

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE APOIO À PESQUISA
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO À PESQUISA

**Análise da concentração do flúor na saliva de escolares submetidos a um
programa de promoção de saúde nas escolas.**

Bolsista: Cláudia Said Azevedo, CNPq.

MANAUS

2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
DEPARTAMENTO DE APOIO À PESQUISA
PROGRAMA INSTITUCIONAL DE INICIAÇÃO À PESQUISA

RELATÓRIO FINAL

PIB-S/0063/2013

**ANÁLISE DA CONCENTRAÇÃO DO FLÚOR NA SALIVA DE
ESCOLARES SUBMETIDOS A UM PROGRAMA DE PROMOÇÃO DE
SAÚDE NAS ESCOLAS.**

Bolsista: Cláudia Said Azevedo, CNPq.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Flávia Cohen Carneiro Pontes

Manaus

2014

Todos os direitos deste relatório são reservados à Universidade Federal do Amazonas, ao Núcleo de Estudo e Pesquisa em Ciência da Informação e aos seus autores. Parte deste relatório só poderá ser reproduzida para fins acadêmicos ou científicos.

Esta pesquisa, financiada pelo Conselho Nacional de Pesquisa – CNPq, através do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica da Universidade Federal do Amazonas, desenvolvida pelo Grupo de Pesquisa Saúde Bucal da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Amazonas.

RESUMO

A saliva tem papel fundamental nos processos de desmineralização e remineralização que caracterizam a doença cárie. Esse fato se deve, entre outras coisas, à sua capacidade tampão e é potencializado pela presença do fluoreto no meio, que não impede que ocorra a dissolução mineral, mas minimiza a quantidade perdida. Desta forma, esta pesquisa é um estudo prospectivo, para análise laboratorial da saliva, coletada de escolares em um programa de promoção de saúde bucal desenvolvido em escolas, como parte de um estudo de intervenção do tipo ensaio de campo, e este tem o objetivo de analisar um programa de promoção de saúde bucal nas escolas, testando duas abordagens distintas em escolares, na qual em um grupo (teste) além da distribuição de escovas de dente e dentifrícios fluoretados, também houve a construção de escovódromos nas escolas e a mudança da rotina escolar, enquanto o outro grupo (controle) apenas recebeu as escovas de dente e o dentifrício fluoretado. O objetivo específico desta pesquisa foi determinar a concentração de fluoreto presente na saliva dos escolares ao longo do tempo de intervenção (9 meses) e comparar essa concentração entre os escolares das escolas teste e controle. Para isso, amostras de saliva não estimulada foram coletadas de escolares das escolas participantes do programa em 2 momentos distintos: antes do início da intervenção e 9 meses após o início da intervenção. As amostras de saliva foram preparadas e a concentração de flúor nas mesmas foi obtida por meio de um eletrodo específico para íon F (Orion 96-09) acoplado a um analisador de íons (Orion 720-A), sendo calculada a partir da regressão linear das curvas de calibração. Os resultados obtidos foram analisados utilizando teste T pareado e teste T para amostras distintas e demonstraram uma redução nas concentrações de flúor tanto nas amostras das escolas teste quanto nas amostras das escolas controle, após 9 meses. Pode-se concluir que mesmo que tenha havido tal redução, os níveis salivares obtidos ao final do estudo podem ainda exercer efeito anticárie.

Palavras-chave: saliva; dentifrícios; flúor

ABSTRACT

Saliva plays a fundamental role in the demineralization and remineralization processes that characterize caries. Among other things, this is due to its buffering capacity and is potentiated by the presence of fluoride in the saliva, which does not prevent the mineral dissolution, but minimizes the amount lost. Thus, this research is a prospective study to laboratory analysis of saliva collected from students enrolled in a program of oral health promotion developed in schools as part of a broad intervention study. The intervention study is a field trial, which aims to analyze a program of oral health promotion in schools, testing two different approaches regarding the use of toothbrush and fluoride toothpaste. In the test schools, there is a daily supervised toothbrushing in the school, while in the control schools the toothbrushes and dentifrices are simply distributed at each 3 month. In the present study, the specific objective was to determine the fluoride concentration in saliva of students throughout the intervention period (9 months) and compare this concentration among students of the test and control schools. For this, at least 2.0 mL of saliva was collected from each student of the participating schools. Data collection was conducted in 2 different times: before the intervention and 9 months after the start of the intervention. Saliva samples were prepared and the fluoride concentration was obtained by a F-ion specific electrode (Orion 96-09) connected to an ion analyzer (Orion 720-A), which is calculated from the linear regression of the calibration curves. The results were analyzed using paired t-test and t-test for different samples and demonstrated a reduction in fluoride concentration in samples of test schools as well as in samples of control schools after 9 months. It can be concluded, that even if there was such a reduction, salivary fluoride levels obtained at the end of the study may also have an anti-caries effect.

