, Lee AR (1996). The role of cation bridging in microbial fluoride binding. *Caries Res* 30(6):458-464.

Rugg-Gunn AJ, Do L (2012). Effectiveness of water fluoridation in caries prevention. *Community Dent Oral Epidemiol* 40 Suppl 2(55-64).

Russell AL (1949a). Dental effects of exposure to fluoride-bearing Dakota sandstone waters at various ages and for various lengths of time; patterns of dental caries inhibition as related to exposure span, to elapsed time since exposure, and to periods of calcification and eruption. *J Dent Res* 28(6):600-612.

Russell AL (1949b). Dental effects of exposure to fluoride-bearing Dakota sandstone waters at various ages and for various lengths of time; status of the permanent teeth of 339 children aged 11 to 15 years who used such water for 18 months prior to eruption of the first permanent molars. *J Dent Res* 28(3):298-309.

Rølla G, Ekstrand J (1996). Fluoride in oral fluids and dental plaque. In: Fluorides in Dentistry. O Fejerskov and J Ekstrand editors. Copenhagen: Munksgaard, pp. 215-229.

Rølla G, Saxegaard E (1990). Critical evaluation of the composition and use of topical fluorides, with emphasis on the role of calcium fluoride in caries inhibition. *J Dent Res* 69 Spec No(780-785; discussion 820-783).

Sagheri D, McLoughlin J, Clarkson JJ (2007). A comparison of dental caries levels in two communities with different oral health prevention strategies stratified in different social classes. *J Public Health Dent* 67(1):1-7.

Sampaio FC, Arneberg P (1999). Dental plaque fluoride and pH in children exposed to different water fluoride levels. *Acta Odontol Scand* 57(2):65-71.

Sampaio FC, Levy SM (2011). Systemic fluoride. *Monogr Oral Sci* 22(133-145).

Saxegaard E, Rølla G (1988). Fluoride acquisition on and in human enamel during topical application in vitro. *Scand J Dent Res* 96(6):523-535.

Seppä L, Kärkkäinen S, Hausen H (1998). Caries frequency in permanent teeth before and after discontinuation of water fluoridation in Kuopio, Finland. *Community Dent Oral Epidemiol* 26(4):256-262.

Shellis RP, Duckworth RM (1994). Studies on the cariostatic mechanisms of fluoride. *Int Dent J* 44(3 Suppl 1):263-273.

Sidi AD, Wilson RF (1991). Fluoride, calcium and inorganic phosphorus concentrations in approximal plaque collected from young adults 1 and 24 h after toothbrushing with fluoride toothpastes. *Caries Res* 25(5):330-334.

Slade GD, Sanders AE, Do L, Roberts-Thomson K, Spencer AJ (2013). Effects of fluoridated drinking water on dental caries in Australian adults. *J Dent Res* 92(4):376-382.

Spencer AJ, Armfield JM, Slade GD (2008). Exposure to water fluoridation and caries increment. *Community Dent Health* 25(1):12-22.



Stephen KW, Campbell D (1978). Caries reduction and cost benefit after 3 years of sucking fluoride tablets daily at school. A double-blind trial. *Br Dent J* 144(7):202-206.

Stephen KW, Creanor SL, Russell JI, Burchell CK, Huntington E, Downie CF (1988). A 3-year oral health dose-response study of sodium monofluorophosphate dentifrices with and without zinc citrate: anti-caries results. *Community Dent Oral Epidemiol* 16(6):321-325.

Sternweis PC, Gilman AG (1982). Aluminum: a requirement for activation of the regulatory component of adenylate cyclase by fluoride. *Proc Natl Acad Sci U S A* 79(16):4888-4891.

Stookey GK (1990). Critical evaluation of the composition and use of topical fluorides. *J Dent Res* 69 Spec No(805-812; discussion 820-803.

Sturr MG, Marquis RE (1990). Inhibition of proton-translocating ATPases of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus casei* by fluoride and aluminum. *Arch Microbiol* 155(1):22-27.

Takahashi N, Washio J (2011). Metabolomic effects of xylitol and fluoride on plaque biofilm in vivo. *J Dent Res* 90(12):1463-1468.

Tatevossian A (1990). Fluoride in dental plaque and its effects. *J Dent Res* 69 Spec No(645-652; discussion 682-643.

ten Cate JM, Duijsters PP (1983). Influence of fluoride in solution on tooth demineralization. II. Microradiographic data. *Caries Res* 17(6):513-519.

ten Cate JM, Featherstone JD (1991). Mechanistic aspects of the interactions between fluoride and dental enamel. *Crit Rev Oral Biol Med* 2(3):283-296.

ten Cate JM (1997). Review on fluoride, with special emphasis on calcium fluoride mechanisms in caries prevention. *Eur J Oral Sci* 105(5 Pt 2):461-465.

ten Cate JM (1999). Current concepts on the theories of the mechanism of action of fluoride. *Acta Odontol Scand* 57(6):325-329.

