

Rita Maria Alves Fernandes

**Estudo *in vitro* da eficácia anti-bacteriana de seis dentífricos
em *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus***

Universidade Fernando Pessoa
Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2009

Rita Maria Alves Fernandes

**Estudo *in vitro* da eficácia anti-bacteriana de seis dentífricos
em *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus***

Universidade Fernando Pessoa
Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2009

Rita Maria Alves Fernandes

**Estudo *in vitro* da eficácia anti-bacteriana de seis dentífricos
em *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus***

Monografia apresentada à
Universidade Fernando Pessoa
como parte dos requisitos para obtenção do
grau de Licenciatura em Medicina Dentária

Resumo

Os dentífricos são o veículo mais apropriado e eficiente para a libertação de agentes terapêuticos na cavidade oral, uma vez que a escovagem dentária é o método mais amplamente usado de higiene oral, tendo como principal objectivo a prevenção da cárie dentária e da doença periodontal.

A enorme variedade de dentífricos disponíveis no mercado nacional, impõe sérias dificuldades na escolha dos mesmos por parte do consumidor.

A cárie dentária é o resultado da interacção de diversas espécies bacterianas, no entanto, *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus* desempenham um papel preponderante no início e desenvolvimento desta doença.

O objectivo deste estudo foi avaliar a eficácia anti-bacteriana de seis dentífricos existentes no mercado nacional em *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus*. Para o efeito, realizou-se um estudo experimental baseado no Método de difusão em agar (Método de Kirby e Bauer), a partir de uma amostra de 6 pastas dentífricas, (Sensodyne® Protecção Total, Colgate® Anti-cáries, Aquafresh® Limpeza Extrema Polegar® com Flúor, Dia® Bi-flúor Action e Auchan® Anti-cáries).

Os dados obtidos foram analisados estatisticamente com recurso ao programa informático SPSS® 16.0, através do qual foi determinado entre que dentífricos existiram diferenças estatisticamente significativas.

Como resultados mais relevantes salienta-se que todas as pastas dentífricas estudadas apresentaram eficácia anti-bacteriana em *Streptococcus mutans* e em *Lactobacillus acidophilus*, verificando-se que existiram diferenças estatisticamente significativas entre elas. Deste modo, concluiu-se que as pastas dentífricas Auchan® Anti-cáries e Dia® Bi-flúor Action foram, respectivamente, aquelas com maior e menor eficácia anti-bacteriana nas duas bactérias utilizadas no estudo.

Abstract

Dentifrices are the most appropriate and efficient vehicle for releasing therapeutic agents in the oral cavity, since tooth brushing is the most common method of oral hygiene, whose main purpose is the prevention of dental caries and periodontal disease.

The enormous variety of dentifrices available in the national market imposes serious trouble in their selection by consumers.

Dental caries is the result of the interaction of several bacterial species; however, *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus* play a prevailing role in the beginning and development of this disease.

This study was undertaken to evaluate the antibacterial efficacy of six commercial dentifrices against *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus*. In order to accomplish this, we conducted an experimental study based on Agar diffusion Method (Kirby and Bauer Method), using a sample of six toothpastes (Sensodyne® Proteção Total, Colgate® Anti-cáries, Aquafresh® Limpeza Extrema Polegar® com Flúor, Dia® Bi-flúor Action e Auchan® Anti-cáries).

The obtained data were submitted to statistical analyses using SPSS® 16.0 software, which determined significant statistical differences among the studied dentifrices.

As the most relevant results, we point out that all the studied toothpastes not only possessed antibacterial efficacy on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus*, but also had significant statistical differences between them. Therefore, we concluded that Auchan® Anti-cáries and Dia® Bi-flúor Action toothpastes were, respectively, those with more and less antibacterial efficacy in the two bacteria used in this study.

DEDICATÓRIAS

Aos meus pais, Ramiro e Adélia, por todo o amor e carinho que sempre me deram. Obrigada por terem estado presentes em todos os bons e maus momentos da minha vida, transmitindo-me coragem, incentivo e valores humanos que nunca irei esquecer. Obrigada pelo apoio incondicional durante esta etapa acadêmica e por me terem ensinado a ser uma pessoa melhor. Sem vocês a obtenção desta licenciatura teria sido muito mais difícil!

Ao meu irmão, José, pela amizade, cumplicidade, altruísmo e paciência demonstrados ao longo destes vinte e quatro anos. Obrigada por poder partilhar contigo todas as minhas angústias e tristezas, todas as alegrias, sonhos e devaneios...Obrigada por todos os momentos únicos de diversão, pelos risos e gargalhadas que só tu me consegues dar...Adoro-te!

Ao meu namorado, João, pelas sugestões e ideias, pelo ânimo, incentivo e entusiasmo, pela imensa tolerância, paciência e compreensão, pelo amor, amizade e o carinho. Enfim, por todo o apoio incondicional que me deste ao longo da elaboração deste trabalho, assim como ao longo destes três anos. Obrigada por aquilo que és e que representas para mim!

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Professora Doutora Cristina Pina, pela dedicação, empenho, simpatia e amizade. Os meus sinceros agradecimentos por ter sido uma orientadora tão presente e interessada, pelos bons momentos partilhados e pela transmissão de conhecimentos indispensáveis à concretização deste trabalho.

À minha co-orientadora Mestre Sandra Gavinha, pelo carinho, disponibilidade e pela atitude positiva que tanto me incentivou, fazendo com que a realização desta monografia se tornasse um prazer.

À Doutora Orquídea Ribeiro, pela amabilidade e pela preciosa orientação na análise estatística deste trabalho.

Ao Doutor Manuel Figueiredo, pela imensurável sabedoria, simpatia, e pela amabilidade no fornecimento de material bibliográfico.

A toda a equipa do CERLAB, especialmente aos técnicos João Brandão, Miguel Costa, Pedro Quintas, Ricardo Silva e Manuel Vilarinho, pela simpatia e disponibilidade demonstradas na realização do trabalho experimental.

Aos meus colegas, pelo optimismo, companheirismo e entajuda demonstrados ao longo destes seis anos de curso.

A todos os meus amigos, especialmente à Rita, à Ana, à Maria, à Diana, à Brígida, à Joana, à Armanda e ao Hugo, pelo apoio e encorajamento transmitidos ao longo da realização desta monografia, e por tudo mais que uma amizade pode oferecer.

A todos aqueles que, não constando nestas linhas, directa ou indirectamente deram o seu contributo, o meu sincero Obrigada!