Keywords: saliva; dentifrice; fluoride.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	7
2 OBJETIVOS.....	9
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	10
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	17
4.1 MATERIAIS.....	17
4.2 MÉTODO.....	17
5 RESULTADOS.....	21
6 DISCUSSÃO.....	22
7. CONCLUSÃO.....	24
REFERÊNCIAS.....	25

1. INTRODUÇÃO

A saliva é um fluido oral secretado pelas glândulas salivares e cujo componente mais abundante é a água (99%). São atribuídas a ela funções excretoras, digestivas, de limpeza e proteção. Além disso, possui componentes orgânicos, que compreendem proteínas e enzimas salivares, e componentes inorgânicos, dentre eles potássio, sódio, cloreto, bicarbonato, cálcio e fosfato (PINHEIRO, 2000). O pH da saliva depende da sua concentração de bicarbonato o que lhe confere sua capacidade tampão. Essa é caracterizada pela neutralização dos ácidos produzidos no biofilme dentário, que são responsáveis por diminuir o pH, levando a perda mineral. Assim, a saliva evita a dissolução dos dentes e também tende a repor pequenas perdas minerais que ocorrem diariamente em diferentes superfícies dentárias, dessa forma, tem papel importante nos processos de des e remineralização que caracterizam a doença cárie (TENUTA, CURY, 2004).

Os efeitos do processo de desmineralização, no qual há diminuição do pH, podem ser minimizados pela presença de fluoreto, que no meio, não impede que ocorra a dissolução da hidroxiapatita, mas tem efeitos importantes na quantidade total de mineral dissolvido. Mas o efeito do fluoreto incorporado ao dente é secundário e o que está presente na cavidade bucal, livre para interferir no processo de desmineralização e remineralização (des-re) do esmalte-dentina, é o principal responsável pelo efeito de redução da cárie. (TENUTA, CURY, 2004)

Toda concentração de fluoreto na saliva pode estar relacionada com as suas concentrações na interface dente-placa, que é o local de ação do efeito do fluoreto no controle da cárie (RICHARDS *et al*, 2013). O principal efeito do flúor deve-se à sua ação quando da presença no meio bucal, durante os processos de desmineralização e remineralização aos quais o esmalte é submetido (TENUTA, CURY, 2004). Têm-se sugerido que o flúor, mesmo em baixas concentrações, é necessário nos fluidos bucais para que se obtenha uma inibição máxima de cáries e a elevação contínua de sua concentração seria vantajosa. Assim, a

retenção do flúor após o uso de dentifrícios e enxaguatórios funcionaria como um reservatório, fornecendo certo grau de proteção contra a cárie (FUKUSHIMA *et al*, 2000).

Deve-se ressaltar, então, a importância de promover práticas de saúde, como a escovação com dentifrício fluoretado, nas escolas, como forma de manter as concentrações de flúor constantes no meio bucal, para o controle da doença cárie (RICHARDS *et al*, 2013). O Programa de Saúde na Escola, instituído pelo governo federal através do decreto 6286, em 5 de dezembro de 2007, tem essa finalidade, de contribuir para a formação integral dos estudantes da rede pública de educação básica por meio de ações de prevenção, promoção e atenção à saúde. (BRASIL, 2007)

Portanto, esta pesquisa teve como objetivo analisar a concentração de flúor presente na saliva coletada de escolares das escolas inseridas no PSE do município de Careiro da Várzea, interior do estado do Amazonas, comparando duas estratégias de preventivas distintas para a cárie dentária, desenvolvidas nestas escolas, ao longo de 9 meses de intervenção.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Esta pesquisa teve como objetivo analisar a concentração de fluoreto presente na saliva, em escolares do Município de Careiro da Várzea/AM, submetidos a duas estratégias distintas de promoção de saúde bucal.

2.2. Objetivos específicos

- Determinar a concentração de fluoreto presente na saliva dos escolares ao longo do tempo de intervenção (9 meses);
- Comparar a concentração de fluoreto presente na saliva entre os escolares das escolas teste e controle.