Tenuta LM, Zamataro CB, Del Bel Cury AA, Tabchoury CP, Cury JA (2009). Mechanism of fluoride dentifrice effect on enamel demineralization. *Caries Res* 43(4):278-285.

Thylstrup A, Bille J, Bruun C (1982). Caries prevalence in Danish children living in areas with low and optimal levels of natural water fluoride. *Caries Res* 16(5):413-420.

Todd MJ, Hausinger RP (2000). Fluoride inhibition of *Klebsiella aerogenes* urease: mechanistic implications of a pseudo-uncompetitive, slow-binding inhibitor. *Biochemistry* 39(18):5389-5396.

Twetman S (2009). Caries prevention with fluoride toothpaste in children: an update. *Eur Arch Paediatr Dent* 10(3):162-167.

Tóth K (1976). A study of 8 years' domestic salt fluoridation for prevention of caries. *Community Dent Oral Epidemiol* 4(3):106-110.

- Tóth K (1978). Ten years domestic salt fluoridation in Hungary. *Acta Paediatr Acad Sci Hung* 19(4):319-327.
- Vale GC, Tabchoury CP, Del Bel Cury AA, Tenuta LM, ten Cate JM, Cury JA (2011). APF and dentifrice effect on root dentin demineralization and biofilm. *J Dent Res* 90(1):77-81.
- Van Loveren C (1990). The antimicrobial action of fluoride and its role in caries inhibition. *J Dent Res* 69 Spec No(676-681; discussion 682-673).
- Vogel GL, Mao Y, Carey CM, Chow LC (1997). Increased overnight fluoride concentrations in saliva, plaque, and plaque fluid after a novel two-solution rinse. *J Dent Res* 76(3):761-767.
- Vogel GL, Zhang Z, Chow LC, Schumacher GE (2001). Effect of a water rinse on 'labile' fluoride and other ions in plaque and saliva before and after conventional and experimental fluoride rinses. *Caries Res* 35(2):116-124.
- Vogel GL, Schumacher GE, Chow LC, Takagi S, Carey CM (2008). Ca pre-rinse greatly increases plaque and plaque fluid F. *J Dent Res* 87(5):466-469.
- Vogel GL (2011). Oral fluoride reservoirs and the prevention of dental caries. *Monogr Oral Sci* 22(146-157).
- Walsh T, Worthington HV, Glenny AM, Appelbe P, Marinho VC, Shi X (2010). Fluoride toothpastes of different concentrations for preventing dental caries in children and adolescents. *Cochrane Database Syst Rev* 1):CD007868.
- Watson PS, Pontefract HA, Devine DA, Shore RC, Nattress BR, Kirkham J *et al.* (2005). Penetration of fluoride into natural plaque biofilms. *J Dent Res* 84(5):451-455.
- Wespi HJ, Bürgi W (1971). Salt-fluoridation and urinary fluoride excretion. *Caries Res* 5(1):89-95.
- Whitford GM, Wasdin JL, Schafer TE, Adair SM (2002). Plaque fluoride concentrations are dependent on plaque calcium concentrations. *Caries Res* 36(4):256-265.
- Whitford GM, Buzalaf MA, Bijella MF, Waller JL (2005). Plaque fluoride concentrations in a community without water fluoridation: effects of calcium and use of a fluoride or placebo dentifrice. *Caries Res* 39(2):100-107.
- WHO (2004). Fluorides. [http://www.who.int/oral\\_health/media/en/index1.html](http://www.who.int/oral_health/media/en/index1.html): World Health Organization.
- WHO (2009). Milk fluoridation for the prevention of dental caries Geneva: World Health Organization.
- Widenheim J, Birkhed D, Granath L, Lindgren G (1986). Preeruptive effect of NaF tablets on caries in children from 12 to 17 years of age. *Community Dent Oral Epidemiol* 14(1):1-4.
- Wiktorsson AM, Martinsson T, Zimmerman M (1992). Caries prevalence among adults in communities with optimal and low water fluoride concentrations. *Community Dent Oral Epidemiol* 20(6):359-363.

Yengopal V, Chikte UM, Mickenautsch S, Oliveira LB, Bhayat A (2010). Salt fluoridation: a meta-analysis of its efficacy for caries prevention. *SADJ* 65(2):60-64, 66-67.

Yeung CA, Hitchings JL, Macfarlane TV, Threlfall AG, Tickle M, Glenny AM (2005). Fluoridated milk for preventing dental caries. *Cochrane Database Syst Rev* 3):CD003876.

Zero DT, Raubertas RF, Pedersen AM, Fu J, Hayes AL, Featherstone JD (1992). Studies of fluoride retention by oral soft tissues after the application of home-use topical fluorides. *J Dent Res* 71(9):1546-1552.

Zero DT (2006). Dentifrices, mouthwashes, and remineralization/caries arrestment strategies. *BMC Oral Health* 6 Suppl 1(S9).