ÍNDICE GERAL

Introdução	1
Desenvolvimento	5
I. A História dos Dentífricos	5
1. Antiguidade	5
2. Idade média	7
3. Idade moderna	8
4. Idade contemporânea	9
II. A Cárie Dentária	14
III. Bactérias Cariogénicas	17
1. <i>Streptococcus mutans</i>	17
2. <i>Lactobacillus acidophilus</i>	18
IV. Dentífricos	19
1. Composição básica	19
2. Agentes terapêuticos	21
2.1 Anti-bacterianos	21
2.1.1 Agentes catiónicos	22
2.1.2 Agentes não iónicos	23
2.1.3 Compostos fenólicos	24
2.1.4 Halogéneos	24
2.1.5 Substâncias naturais	26

2.1.6 Agentes oxigenantes	28
2.1.7 Enzimas	29
2.1.8 Xilitol.....	29
2.2 Dessensibilizantes	29
2.3 Branqueadores	30
2.4 Anti-inflamatórios	30
2.5 Antibióticos	30
3. Aprovação da “American Dental Association” (ADA)	31
4. Mecanismos de acção	31
V. Estudos <i>in vitro</i> de avaliação da actividade anti-bacteriana dos dentífricos	34
1. Testes de sensibilidade bacteriana	34
1.1 Método de difusão em agar	35
VI. Material e Métodos	38
1. Material	38
1.1 Recolha de informação	38
1.2 Recursos materiais utilizados	38
2. Métodos	39
2.1 Tipo de estudo	39
2.2 População	40
2.3 Amostra	40
2.3.1 Critérios de inclusão da amostra	42

2.3.2 Critérios de exclusão da amostra	42
3. Protocolo experimental	43
4. Esquematização do estudo experimental	45
5. Análise estatística	47
VII. Resultados	48
VIII. Discussão	53
1. Resultados do estudo em <i>Streptococcus mutans</i>	54
1.1 Pastas dentífricas de marcas conhecidas	55
1.2 Pastas dentífricas de marcas brancas	55
1.3 Pastas dentífricas de marcas conhecidas <i>versus</i> Pastas dentífricas de marcas brancas	55
2. Resultados do estudo em <i>Lactobacillus acidophilus</i>	56
2.1 Pastas dentífricas de marcas conhecidas	57
2.2 Pastas dentífricas de marcas brancas	58
2.3 Pastas dentífricas de marcas conhecidas <i>versus</i> Pastas dentífricas de marcas brancas	58
3. Considerações gerais	59
Conclusão	61

Bibliografia

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 – Escovas de dentes em exposição no Museu Pierre Fauchard, em Paris	9
Figura 2 – Antigas caixas de pó dentífrico, em porcelana	9
Figura 3 – Frasco de água dentífrica	11
Figura 4 – Painéis publicitários da primeira metade do séc. XX - Museu Dentário de Lyon	12
Figura 5 – Painel publicitário da Colgate, 1950	13
Figura 6 – <i>Streptococcus mutans</i>	17
Figura 7 – <i>Lactobacillus acidophilus</i>	18
Figura 8 - Selo de aceitação da ADA	31
Figura 9 – Apresentação esquemática dos diferentes mecanismos de acção dos ingredientes activos incorporados nos dentífricos, para o controlo químico da placa bacteriana	33
Figura 10 – Método do disco de Kirby e Bauer	36
Figura 11 - Pastas dentífricas em estudo	40
Figura 12 – Soluções centrifugadas: sobrenadante e precipitado	44

Figura 13 – Orientação triangular dos discos dos seis dentífricos em estudo, com o disco controlo no centro das placas	44
Figura 14 – Craveira	45
Figura 15 – Apresentação esquemática do estudo laboratorial realizado	46
Figura 16 – Ensaio em <i>Streptococcus mutans</i> , onde é possível visualizar os halos de inibição resultantes da acção das seis pastas dentífricas	49

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 – Composição química dos seis dentífricos em estudo	41
Tabela 2 – Média dos preços dos dentífricos em estudo (Preços consultados de 08/01/09 a 10/01/09)	42
Tabela 3 – Diâmetros dos halos de inibição, expressos em milímetros, das seis pastas dentífricas em estudo, em <i>Streptococcus mutans</i>	48
Tabela 4 – Diâmetros dos halos de inibição, expressos em milímetros, das seis pastas dentífricas em estudo, em <i>Lactobacillus acidophilus</i>	49
Tabela 5 – Distribuição dos diâmetros (em mm) dos halos de inibição das pastas dentífricas (n=54) na bactéria <i>Streptococcus mutans</i>	50
Tabela 6 – Distribuição dos diâmetros (em mm) dos halos de inibição das pastas dentífricas (n=54) na bactéria <i>Lactobacillus acidophilus</i>	50

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Distribuição dos diâmetros (em mm) dos halos de inibição das pastas dentífricas na bactéria *Streptococcus mutans*52

Gráfico 2 – Distribuição dos diâmetros (em mm) dos halos de inibição das pastas dentífricas na bactéria *Lactobacillus acidophilus*53

ABREVIATURAS

SPSS – *Statistical Package for the Social Sciences*

FMDUP – Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto

UFP – Universidade Fernando Pessoa

Séc. – Século

Strep. mutans – *Streptococcus mutans*

L. acidophilus - *Lactobacillus acidophilus*

Strep. – *Streptococcus*

ADA – American Dental Association

CDT – Council on Dental Therapeutics

CMI – Concentração mínima inibitória

CMB – Concentração mínima bactericida

PEG – Polietilenoglicol

Introdução

Ao longo da História, os dentífricos têm sido usados por diferentes povos em todo o mundo, essencialmente com os mesmos propósitos: aliviar as dores dentárias, limpar e fortalecer os dentes e eliminar o mau hálito. A sua composição evoluiu desde os pós constituídos por ervas, minerais e cinzas de ossos de animais, passando por águas dentífricas contendo urina, vinagre, azeite e mel, até às sofisticadas pastas e géis dentífricos disponíveis actualmente. O grande ponto de viragem na composição dos dentífricos, deu-se no final do século XIX e início do século XX, com o aparecimento da teoria quimioparasitária da cárie dentária, descrita por W.D. Miller, e descoberta das propriedades anti-cariogénicas do flúor (Fischman, 1992; Wohleber, 2002). Desde então, os dentífricos têm sofrido um notável desenvolvimento na sua composição, com a introdução de agentes com propriedades terapêuticas, cujo objectivo é prevenir as doenças orais como a cárie dentária e a doença periodontal, e com a introdução de agentes com propriedades cosméticas.

Os dentífricos são o veículo mais apropriado e eficiente para a libertação de agentes terapêuticos na cavidade oral dado que, para a maioria da população, a escovagem dentária faz parte dos rituais diários de higiene pessoal (Stephen, 1992). Deste modo, a escovagem dos dentes com um dentífrico é o método mais amplamente usado de higiene oral (Scheie, 1992). É também um facto universalmente aceite que o uso de dentífricos fluoretados constitui a medida mais eficiente no controlo da cárie dentária, não só pela remoção mecânica da placa bacteriana cariogénica, mas também pela libertação de flúor na cavidade oral (Thylstrup, 1992).

Actualmente, existe uma enorme variedade de dentífricos, que diferem tanto no seu modo de apresentação como na sua composição. Em regra, todos contêm flúor na sua composição, mas também existem dentífricos com propriedades branqueadoras, anti-tártaro, anti-gengivite, dessensibilizantes, contra o mau hálito, contra a erosão dentária, com extractos de plantas, e todas as combinações daí resultantes. Perante esta diversidade de produtos, o consumidor enfrenta um complexo problema de decisão em relação a qual dentífrico deverá escolher. Consequentemente, os Médicos Dentistas são habitualmente confrontados com uma pergunta típica por parte dos pacientes, familiares

ou amigos: “Qual a pasta dentífrica que o(a) Doutor(a) recomenda?”. Não existe uma resposta padrão para esta questão, dado que o dentífrico recomendado depende muito das necessidades individuais de cada paciente, como por exemplo, a elevada susceptibilidade à cárie, à erosão, à doença periodontal, à halitose, entre outras. Porém, quando o paciente em causa não apresenta qualquer tipo de patologia, e apenas se pretende recomendar o uso de um dentífrico com vista a prevenir a cárie dentária, as dúvidas instalam-se, face à enorme variedade de produtos existentes no mercado. Desta forma, há que ter em conta factores de ordem socioeconómica, pois é indubitável que existe uma relação positiva entre a cárie dentária e os níveis sociais mais baixos (Stephen, 1992). O estatuto socioeconómico, bem como todos os factores sociais que dele dependam, podem ter uma acção indirecta sobre o risco de desenvolvimento de cárie, dada a sua influência nos comportamentos preventivos e dietéticos (Melo, 2001). Actualmente, perante as crescentes dificuldades económico-financeiras existentes no nosso país, será pertinente ponderar o custo de uma pasta dentífrica ao recomendá-la a um paciente. Atendendo a várias situações, como por exemplo em agregados familiares numerosos, em que todos os membros da família possuam hábitos de higiene oral, será de esperar que a escolha de uma pasta dentífrica, além da influência publicitária, se prenda com o seu preço de mercado.