3. REVISÃO DE LITERATURA

Lopes *et al* (2008) realizaram um estudo com o objetivo de avaliar o efeito do consumo de água após a aplicação profissional de flúor na concentração do mesmo na saliva. O estudo do tipo ensaio clínico, cruzado, cego, randomizado contou com a participação de 15 crianças com idade entre 6 e 8 anos, com fluxo salivar normal, atividade de cárie e residentes em São Luís, Maranhão. Estas receberam instruções de higiene oral e um kit contendo escova de dente e um tubo de dentifrício fluoretado. Duas cores de escovas foram utilizadas para guiar os auxiliares na aplicação dos diferentes tratamentos. Uma semana antes do início e durante todo o período experimental, as crianças usaram apenas o dentifrício contido no kit. Nos dias de coleta não deveriam tomar café da manhã em casa e sim na escola, onde era servida uma refeição balanceada e padronizada. Sob a supervisão do investigador e de dois auxiliares, escovavam os dentes com uma quantidade padronizada de dentifrício e lhes era fornecida água para enxaguar. Além disso, cada criança recebia 2 ml de gel tópico de fluorfosfato acidulado por 1 minuto em moldeiras descartáveis e eram orientadas a não engolir, mas cuspir todo o excesso de gel em recipientes apropriados. Depois da aplicação do gel, as crianças eram divididas ao acaso em 2 grupos de acordo com a cor das suas escovas e recebiam os seguintes tratamentos: não enxaguar, nem ingerir líquidos ou sólidos por 120 minutos após a aplicação (grupo controle) ou beber um copo de 180 ml de água não fluoretada imediatamente após o procedimento (grupo teste). Aproximadamente 2 ml de saliva não estimulada foi coletada em recipientes plásticos com tampa, após a aplicação do gel em 6 intervalos de tempo; 0, 5, 15, 30, 60 e 120 minutos. Após um período de 7 dias (período de *washout*), os grupos teste e controle foram trocados. As amostras de saliva foram analisadas 15 dias após o início do experimento, utilizando eletrodo específico para flúor conectado a um analisador de íons. Para análise estatística, os dados de ambos os grupos

foram comparados nos diferentes tempos através de teste para amostras pareadas. Os resultados mostraram uma diferença significativa na retenção de flúor entre os grupos apenas nos tempos 0 a 5 minutos. Foi observada uma acentuada diminuição na retenção de flúor nos primeiros 5 minutos em ambos os grupos, com um decréscimo menos acentuado a partir deste tempo. Concluíram que a recomendação para os pacientes evitarem beber água por 30 minutos após a aplicação profissional de flúor é excessiva e pode ser reduzida para 15 minutos.

Zamataro *et al* (2008) avaliaram o efeito do enxague com água após a escovação com dentifrícios contendo baixa concentração de flúor e dentifrícios com concentração convencional. Para isso, cinco adultos com idade entre 20 e 37 anos e fluxo salivar normal participaram do estudo cruzado e cego. Foram utilizados dois tipos de dentifrício, sendo um de baixa concentração de flúor, contendo 500 ppm F e outro convencional, contendo 1100 ppm F, ambos contendo NaF. Em um momento do estudo, os participantes deveriam realizar o enxague com 15 ml de água destilada após a escovação e em outro momento o enxague não era realizado. Os tipos de dentifrício e os protocolos de enxague eram escolhidos ao acaso e ao final do experimento cada participante deveria ter realizado quatro combinações de procedimentos: 1. Dentifrício com 1100 ppm, sem enxague; 2. Dentifrício com 1100 ppm, com enxague; 3. Dentifrício com 500 ppm, sem enxague; 4. Dentifrício com 500 ppm, com enxague. As amostras de saliva eram coletadas no mínimo 2 horas após o café da manhã, e durante o período da coleta, 60 minutos, não deveriam falar, beber ou comer. Nenhum período de *washout*, sem flúor foi recomendado. Amostras de saliva foram coletadas antes e imediatamente após a escovação e até 60 minutos depois. Para determinação da concentração de flúor na saliva, utilizaram eletrodo invertido associado a um micromanipulador para fechar o circuito e permitir a análise. Obtiveram como resultado a diminuição da biodisponibilidade do flúor salivar em 2,5 vezes quando foi realizado o enxague com água, independente da

concentração do dentifrício e ainda biodisponibilidade duas vezes menor para o dentifrício com baixa concentração de flúor, comparado ao dentifrício convencional. A biodisponibilidade do flúor salivar foi similar tanto para o dentifrício com baixa concentração sem a realização do enxague, quanto para o dentifrício com concentração convencional seguido do enxague. Concluíram, então, que os hábitos de enxague pós-escovação devem ser levados em consideração na recomendação do uso de dentifrício por crianças pequenas, considerando-se os riscos e benefícios do uso equilibrado do flúor.