Ao longo da formação académica, especialmente nos últimos três anos, desde o início da componente clínica, a autora foi frequentemente questionada pelos pacientes sobre qual o dentífrico que os Médicos Dentistas recomendam e se existe diferença entre os dentífricos de preço mais baixo em relação àqueles de preço mais elevado. Tais questões despertaram dúvidas e uma enorme curiosidade na obtenção de respostas, tendo deste modo servido de impulso e motivação para a realização da presente monografia.

Desta forma, é proposto investigar a eficácia anti-bacteriana de seis dentífricos existentes no mercado nacional, em relação às principais bactérias responsáveis pelo início e desenvolvimento da cárie dentária, respectivamente, *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus*. Foram estudados três dentífricos de marcas brancas (Polegar® com Flúor, Dia® Bi-flúor Action e Auchan® Anti-cáries) e três dentífricos de marcas conhecidas (Sensodyne® Protecção Total, Colgate® Anti-cáries e

Aquafresh® Limpeza Extrema), cujos preços de mercado variam significativamente entre eles.

Para a elaboração deste trabalho recorreu-se a material bibliográfico, disponível em livros e revistas científicas, consultados nas bibliotecas universitárias da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto (FMDUP) e da Universidade Fernando Pessoa (UFP). Também foram utilizados motores de busca da Internet, tais como o Pubmed, a Medline, o Elsevier, a Scielo, o Science Direct e o Google, com as palavras-chave “dentífricos”, “eficácia anti-bacteriana dos dentífricos”, “antimicrobial effect of toothpaste”, “*Streptococcus mutans*”, “*Lactobacillus acidophilus*”, “dentífricos composition” e “history of dentífricos”. A pesquisa bibliográfica foi realizada no período compreendido entre Janeiro de 2009 e Junho de 2009.

O estudo experimental foi realizado no Laboratório de Investigação de Microbiologia da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Fernando Pessoa, entre Maio de 2009 e Junho de 2009, e para o efeito o protocolo experimental foi adaptado do Método do disco de Kirby e Bauer.

Assim, esta monografia realizada mediante um estudo experimental, com posterior análise estatística dos resultados, tem como principais objectivos, de ordem académica:

- Verificar se os dentífricos em estudo possuem eficácia anti-bacteriana em *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus*;
- Comparar a eficácia anti-bacteriana dos seis dentífricos entre si, em *Streptococcus mutans* e em *Lactobacillus acidophilus*;

Desta forma, com este estudo experimental, não se pretende obter resultados para extrapolações *in vivo*. Pretende-se sim obter dados que permitam não só orientar em relação ao dentífrico que se poderá recomendar, como também concluir se será prudente aconselhar um dentífrico de preço mais económico, dado que as suas propriedades anti-bacterianas são semelhantes aquelas de um dentífrico com um preço mais elevado.

Após a recolha e a devida análise estatística dos dados obtidos neste estudo, foi possível concluir que todas as pastas dentífricas estudadas apresentaram eficácia anti-bacteriana em *Streptococcus mutans* e em *Lactobacillus acidophilus*. Adicionalmente, também foi possível constatar que, em relação às duas bactérias utilizadas no estudo, as pastas dentífricas Auchan® Anti-cáries e Polegar® com Flúor foram aquelas com maior eficácia anti-bacteriana, e que a Dia® Bi-flúor Action relevou ser a pasta dentífrica menos eficaz.

Em suma, poder-se-á recomendar as pastas dentífricas Auchan® Anti-cáries e Polegar® com Flúor a todos os pacientes, e em especial aqueles com dificuldades socioeconómicas, dado o preço relativamente baixo destes produtos.

Desenvolvimento

I. A HISTÓRIA DOS DENTÍFRICOS

A palavra “dentífrico” começou a ser usada em Inglaterra, por volta de 1558, sendo definida como um pó ou outra preparação para esfregar ou limpar os dentes (Fischman, 1992).

Actualmente, segundo o “Mosby’s Dental Dictionary” (2004), pode-se definir um dentífrico como “um composto farmacêutico usado em conjunto com uma escova de dentes, para limpar e polir os dentes”.

Ao longo da História os dentífricos têm sido usados com finalidade estética, para remover maus odores da boca, para fortalecer os dentes, evitando as dores dentárias, e também como medida profilática das doenças epidémicas (Fischman, 1992).

De seguida, abordar-se-á a cronologia relativa ao aparecimento e evolução dos dentífricos ao longo dos tempos, desde a Antiguidade até à Idade Contemporânea.

1. Antiguidade

A primeira referência histórica aos dentífricos encontra-se nos Papiros de Ebers, um livro médico egípcio, escrito por volta de 1500 a.C., que contém receitas para elaborar preparações de limpeza dos dentes (Weinberger *cit. in* Boléo 1964).

Nos escritos da civilização mesopotâmica encontram-se também receitas de pastas oleosas para limpar os dentes, limpeza essa feita com o dedo indicador (que terá sido a primeira escova de dentes) e seguida de lavagens com água. A oferta aos visitantes de vasos com água para lavar a boca era um ritual desta civilização (Proskaner *cit. in* Boléo 1964).

No Código de Manú, da medicina sacerdotal indiana, encontra-se descrito que todo o sacerdote devia purificar a sua boca com um raminho de árvore e com uma pasta à base de mel, azeite e extractos aromáticos (Rizzi *cit. in* Boléo 1964).

Os judeus usavam gengibre e cinamomo para combater o mau hálito, e sal para branquear os dentes (Boléo, 1964).

Os gregos usavam dentífricos, sendo que Hipócrates (460-377 a.C) é considerado o primeiro a recomendar o seu uso. Para ele, a preparação do dentífrico consistia em queimar as cabeças de uma lebre e três ratos, após retirar o intestino a dois deles, mas sem nunca remover o fígado ou o rim. Acreditava-se que tendo o rato e a lebre dentes fortes, estas características passariam ao ser humano se fossem utilizadas partes do corpo destes animais na confecção dos dentífricos (Fischman, 1992).

Os romanos tinham grandes cuidados com os dentes, lavando-os e esfregando-os com madeira e dentífricos feitos de chifres de veado queimados e cabeças calcinadas de lebres, ratos e lobos, juntamente com calcanhares de boi queimados e pés de cabra. Cascas de ovo trituradas, conchas de caracol e pó de pedra-pomes eram frequentemente misturadas com mirra e usadas por esta civilização (Fischman, 1992).

Celso (25 a.C), recomendava a lavagem da boca com água, e tal como os gregos e judeus, o uso de sal marinho para limpar e branquear os dentes. Defendia também que se deviam esfregar os dentes com uma mistura de pétalas de rosa trituradas, cálculos de biliar e mirra, pois esta mistura removia as manchas dos dentes, pelo efeito solvente da mirra, e pelo efeito abrasivo dos cálculos biliares (Fischman, 1992).

Samónico, no seu tratado de medicina, aconselhava a lavagem dos dentes com água (Boléo, 1964).

Plínio (23 a 79 d.C) recomendava a lavagem da boca com sal e com pó de dentes de cão calcinados, misturados com mel. Defendia também que qualquer dentífrico poderia ser melhorado adicionando uma espiga de nardo, que diminuía o mau cheiro da boca. Propunha ainda um método de preparação de carbonato de cálcio, que consistia em

retirar a membrana interna das cascas de ovo e em seguida queimá-las, de modo a fornecer um bom dentífrico (Fischman, 1992).

Escribónio Largo (47 d.C.) descrevia um dentífrico feito de cevada moída misturada com uma pasta de vinagre e mel, ao qual podia ser adicionado rabanete seco ao sol. A massa resultante era dividida em bolas, e cada uma delas misturada com sal. Após serem carbonizadas e reduzidas a pó, eram aromatizadas com espiga de nardo (Fischman, 1992). Escribónio Largo referia também que Messalina, mulher do imperador Cláudio, usava chifres de veado calcinado como um dos ingredientes dos seus pós dentífricos (Boléo, 1964).

Galeno, o famoso físico, observou que muitos dentífricos e pós fortaleciam os dentes e gengivas (Fischman, 1992).

2. Idade Média

Na Idade Média, os cuidados com a limpeza da boca continuaram, seguindo-se os conselhos de Galeno, Celso e da escola árabe. Mas é essencialmente devido à descoberta e divulgação da imprensa, no séc. XV, que o conceito de limpeza da boca se tornou popular (Boléo, 1964).

Avicenna, médico que viveu na Pérsia entre 980 e 1037, aconselhava os seus pacientes a evitar os pós dentífricos demasiado duros, uma vez que estes poderiam destruir a estrutura dentária (Fischman, 1992).

Albucasis, árabe que viveu de 1050 a 1122, recomendava o uso de pós dentífricos e a lavagem com adstringentes e, ao contrário dos judeus, que consideravam o vinagre maléfico, ele aconselhava as lavagens da boca com vinagre, sal e vinho (Boléo, 1964).

Al-Bayan, judeu nascido em 1161 no Cairo, publicou um tratado intitulado o “Formulário Hospitalar”, em que num dos capítulos fala dos medicamentos para a boca e dos dentífricos. Os princípios activos básicos de um dentífrico eram adstringentes, agentes germicidas e abrasivos. Ele recomendava dois dentífricos para polir os dentes,

fortalecer as gengivas e eliminar o mau hálito, que eram utilizados após os bochechos com vinagre e água de rosas. Aconselhava ainda um dentífrico para diminuir a dor de dentes provocada pelo frio, o que faz deduzir que a recessão gengival já fosse conhecida naquela época (Fischman, 1992).

Pedro Hispano, médico lisboeta do séc. XII, que mais tarde viria a ser o único papa português (João XXI), escreveu no “Thesaurus Pauperum” que a água-forte, vinagre branco e sangue de orago eram bons para limpar os dentes. Recomendava também esfregar os dentes de quatro em quatro dias com uma mistura de pós de chifre de veado, sal-gema e carvão, tudo moído e queimado, e azeite (Boléo, 1964).

Arnaldo de Vilanova, filósofo que viveu durante o séc. XIII, descreveu uma pasta para branquear os dentes, recomendando a sua aplicação antes e depois das refeições (Fischman, 1992).

Guy de Chauliac, no fim do séc. XIII, descreveu também vários dentífricos para reduzir o tártaro, mas salientando que se estes não fossem eficazes, seria necessário raspar a superfície dos dentes para o eliminar (Fischman, 1992).

Os indígenas da civilização Maya pré-colombiana praticavam a higiene dentária usando cinza branca misturada com mel branco, e com um pedaço de pano esfregavam os dentes com esta mistura até ficarem lisos e brancos (Fastlicht *cit. in* Boléo 1964).

3. Idade Moderna

O manuscrito “Le regime du Corps de Maître Aldebrandin de Sienne”, que data de 1526, apresenta algumas receitas de pós para lavar os dentes, que consistem em chifres de veado, sementes de tamaris e de cipreste, rosas e piquenarte, cascum e sal-gema (Landouzy *cit. in* Boléo 1964)

No livro de Mestre Lafranco de 1495 e no livro de Francisco Martínez Castrillo de 1557, os dois livros impressos mais antigos que se conhecem sobre a arte dentária em Espanha, encontram-se numerosos conselhos para a limpeza dos dentes (Boléo, 1964).

No livro “La Odontologia em España en los textos castellanos del siglo XV”, de Francisco Vindel, escrito em 1952, encontram-se várias receitas compostas por ossos de tibia, conchas do mar brancas, esponja do mar, porcelana, alúmen, sal-gema, raízes de canas queimadas, cevada tostada, pimenta e raspas de chifre queimado, tudo reduzido a pó, e utilizado para branquear os dentes e evitar que estes se deteriorassem (Boléo, 1964).

Ambrósio Paré, descreveu uma pasta endurecida, com a forma de um bastonete e comprimento de um dedo, que se ia gastando, e possivelmente os dentes também, à medida de que ia sendo utilizada. Esta pasta era constituída por pós de chifres de veado, corais, conchas de moluscos, alúmen, pedra-pomes, salitre, aromatizantes e mucilagens (Boléo, 1964).

4. Idade Contemporânea

As primeiras notícias de escovas de dentes na Europa datam do séc. XVII, embora se saiba que, originalmente, estas surgiram na China, centenas de anos antes (Ramirez *cit. in* Mandel 1998). A escova de dentes era considerada como um objecto de grande luxo, assim como, ao longo da História, os processos de limpeza dos dentes indicam que era um privilégio das classes de maior nível social.



Figura 1 - Escovas de dentes em exposição no Museu Pierre Fauchard, em Paris (Léfébure, 2001)

A popularidade dos pós e cremes dentífricos aumentou exponencialmente quando a escova de dentes foi reinventada por William Addis por volta de 1770, em Inglaterra. A fábrica, denominada sociedade William Addis, abriu em Londres em 1780 (Léfébure, 2001), perdurando até aos dias de hoje, em que o negócio tem o nome de “Wisdom Toothbrushes” (Wohleber, 2002).