Duckworth *et al* (2009) realizaram estudo para determinar as consequências do uso de fio dental e enxaguante bucal fluoretado na disponibilidade do flúor na saliva. O estudo supervisionado, duplo-cego, randomizado, cruzado envolveu a participação de 24 adultos saudáveis com idade entre 18 e 55 anos. Três regimes de higiene oral foram testados: grupo A deveria escovar os dentes por 1 min com 1g de dentifrício NaF contendo 1450 µg F/g seguido de enxague por 5 s com 10 ml de água, grupo B deveria fazer o mesmo que o grupo A, mas seguido do uso do fio dental profissional com fio dental convencional, já o grupo C deveria fazer o mesmo que o grupo B seguido de enxague por 30 s com 20 ml de enxaguante bucal contendo NaF 226 mg F/l. Os sujeitos utilizaram em casa dentifrícios não fluoretados por 1 semana antes do estudo e durante o período experimental não era permitido o uso de outros produtos de higiene oral em casa e nem que comessem ou bebessem durante as manhãs de testes. Amostras de saliva foram coletadas (2 ml) em frascos plásticos antes de cada tratamento iniciado e em 6 intervalos de tempo, totalizando 120 minutos. Foram analisadas utilizando eletrodo específico para flúor. Para análise estatística, o desfecho primário do estudo (área abaixo da curva de *clearance* salivar do flúor), foi analisado utilizando-se a análise de variância de dois fatores, considerando-se como fatores os regimes de higiene oral testados (A, B e C) e os indivíduos. A comparação dos regimes num mesmo indivíduo foi feita através do teste-t pareado. Os dados obtidos mostraram que os valores da área abaixo da

curva para o tratamento C foram significativamente maiores que os correspondentes aos tratamentos A e B, os quais não diferiram entre si. Ainda, a aplicação do regime C resultou em um aumento na concentração de F salivar de mais de 50% em todos os tempos em comparação com o regime A. Para todos os regimes, as amostras de saliva de 2 horas tinham um teor de F 5 vezes maior do que as amostras pré-regime. Dessa forma, concluíram que o uso do fio dental não interfere na proteção anticárie fornecida pelo uso regular de dentifrício fluoretado e o regime C, que incluiu o enxague fluoretado, pode fornecer uma proteção anticárie adicional.

Naumova *et al* (2010) realizaram um estudo com o objetivo de comparar as taxas de secreção de saliva individual com a biodisponibilidade do flúor na saliva, após o uso de fluoreto de sódio (NaF) e fluoreto de amino. O estudo cruzado contou com a participação, entre homens e mulheres, de 10 indivíduos saudáveis. Estes residiam em uma área onde havia água potável fluoretada e utilizavam dentifrícios fluoretados duas vezes ao dia. O estudo foi dividido em quatro etapas, a primeira, experimento *in vivo*, envolveu a coleta de saliva *baseline* durante 5 minutos e a coleta da saliva imediatamente após a escovação com dentifrício contendo fluoreto de amino ou o uso de tabletes de NaF. A segunda etapa, experimento *in vitro* I, envolveu a coleta de saliva dos mesmos indivíduos, durante 3 minutos, 5 horas após a escovação; e, posteriormente, a dissolução de 1g de dentifrício de fluoreto de amino e 1 tablete de NaF nas amostras coletadas. A terceira etapa, experimento *in vitro* II, envolveu a dissolução de 1g de dentifrício e 1 tablete de NaF em 5g de saliva. Por fim, a quarta etapa, experimento *in vitro* III, envolveu a dissolução de 1g de dentifrício e 1 tablete de NaF em 5 e 10 ml de água destilada. Todas as etapas foram repetidas 5 vezes para cada indivíduo. Para determinar a concentração de flúor presente nas amostras, estas foram previamente preparadas adicionando-se 1 ml de TISAB II a 1 ml das mesmas e análise foi realizada com eletrodo específico para íons flúor (Orion 96-09). Os dados obtidos foram