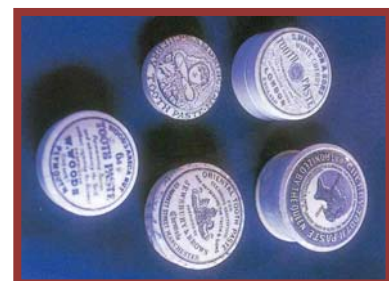


Figura 2 - Antigas caixas de pó dentífrico, em porcelana (Léfébure, 2001)

Pierre Fauchard, o Hipócrates da Medicina Dentária Moderna, que viveu entre 1678 e 1761, foi o primeiro médico que se dedicou exclusivamente aos problemas dentários, constituindo a Medicina Dentária como disciplina independente (Lyons, 198-). Em 1746, Fauchard declarou que os pós, opiatas e colutórios que diziam limpar e branquear os dentes, eram uma fraude. Observou que os principais ingredientes destes produtos (pó de tijolo, pedra-pomes, sumos ácidos, espírito de vitríolo e alumina) eram todas substâncias que desgastavam o esmalte e conferiam manchas amarelas aos dentes (Fischman, 1992). Criou assim algumas fórmulas de pós, pastas e águas dentífricas, bastante complexas (Dechaume, 1977). Fauchard aconselhava também a urina humana, que, não podendo ser tomada ao natural, era destilada e dissolvida em aguardente, água de cresson ou de cocleária (Prélat *cit. in* Boléo 1964). O emprego da urina é muito antigo, sendo considerada, durante mais de dezoito séculos, como um remédio para numerosas doenças e também como uma forma de combater o hálito fétido (Cecconi *cit. in* Boléo 1964).

Em 1802, Longbothom publicou um tratado de Odontologia, em que afirmava que qualquer líquido ou pó, contendo substâncias que dissolvem o tártaro, também destruiriam o esmalte dentário e levariam à perda prematura dos dentes, triste facto mascarado nos próprios rótulos das embalagens, que davam instruções para que após o seu uso se lavasse imediatamente a boca, de modo a eliminar toda e qualquer partícula remanescente. Esta lógica conclusão acabou por não surtir efeito entre os seus colegas, nem entre o público (Fischman, 1992).

Em 1807, uma empresa londrina de produtos farmacêuticos recomendava o uso de pó de carvão como dentífrico, afirmando que este conferia aos dentes uma aparência branca e saudável, que prevenia e tratava as sequelas no esmalte provocadas pelo escorbuto, e que era muito eficaz na eliminação do mau sabor da boca (Fischman, 1992).

Perante as inúmeras propagandas existentes aos dentífricos, os Médicos Dentistas começaram a duvidar das verdadeiras propriedades que lhes eram publicitadas. Thomas Berdmore revoltou-se contra os vendedores de pós dentífricos, segundo ele destrutivos para os dentes, e deu indicações à população alertando para a distinção dos bons e dos maus produtos (Fischman, 1992).

W.D. Miller, em 1890, descreveu a sua teoria da cárie dentária, cuja causa estaria na descalcificação do esmalte pelos ácidos orgânicos, produzidos por bactérias da cavidade oral através da sua actuação nos hidratos de carbono em contacto com o esmalte. Miller impulsionou assim uma nova era da Medicina Dentária preventiva. A sua teoria levou a uma rápida expansão da indústria dos dentífricos, e deu lugar ao estudo, descoberta e adição de novas substâncias aos mesmos. A indústria sofreu uma grande modificação, passando a utilizar uma base alcalina nos seus constituintes (Fischman, 1992).

Originalmente, os dentífricos eram vendidos em jarras de porcelana, onde todos os membros da família mergulhavam as suas escovas dentífricas. Em 1892, Washington Wentworth Sheffield, um dentista de New London, Connecticut, inventou o tubo de pasta dos dentes. Os tubos maleáveis de metal permitiam assim que cada membro da família retirasse uma porção individual de dentífrico. Os primeiros tubos eram de estanho, surgindo, ao mesmo tempo, as máquinas de enchimento automático dos mesmos (Mandel, 1998).

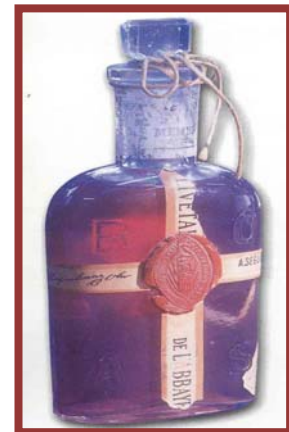


Figura 3 - Frasco de água dentífrica (Léfébure, 2001)

De 1900 a 1930, o sabão dentífrico passou a ser muito conhecido, apesar de um farmacêutico da Faculdade de Paris ter demonstrado a sua nocividade química. Os dentífricos tornaram-se menos abrasivos e a sua composição tornou-se mais rica, pela adição de agentes anti-cárie, do flúor e de compostos aromáticos, cujo objectivo era tornar o seu uso mais agradável (Léfébure, 2001).

Nesta altura, a indústria dos dentífricos teve um rápido crescimento com uma grande competitividade. À parte do sabor, não havia muitas diferenças de uma marca para outra. A fórmula básica era essencialmente a mesma da do século anterior: carbonato de cálcio, o principal constituinte do giz, continuava a ser um abrasivo popular; detergentes sintéticos, como o lauril sulfato, substituíam o sabão; o sorbitol substituíam a glicerina por ser mais doce; e a glicerina ainda era usada como lubrificante (Wohleber, 2002).



Figura 4 - Painéis publicitários da primeira metade do séc. XX - Museu Dentário de Lyon (Léfebure, 2001)

Em 1909, o Professor William J. Gies, da Universidade da Columbia, iniciou um extenso programa de investigação relacionando a composição de vários produtos com os seus atributos publicitários. Durante um período de dez anos ele desmascarou as falsas publicidades e os perigos inerentes aos dentífricos correspondentes (Mandel, 1998).

Em 1928, foi fundado o Departamento de Química da “American Dental Association”, prestigiosa associação dos Médicos Dentistas americanos. Em 1930, nasceu o “Council on Dental Therapeutics” - Conselho de Terapêutica Dentária, que rapidamente lançou um programa de aceitação formal para os produtos dentários com fins terapêuticos, e que tinha como função conceder um selo de garantia aos dentífricos aprovados. O primeiro dentífrico com flúor foi aprovado em 1960 (Mandel, 1998).

Em 1934, David Wemyss Jobson, natural de Edimburgo, afirmou que o pó de pedrapomes era demasiado potente para ser usado frequentemente, e que todos os pós recomendados para branquear os dentes deviam ser evitados, uma vez que não existem substâncias que façam os dentes realmente mais brancos do que eles são naturalmente (Fischman, 1992).

J. Lefoulon, dentista parisiense da mesma época, foi dos primeiros a advogar o bochecho antes da escovagem. Ele dizia que de manhã, depois de acordar, se devia bochechar a boca com água tépida, e só depois usar o pó dentífrico, com o auxílio de uma escova dura (Fischman, 1992).

Após a Segunda Guerra Mundial, muitas indústrias de dentífricos começaram a realizar estudos científicos para estabelecer uma razão fundamental para o uso terapêutico dos mesmos. Entre elas, a Colgate anunciava o seu “Creme Dental” e defendia que se deviam escovar os dentes após as refeições. Apesar desta novidade, eram poucas as pessoas que a incluíam no seu quotidiano.



Figura 5 - Painel publicitário da Colgate, 1950
(Léfébure, 2001)

Por volta de 1949, a ureia e o fosfato de amónia foram introduzidos como ingredientes activos dos dentífricos. Mais tarde, foi também introduzida a clorofila, como elemento essencial para combater o mau hálito.

Em 1954, a Colgate comercializou um dentífrico contendo N-lauril sarcosinato de sódio, ao mesmo tempo que o papel das enzimas e dos inibidores enzimáticos na prevenção da cárie dentária se tornavam do conhecimento geral (Fischman, 1992).

A Procter & Gamble apareceu no mercado em 1955, com o dentífrico Crest, à base de fluoreto de estanho, o qual impulsionou uma nova era de dentífricos terapêuticos (Wohleber, 2002).

Em suma, uma sociedade que outrora sobrevivia utilizando o pó ou a pasta dentífrica, actualmente tem uma variedade desorientadora de pastas para escolher – branqueadoras, fluoretadas, anti-tártaro, para sensibilidade dentária, e todas as outras combinações daí resultantes.

II. A CÁRIE DENTÁRIA

Segundo Pereira (1996), a cárie dentária é uma doença bacteriana pós-eruptiva quase sempre caracterizada por uma destruição progressiva e centrípeta dos tecidos mineralizados dos dentes.

A par com a doença periodontal, é considerada a doença oral mais comum e uma das principais causas de mortalidade dentária, tendo uma distribuição a nível mundial, independentemente do sexo, idade ou nível socioeconómico (Petersen, 2003; Al-Sharbati, 2000).

De acordo com Petersen (2005), a cárie dentária continua a ser um grande problema de saúde oral na maioria dos países industrializados, afectando 60 a 90% de crianças em idade escolar e a grande maioria dos adultos. É também a doença oral mais prevalente em vários países da Ásia e América Latina, enquanto que é menos comum e menos severa na maioria dos países do continente Africano.

Segundo Bagramian (2009), uma visão geral da epidemiologia existente sobre a cárie dentária em vários países, é indicativa de um acentuado aumento na prevalência desta doença a nível global, afectando tanto as crianças como os adultos. Caso não sejam tomadas medidas, poder-se-á colocar a possibilidade de se estar na iminência de uma crise de saúde pública. Para contornar esta situação devem-se retomar as estratégias de saúde pública oral tão bem sucedidas no passado, como as campanhas para a fluoretação das águas de consumo, os métodos de aplicação tópica do flúor, os programas escolares de educação para a saúde oral e a ênfase da importância das técnicas de escovagem, do uso de dentífricos, da diminuição do consumo de hidratos de carbono e das visitas regulares ao médico dentista.

A cárie dentária influencia a saúde geral do indivíduo dado que tem um grande impacto na vida quotidiana e bem-estar das pessoas, ao causar dor (e por vezes levar a infecções locais ou gerais), diminuir a função mastigatória, provocar perturbações fonéticas e alterar o desenvolvimento e a estética faciais (Petersen, 2005).

Os diversos factores etiológicos da cárie dentária, que lhe conferem o seu carácter multifactorial, podem ser agrupados em factores primários, que são essenciais ou indispensáveis à ocorrência da doença, e em factores secundários, que têm diferentes graus de influência na evolução das lesões (Pereira, 1995).

Dentro dos factores primários consideram-se, por sua vez, três grupos de factores: do hospedeiro, do agente e do ambiente. A ocorrência de lesões de cárie, e seu posterior desenvolvimento, está directamente relacionada com a interacção favorável destes três factores, exercendo-se durante um certo tempo (Al-Sharbaty, 2000; Bowen, 1995).

Os factores do hospedeiro englobam a morfologia e a composição química dos dentes e a saliva. A morfologia dentária está intimamente relacionada com a cárie, pois as irregularidades morfológicas originadas pelas cúspides e sulcos das faces oclusais, bem como os pontos de contacto entre as faces proximais de dentes adjacentes, facilitam a acumulação de restos alimentares de difícil remoção, que se permanecerem por longos períodos de tempo podem contribuir para o desenvolvimento de lesões de cárie. Do mesmo modo, as hipoplasias do esmalte, as irregularidades morfológicas das arcadas dentárias ou as relações inter-maxilares anormais, são condições que também favorecem o desenvolvimento destas lesões. A composição química da porção mineralizada dos dentes, principalmente do esmalte, é um factor determinante no desenvolvimento do processo cariogénico, pois vai condicionar a resistência desta estrutura à acção acidogénica. Quando o flúor é incorporado nos dentes em desenvolvimento, o esmalte torna-se mais resistente e é menor a sua dissolução em meio ácido. A saliva contribui para a defesa do hospedeiro contra a cárie através da sua acção de auto-limpeza da cavidade oral, da sua capacidade tampão, neutralizando os ácidos produzidos pelas bactérias, da sua acção remineralizante das lesões de cárie, da libertação de flúor e da produção de imunoglobulinas e enzimas anti-bacterianas (Pereira, 1996).

Os factores do agente compreendem as bactérias orais com potencial cariogénico, como *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus sanguis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Actinomyces viscosus*, *Actinomyces naeslundii*, entre outras (Bowen, 1995; Samaranayake, 1998). No entanto, *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus spp.* são as bactérias mais importantes no aparecimento e

desenvolvimento da cárie dentária, tendo a capacidade para, na presença de hidratos de carbono, produzirem ácidos que levam a uma diminuição do pH do meio envolvente até ao chamado valor crítico (5,5). Abaixo deste valor ocorre a desmineralização do esmalte, tendo como consequências a destruição dos componentes orgânicos e inorgânicos do dente (Pereira, 1996).

Os factores do ambiente englobam o tipo de alimentos presentes na dieta, o tempo em que os mesmos permanecem na cavidade oral e a frequência da sua ingestão. O tipo de dieta tem uma grande influência no processo cariogénico, pois a dissolução do esmalte pelos ácidos provenientes das bactérias resulta directamente do substrato que elas utilizam para a fermentação. Deste modo, dentro dos hidratos de carbono, os monossacarídeos (como a glicose e a frutose) e os dissacarídeos (como a sacarose) são decompostos mais rapidamente pelas bactérias do que os polissacarídeos. Para além deste facto, a sacarose é o único substrato a partir do qual as bactérias conseguem sintetizar os polissacarídeos extracelulares fundamentais para a sua adesão à placa bacteriana, tornando-se assim o hidrato de carbono mais relevante no processo cariogénico. Os alimentos que permaneçam maior tempo na cavidade oral, retidos nas superfícies dentárias, como aqueles com características adesivas, são mais cariogénicos do que os que passam rapidamente no mesmo local. A frequência alta de ingestões contribui para o aumento do risco de cárie, uma vez que o processo de remineralização que ocorre após a descida do pH do meio, não se completa por falta de tempo (Melo, 2001).

Dentro dos factores secundários, os que têm maior relevância na prevalência da doença são o nível sócio-cultural, a higiene oral, as doenças crónicas, o flúor e a hereditariedade. Os factores etiológicos secundários, isoladamente, não são suficientes para causar a doença, sendo apenas indicadores de risco para a mesma (Melo, 2001).

III. BACTÉRIAS CARIOGÉNICAS

A cárie dentária é o resultado da interação de diversas espécies bacterianas, como anteriormente mencionado, no entanto, *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus* desempenham um papel preponderante no início e desenvolvimento desta doença. Como tal, e uma vez que estas bactérias foram utilizadas no presente estudo experimental, ir-se-á fazer uma breve descrição das mesmas.

1. *Streptococcus mutans*

As bactérias do grupo *Streptococcus* constituem uma parte integrante da flora comensal de animais e humanos. Embora estejam geralmente associados a diversas patologias, tais como faringite, febre reumática, pneumonia, endocardite, meningite e cárie dentária, nem todos os *Streptococcus* são patogénicos (Nisengard, 1997).