submetidos à análise estatística utilizando o teste Mann-Whitney-U e o coeficiente de correlação de Pearson. Os resultados obtidos para o experimento *in vivo* demonstraram fluxo de secreção salivar diferente para cada indivíduo, sendo 6 destes caracterizados como secretores normais (média de secreção de saliva não estimulada de 0.48 ± 0.16 g/min) e 4 como secretores rápidos (média de secreção de saliva não estimulada de 0.73 ± 0.22 g/min). Para os experimentos *in vitro* I e II os resultados demonstraram um aumento estatisticamente significativo da concentração de flúor na saliva para ambas as formulações, porém um aumento maior na formulação contendo NaF. Já os resultados obtidos para o experimento *in vitro* III demonstraram que a dissolução de ambas as formulações tanto na água quanto na saliva são similares, mas não idênticas. Portanto, os autores concluíram que a biodisponibilidade do fluoreto na saliva após a exposição ao NaF foi maior em comparação com fluoreto de amina e que o fluxo salivar individual modifica a quantidade de flúor, sendo que os secretores normais mantêm a disponibilidade de flúor por mais tempo.

Naumova *et al* (2012) realizaram um estudo com o objetivo de investigar a biodisponibilidade do flúor na saliva e na placa após a escovação. Participaram do estudo cruzado 8 indivíduos com idade entre 24 e 65 anos, os quais foram orientados a não consumir alimentos ricos em flúor, mas sem restrição ao consumo de água fluoretada e escovação com dentifrício fluoretado 2 vezes ao dia, durante os experimentos. Foi administrado aos participantes fluoreto de sódio sob a forma de tablete de higiene oral DENT-TABS, contendo 1450 ppm de flúor por grama e fluoreto de amina sob a forma de dentifrício contendo 1400 ppm de flúor. Antes do início do experimento, todos os participantes receberam profilaxia profissional e abstiveram-se de qualquer higiene oral durante 3 dias. Todos deveriam escovar os dentes inferiores durante 3 minutos pela manhã, quer com a formulação de fluoreto de sódio quer com a de fluoreto de amina. A saliva e a placa eram coletadas em 5 intervalos de tempo num total de 6 horas. A saliva foi coletada em tubos plásticos por 3 minutos. Já a placa

foi coletada com curetas estéreis das superfícies proximais de molares e pré-molares superiores. Todos os participantes repetiram todos os ciclos 4 vezes com ambas as formulações, com uma 1 semana de intervalo entre cada ciclo (período de *washout*). A concentração de flúor foi determinada utilizando eletrodo específico para íons F (Orion 96-09). Para comparar a quantidade total de flúor na placa e na saliva, curvas foram representadas graficamente, a área abaixo da curva foi calculada e então os dados foram comparados utilizando o teste de Wilcoxon-Mann-Whitney para variáveis independentes. Os resultados mostraram aumento da concentração de flúor na saliva imediatamente após a escovação e a diminuição para o nível *baseline* após 360 minutos. Não foi encontrada diferença significativa entre NaF e fluoreto de amina, exceto nos 3 minutos após a escovação, que mostrou uma média de 171.1 ppm para o NaF e de 120.7 ppm para o fluoreto de amina. Todos os níveis de flúor presentes na placa foram elevados após 30 minutos até 120 minutos após a escovação, e diminuindo após 360 minutos do *baseline*. Concluíram, então, que os níveis de flúor na saliva e na placa são altamente variáveis e que não existe diferença significativa entre a biodisponibilidade de NaF e fluoreto de amina na saliva e na placa.

Richards *et al* (2013) realizaram estudo para avaliar a presença do flúor na saliva ao longo do tempo e o efeito do enxague após a escovação na concentração do mesmo e a sua relação com a doença cárie. Um total de 287 crianças estudantes de duas escolas de Kaunas, Lituânia, com idade entre 10 e 14 anos participaram deste estudo prospectivo. Essas escolas foram classificadas em A e B, sendo que as crianças da escola A realizavam enxague com água após a escovação e as crianças da escola B não realizavam. A escovação dentária era realizada com dentifrício fluoretado com 1500 ppm de flúor (500 como NaF e 1000 como MFP). Ao início do estudo e após três anos, as crianças foram examinadas clinicamente usando o critério de diagnóstico de cárie descrito por Nyvad. A placa foi registrada de acordo com a presença ou ausência de placa visível nas superfícies dos elementos 16, 11, 31 e 36.