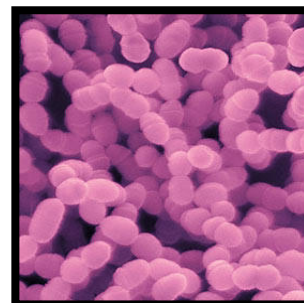


Figura 6 -
Streptococcus mutans
(www.ronaldschulte.nl)

Estas bactérias são esféricas ou ovais, possuem entre 0,5 e 2,0 µm de diâmetro e apresentam-se geralmente em cadeia ou aos pares. São imóveis, não esporuladas, anaeróbias facultativas, catalase negativas e Gram-positivas (Murray, 2007).

Os estreptococos do grupo viridans englobam várias espécies do género *Streptococcus*: *Strep. mutans*, *Strep. salivarius*, *Strep. oralis*, *Strep. sanguis*, *Strep. milleri*, *Strep. sobrinus*, *Strep. rattus*, *Strep. cricetus*, *Strep. ferus*, *Strep. downei* e *Strep. macacae* (Holt, 1994; Brooks, 2007).

Streptococcus mutans é considerada a espécie bacteriana com maior capacidade cariogénica, embora só se torne patogénica quando está presente em quantidades elevadas (Nisengard, 1997).

Esta bactéria está geralmente associada com a fase inicial da cárie dentária, graças à sua capacidade para formar placa bacteriana nas superfícies lisas dos dentes, devido à síntese de polissacarídeos extracelulares, mais concretamente dextranos, altamente viscosos e insolúveis em água, obtidos a partir da sacarose. Consequentemente, a ausência de substrato, nomeadamente dos hidratos de carbono, dificulta o seu crescimento e multiplicação (Murray, 2007).

Coloniza exclusivamente superfícies não descamativas, e tem uma grande capacidade acidogénica, produzindo especialmente ácido láctico, que contribui para a descida do pH do meio e a consequente desmineralização da superfície dentária. Além do mais, é acidófila, tendo a capacidade para sobreviver em meios com o pH ácido (Melo, 2001).

2. *Lactobacillus acidophilus*

O género *Lactobacillus* pertence ao grupo dos bacilos Gram-positivos não esporulados. São bactérias mesófilas, raramente pigmentadas, anaeróbias facultativas e catalase negativas. Apresentam forma de bacilos e o seu tamanho varia entre os 0,5 e os 10,0 µm. São bactérias exigentes a nível nutricional e, por conseguinte, crescem apenas em meios enriquecidos (Holt, 1994).

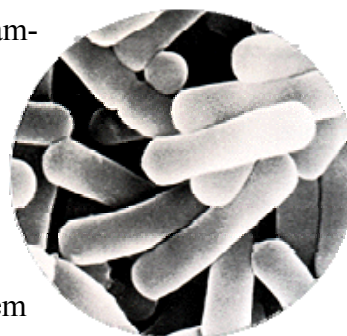


Figura 7 - *Lactobacillus acidophilus*
(www.yourreturn.org)

Fazem parte da flora comensal de animais e humanos, nomeadamente da flora oral, gastrointestinal e do tracto genital feminino. Também estão presentes nas plantas e em matéria orgânica em decomposição, sendo algumas espécies patogénicas. São normalmente isolados da cavidade oral, estando relacionados com o processo cariogénico, e, dentro do género, a espécie mais representativa é o *Lactobacillus acidophilus* (Samaranayake, 1998; Vyas, 2008).

A razão pela qual *Lactobacillus acidophilus* é potencialmente patogénico prende-se com o facto de serem bactérias acidogénicas e acidófilas, além de proliferarem na presença de qualquer tipo de hidratos de carbono e não apenas da sacarose (Samaranayake, 1998). Contudo, não têm capacidade de adesão a superfícies duras,

colonizando preferencialmente superfícies retentivas, tais como fossas e fissuras, margens das restaurações, defeitos de esmalte ou cáries pré-existentes. A colonização de cáries pré-existentes, aliada ao facto de serem frequentemente isoladas de lesões profundas de cárie, faz com que estas bactérias estejam geralmente associadas com o desenvolvimento da cárie dentária, contrariamente aos *Streptococcus mutans*, que estão associados com a fase inicial desta doença (Ureña, 1997).

A contagem do número de *Lactobacillus* na saliva é utilizada como um indicador de actividade de cárie de um indivíduo, uma vez que o número de *Lactobacillus* presente na saliva de um paciente é proporcional à quantidade de hidratos de carbono ingeridos pelo mesmo. Este parâmetro é amplamente utilizado em estudos epidemiológicos (Samaranayake, 1998).

IV. DENTÍFRICOS

Os dentífricos estão disponíveis em várias formas tais como pastas, géis, líquidos ou pós, sendo as mais populares as duas primeiras, com mais de cinco biliões de tubos consumidos por ano em todo o mundo (Reynolds, 1994).

Os dentífricos podem ser classificados em terapêuticos e em não terapêuticos ou cosméticos, de acordo com a incorporação ou não de agentes com efeito terapêutico na sua composição. Os dentífricos não terapêuticos são aqueles cuja única função é limpar e polir os dentes, promovendo um hálito agradável. Os dentífricos terapêuticos além de limparem e polirem os dentes, também contêm substâncias que se destinam a prevenir ou tratar doenças orais, tais como a cárie dentária e a doença periodontal (Scheie, 1992; Marder, 1966).

1. Composição básica

Uma pasta dentífrica contém, como componentes básicos, abrasivos (20 a 50%), humectantes (20 a 40%), água (20 a 35%), aglutinantes (1 a 2%), detergentes (1 a 3%), e conservantes, corantes e aromatizantes (1 a 3%) (Newburn *cit. in* Mandel, 1998).

Os abrasivos são componentes insolúveis usados como agentes de limpeza e polimento, que conferem suavidade e brilho às superfícies dentárias, e que previnem ou retardam a acumulação bacteriana. A abrasividade de um dentífrico é extremamente importante, pois deve ser suficiente para remover a placa bacteriana, mas sem nunca danificar o esmalte. Os abrasivos mais comumente usados são o fosfato de cálcio di-hidratado, o fosfato de cálcio anidro, o metafosfato de sódio insolúvel, o pirofosfato de cálcio, o carbonato de cálcio, o carbonato de magnésio, o hidróxido de alumínio, o trisilicato de magnésio, a sílica, os silicatos e a sílica gel desidratada (Reynolds, 1994).

Os humectantes são substâncias utilizadas para prevenir perdas de água, evitando o endurecimento da pasta dentífrica quando exposta ao ar, e também para lhe conferir o seu aspecto cremoso. Os humectantes mais utilizados são o glicerol e o sorbitol (que têm um sabor adocicado), o propilenoglicol (que tem um sabor ligeiramente acre) e a glicerina. Estas substâncias necessitam de um agente conservante para prevenir o crescimento bacteriano (Marder, 1966).

Os aglutinantes ou espessantes são colóides hidrofílicos que absorvem água formando uma massa viscosa, e são usados para estabilizar o conteúdo da pasta dentífrica, uma vez que previnem a separação dos seus componentes sólidos e líquidos. A maioria dos aglutinantes orgânicos é susceptível à invasão bacteriana, pelo que requerem a adição de conservantes. Os aglutinantes mais usados são as gomas naturais (goma-arábica, goma karaya e goma de tragacanto), os colóides obtidos de algas marinhas (alginato, extracto de musgo da Irlanda e goma carragena), e os derivados sintéticos da celulose (carboximetilcelulose e a hidroxietilcelulose) (Reynolds, 1994).