Amostras de saliva não estimulada foram coletadas em frascos plásticos em 4 tempos: ao início do estudo, 1, 2 e 3 anos mais tarde e eram armazenadas sob refrigeração até o momento da análise. A concentração de flúor presente nas amostras de saliva foi determinada por meio de eletrodo específico para íon F (Orion 96-09, Research Inc.). Para análise estatística foram utilizados o teste de Wilcoxon estratificado e análise de variância ANOVA. A média de concentração de flúor salivar no *baseline* e após 1, 2 e 3 anos para a escola A (com enxague) foi de 0.014, 0.026, 0.029 e 0.034 ppm, já para a escola B (sem enxague) foi de 0.013, 0.028, 0.031 e 0.031 ppm. Estes resultados mostraram aumento significativo na concentração de flúor ao longo dos anos, quando comparado ao *baseline*, em ambas as escolas. Não houve diferença estatisticamente significativa entre as escolas, em nenhum momento do estudo. A concentração de flúor não aumentou para além do primeiro. Reduções no número de superfícies dentárias com placa foram significativamente e positivamente relacionadas com o número de lesões de cárie revertidas ao longo dos 3 anos. Os autores concluíram que a concentração de flúor na saliva aumentou com a escovação pelo menos uma vez ao dia na escola, mantendo-se estável ao longo de 3 anos, e não foi afetada pelo enxague após a escovação.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1. Materiais

1. Frascos de acrílico;
2. Pipeta automática 20 a 200 µl e respectivas ponteiras;
3. Pipeta automática 200 a 1000 µl e respectivas ponteiras;
4. Amostras de saliva (contendo no mínimo 2 ml);
5. Padrão de flúor de 100 ppm;
6. Balão volumétrico de 100 ml
7. Padrões de flúor de 0,03125 – 0,0625 – 0,125 – 0,250 – 0,500 – 1,00 ppm F;
8. TISAB III (Total Ionic Strength Adjustment Buffer);
9. Analisador de íons (ORION 720-A);
10. Eletrodo específico para flúor (ORION 96-09);
11. Agitador.

4.2. Métodos

Delineamento do estudo:

Este foi um estudo prospectivo para análise laboratorial da saliva, a qual foi coletada de escolares em um programa de saúde bucal desenvolvido nas escolas estaduais do município de Careiro da Várzea, como um estudo de intervenção do tipo ensaio de campo. A análise laboratorial da saliva foi vinculada a um projeto de pesquisa amplo aprovado pelo CEP/UFAM (CAAE 07587912.5.0000.5020) e financiado pelo CNPq, que teve o objetivo de analisar um programa de promoção de saúde bucal nas escolas, testando duas abordagens distintas para escolares, na qual em um grupo além da distribuição de escovas de dente e dentifrícios fluoretados, também houve a construção de escovódromos nas escolas e a

mudança da rotina escolar (grupo teste), enquanto o outro grupo apenas recebeu as escovas de dente e o dentifrício fluoretado (grupo controle).

As amostras de saliva analisadas pelo presente estudo foram coletadas de escolares, na faixa etária de 15 a 19 anos, residentes em comunidades no município de Careiro da Várzea, inseridas no Programa de Saúde na Escola (PSE).

Coleta do material:

Foram coletadas amostras de saliva não estimulada, contendo no mínimo 2 ml, em frascos coletores plásticos com tampa com capacidade para 20 ml e identificados com o código do voluntário. A coleta foi realizada durante o período de aulas.

A saliva foi coletada 2 vezes ao longo do estudo: antes do início da intervenção (*baseline*) e 9 meses após o início da intervenção.

Armazenamento do material:

Após serem coletadas, as amostras de saliva foram transportadas sob refrigeração e armazenadas em congelador, no Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Odontologia da UFAM, até o momento da análise no Laboratório de Pesquisa da Faculdade de Odontologia da UFAM.

Determinação da concentração de flúor nas amostras de saliva:

A concentração de flúor na saliva foi determinada utilizando eletrodo específico para íons flúor (ORION 96-09) acoplado a um analisador de íons (ORION 720-A), sendo calibrado com padrões de flúor em concentrações conhecidas de 0,03125 – 0,0625 – 0,125 – 0,250 – 0,500 – 1,00 ppm F. O potenciômetro fornece um valor de milivoltagem correspondente à diferença de potencial entre o líquido contido no interior do eletrodo (solução de 10 ppm F em KCL como condutor da corrente elétrica) e a solução analisada.

Para tal foi realizado:

Preparo dos padrões:

As soluções padrão de flúor foram obtidas a partir do padrão de 100 ppmF, que é comprado pronto. Dessa forma, as soluções foram preparadas pipetando-se determinada quantidade do padrão de 100 ppmF e completando-se com água destilada e deionizada para um balão volumétrico de 100 ml, chegando-se às concentrações de 0,03125 – 0,0625 – 0,125 – 0,250 – 0,500 – 1,00 ppmF. Além dessas soluções, também foram preparados os padrões teste, que tem a mesma concentração do padrão de 0,500 ppmF, e o Blank (1,0 ml de água destilada e deionizada + 0,1 ml de TISAB III).

Preparo da curva de calibração:

A concentração de flúor nas soluções padrão e nas amostras foi calculada a partir da regressão linear da curva de calibração obtidas por padrões com concentrações já citadas, com eletrodo específico para flúor (ORION, 9609) associado ao analisador de íons (ORION 720-A), pipetando-se 1 ml do padrão e 0,1 ml de TISAB III (Total Ionic Strength Adjustment Buffer), comprado pronto.

Preparo das amostras:

As amostras, até então armazenadas em congelador, foram descongeladas em temperatura ambiente, enquanto era realizada a calibração do aparelho.

Após o descongelamento, as amostras foram preparadas pipetando-se 1 ml das mesmas, sendo essa quantidade colocada em frasco de acrílico, e acrescentando-se 0,1 ml de TISAB III (Total Ionic Strength Adjustment Buffer), comprado pronto. Então, a mistura foi levada ao agitador para homogeneizá-la e a leitura potenciométrica foi realizada. As leituras foram realizadas em milivolts (mV) e em duplicata para cada amostra.

Análise estatística:

Os resultados obtidos foram analisados por meio do teste T pareado e teste T para amostras distintas, considerando os diferentes tempos, *baseline* e 9 meses após. Foram utilizados os softwares Bioestat 5.0 e SAS Software 9.1.

5. RESULTADOS

Os resultados obtidos demonstraram uma redução na concentração de flúor salivar após 9 meses tanto das escolas teste quanto das escolas controle, como é possível observar na tabela abaixo.

	Grupo	Total de amostras	Baseline	Análise após 9 meses
E E Coronel Fiuza	1	45	0,105 µg/ml	0,050 µg/ml
E M Balbina Mestrinho	0	23	0,165 µg/ml	0,073 µg/ml
E E Antônio Ferreira Guedes	1	50	0,121 µg/ml	0,066 µg/ml
E E Alberto Santos Miguéis	0	45	0,078 µg/ml	0,057 µg/ml

Tabela 1. Médias das concentrações de flúor em µg/ml obtidas nas análises *baseline* e após 9 meses, nas escolas teste (grupo 1) e escolas controle (grupo 0).

Para análise estatística foi realizado teste T pareado e teste T para amostras distintas, utilizando os softwares Bioestat 5.0 e SAS Software 9.1. Para todas as análises considerou-se nível de significância de 0,05. Obtivemos, então, a seguinte tabela:

Grupo	Tempo		Teste t pareado
	tempo1	tempo2	
grupo0 (n=68)	0,11 (0,19)	0,06 (0,03)	0,0554
grupo1 (n=95)	0,11 (0,08)	0,06 (0,04)	<0,0001
teste t para amostras distintas	0,8127	0,5307	

Tabela 2. Média e desvio-padrão da concentração flúor em ppm, na saliva dos escolares das escolas teste (grupo 1) e das escolas controle (grupo 0), no *baseline* (tempo1) e após 9 meses de intervenção (tempo2).

6. DISCUSSÃO

O flúor presente na saliva tem um importante papel no processo de des e remineralização e têm-se sugerido que mesmo em baixas concentrações, é necessário nos fluidos bucais para que se obtenha uma inibição máxima de cáries e a elevação contínua de sua concentração seria vantajosa. Assim, a retenção do flúor após o uso de dentifrícios e enxaguatórios funcionaria como um reservatório, fornecendo certo grau de proteção contra a cárie (FUKUSHIMA *et al*, 2000).

O presente estudo analisou a concentração de flúor presente nas amostras de saliva coletadas de escolares do município de Careiro da Várzea, interior do Estado do Amazonas, inseridos em um programa de saúde na escola.

Os resultados demonstram que houve uma redução na concentração de flúor nas amostras de saliva, tanto nas escolas controle, quanto nas escolas teste, 9 meses após o início da intervenção. A concentração de flúor nas amostras das 4 escolas envolvidas no estudo apresentou uma média de 0,061 ppmF, após 9 meses de acompanhamento. Estudos demonstram que níveis salivares de flúor superiores a 0,02 ppmF são capazes de inibir o processo de desmineralização e exercer algum efeito anticárie. Dessa forma, ainda que tenha havido uma redução, os níveis obtidos ao final do estudo foram superiores à concentração citada, o que significa que ainda assim pode haver ação anticárie. (LYNCH, NAVADA, WALIA, 2004; FUKUSHIMA *et al*, 2000)

Esta redução poderia ser explicada pela falta de padronização do momento em que as amostras de saliva foram coletadas, pois estudos demonstram que os níveis salivares de flúor aumentam logo após a escovação ou utilização de enxaguatórios e diminuem após 2 horas, retornando aos níveis *baseline*. Talvez, também possa ser explicada pela falha dos voluntários da pesquisa em realizar as orientações de escovação que lhes foram dadas, pois a frequência

de escovação influencia nas concentrações salivares de flúor. (NAUMOVA *et al*, 2012; RICHARDS *et al*, 2013)

Outro ponto que pode ser discutido é o fato de o município de Careiro da Várzea, assim como todos os municípios do estado do Amazonas, não possuir água fluoretada, o que pode contribuir com as baixas concentrações de flúor na saliva dos escolares residentes no município.

Portanto, vários fatores podem influenciar nas concentrações salivares de flúor e estes fatores devem ser controlados para que se obtenham concentrações capazes de exercer algum efeito anticárie.

7. CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos no presente estudo, pode-se concluir que mesmo que tenha havido uma redução nas concentrações salivares de flúor, ainda assim com as concentrações obtidas pode haver um efeito anticárie. Assim, deve-se ressaltar a importância do flúor presente no meio bucal, mesmo que em baixas concentrações, para atuar nos processos de desmineralização e remineralização que caracterizam a doença cárie. Além disso, existem diversos fatores que podem influenciar nas concentrações de flúor na saliva e estes devem ser controlados para que o efeito anticárie seja potencializado.

REFERÊNCIAS

BRASIL, Decreto nº 6286, 5 de dezembro de 2007 - Institui o Programa Saúde na Escola - PSE, e dá outras providências. **Diário Oficial da União**, 2007.

DUCKWORTH, R.M. *et al.* Effects of flossing and rinsing with a fluoridated mouthwash after brushing with a fluoridated toothpaste on salivary fluoride clearance. **Caries Research**, v. 43, p. 387-390, 2009.

FUKUSHIMA, R. *et al.* Cinética do flúor na saliva de adultos e crianças após o uso de dentifrícios fluoretados. **Rev. FOB**, v.8, n. 1/2, p. 45-50, jan./jun., 2000.

LOPES, M.F. *et al.* Fluoride oral retention after professional topical application in children with caries activity: effect of the immediate water consumption. **Journal of Dentistry for Children**, v. 2, n. 75, p. 121-124, 2008.

LYNCH, R.J.M.; NAVADA, R.; WALIA, R. Low-levels of fluoride in plaque and saliva and their effects on the demineralisation and remineralisation of enamel; role of fluoride toothpastes. **International Dental Journal**, v. 54, p. 304-309, 2004.

NAUMOVA, E.A. *et al.* Influence of individual saliva secretion on fluoride bioavailability. **The Open Dentistry Journal**, n. 4, p. 185-190, 2010.

NAUMOVA, E.A. *et al.* Fluoride bioavailability in saliva and plaque. **BMC Oral Health**, v. 12, n. 3, p. 1-6, 2012.

PINHEIRO, C. E. Curso de bioquímica da cárie dentária I – Bioquímica da saliva. **Revista Paulista de Odontologia**. 40-47, 2000.

RICHARDS, A. *et al.* Saliva fluoride before and during 3 years of supervised use of fluoride toothpaste. **Clin Oral Invest**, jan, 2013.

TENUTA, LMA; CURY, J.A. **Fluoreto da ciência à prática clínica**. In: Assed S. (Org.). Bases científicas para a prática clínica, p.113-152, 2005.

ZAMATARO, C.B.; TENUTA, L.M.A.; CURY, J.A. Low-fluoride dentifrice and the effect of post-brushing rinsing on fluoride availability in saliva. **European Archives of Paediatric Dentistry**, v. 2, n. 9, 2008.