Os detergentes são substâncias que reduzem a tensão superficial, aumentando a molhabilidade do dentífrico, e facilitando a remoção de manchas e a dispersão dos detritos e depósitos de placa bacteriana que se acumulam nas superfícies dentárias. Também contribuem para a formação de espuma, facto bastante aprazível entre os consumidores, e alguns deles possuem propriedades anti-bacterianas. Os detergentes de maior aplicabilidade são o lauril sulfato de sódio e o n-lauril sarcosinato de sódio (Wilkins, 1989; Barkvoll, 1992).

Os conservantes são usados para evitar a contaminação bacteriana nos aglutinantes e humectantes, estando incluídos neste grupo o formaldeído, os álcoois, os benzoatos, os ésteres do ácido para-hidroxibenzóico e os diclorofenóis (Marder, 1966).

Os corantes são utilizados com a finalidade de melhorar o aspecto da pasta dentífrica, tornando-a mais atractiva para o público. Para este propósito é utilizado o dióxido de titânio para pastas de cor branca e tintas vegetais ou alimentares para pastas coloridas (Reynolds, 1994).

Os aromatizantes são adicionados para conferir um sabor agradável à pasta dentífrica e também para mascarar o sabor menos apazível de outros componentes que entram na sua constituição. O sabor do dentífrico é um factor importante na selecção do mesmo pela maioria das pessoas e resulta de uma combinação de vários componentes, como o mentol, os óleos essenciais (hortelã-pimenta, menta spicata, gaultéria, anis, cravinho, cominho, pimenta, eucalipto, citrinos, noz-moscada, tomilho, canela) e os adoçantes artificiais não cariogénicos, como a sacarina (Wilkins, 1989).

2. Agentes terapêuticos

Além da sua composição básica os dentífricos também podem incorporar agentes terapêuticos, tais como anti-bacterianos, fluoretos, dessensibilizantes, branqueadores, anti-inflamatórios e antibióticos (Andrade *cit. in* Rosell, 2004).

Uma vez que a placa bacteriana resulta de uma agregação complexa de várias espécies bacterianas, a combinação de um ou mais agentes com efeitos inibitórios complementares vai aumentar de forma significativa a eficácia dos mesmos (Torres, 2000).

2.1. Anti-bacterianos

Os dentífricos são considerados excelentes veículos para os agentes anti-bacterianos pois não exigem mudanças de hábito por parte dos pacientes, sendo assim bem aceites pelos mesmos (Torres *cit. in* Ditterich, 2007).

O uso de substâncias anti-bacterianas tem como objectivo inibir a actividade bacteriana no meio oral (Wilkins, 1989).

Os agentes anti-bacterianos incorporados nas pastas dentífricas podem ser divididos em várias categorias, tais como agentes catiónicos, agentes não iónicos, compostos fenólicos, halogéneos, substâncias naturais, agentes oxigenantes, enzimas e xilitol (Torres, 2000).

2.1.1. Agentes catiónicos

Os agentes catiónicos como a clorohexidina, a alexidina, o cloreto de cetilpiridíneo, a hexetidina e os iões metálicos são os mais eficazes de todos, pois ligam-se rapidamente à superfície bacteriana, cuja carga é negativa (Thylstrup, 1995).

A clorohexidina, classificada quimicamente como uma bisguanida, é um dos agentes anti-bacterianos mais estudados e mais eficazes. Possui um amplo espectro de acção actuando sobre bactérias Gram-positivas, bactérias Gram-negativas, bactérias aeróbias, bactérias anaeróbias facultativas, fungos e leveduras, e apresenta uma alta substantividade, segurança e eficiência. Em altas concentrações é bactericida, actuando na desorganização da membrana celular, e em baixas concentrações é bacteriostática, inibindo enzimas específicas da mesma. *Streptococcus mutans* é muito sensível à clorohexidina, uma vez que esta inibe a incorporação de hidratos de carbono por esta bactéria, bem como o metabolismo para a formação de ácido láctico. Geralmente é utilizada na forma de sal de digluconato, podendo ser incorporada em pastas dentífricas, colutórios, géis, vernizes ou sprays (Thylstrup, 1995). Possui diferentes aplicações clínicas, sendo usada para diminuir a formação de placa bacteriana, prevenindo o desenvolvimento da gengivite, para inibir *Streptococcus mutans*, prevenindo a cárie dentária, como terapêutica adjuvante após o tratamento cirúrgico (periodontal ou maxilo-facial), em crianças ou adultos deficientes com problemas motores e em casos de gengivite ulcerativa necrosante, para controlar a inflamação (Wilkins, 1989). No entanto, apesar da clorohexidina ser um excelente agente anti-bacteriano, devido aos seus efeitos colaterais o seu uso deve ser restrito a indicações específicas, e deve ser usada em pequenas concentrações e por curtos períodos de tempo. Os efeitos colaterais

mais frequentes são a pigmentação dos dentes, do dorso da língua, das restaurações e das próteses, descamação das mucosas, disgeusia, paladar amargo e aumento da deposição de tártaro supragengival, que podem ser atenuados com a redução da concentração (Pereira, 1996).

A alexidina é uma bisguanida com semelhanças estruturais à clorohexidina e embora a sua eficácia clínica seja comparável à última, o seu uso não é comum. O cloreto de cetilpiridíneo é um composto de amónio quaternário com um amplo espectro de acção e, segundo Gjermo (*cit. in* Thylstrup 1995), as suas propriedades anti-bacterianas são iguais ou melhores que a clorohexidina, embora a sua capacidade de inibição de placa bacteriana seja inferior. É amplamente usado em colutórios e não se acompanha de muitos efeitos laterais atribuíveis à clorohexidina.

A hexetidina é uma hexahidropiridina sintética activa contra bactérias (incluindo *Streptococcus mutans*) e fungos, embora nas concentrações clinicamente aceitáveis nos colutórios ela tenha somente um efeito anti-placa, que é aumentado quando é associada a iões metálicos (Thylstrup, 1995).

Os iões metálicos, como o cobre, o estanho e o zinco, têm propriedades anti-bacterianas, interagindo com bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, sendo que o cobre e o estanho são mais eficazes que o zinco. Possuem grande substantividade, ficando retidos nos locais de acção e sendo lentamente libertados na cavidade oral. O fluoreto de estanho, incorporado em pastas dentífricas, géis e colutórios, possui propriedades cariostáticas e anti-placa, e o citrato de zinco, o sulfato de zinco e o cloreto de zinco são adicionados às pastas dentífricas pois têm um efeito anti-tártaro, ao interferirem com a mineralização da placa bacteriana. Todavia, os iões metálicos têm efeitos colaterais tais como sabor metálico desagradável, sensação de boca seca e coloração castanha ou amarelada nos dentes (Davey, 1992).

2.1.2. Agentes não iónicos

Os agentes não iónicos estão representados pelo triclosan, um derivado fenólico usado como agente anti-bacteriano em pastas dentífricas e colutórios (0,2 a 0,3%), e cuja

acção se baseia na desorganização e inibição de enzimas da membrana celular. Possui um amplo espectro de acção, sendo activo contra bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e fungos, e inibindo a incorporação e o metabolismo da glicose por *Streptococcus mutans*. A eficácia anti-placa e a substantividade do triclosan sozinho são limitadas, razões que levaram à elaboração de duas novas fórmulas: Triclosan/Citrato de zinco, em que é adicionado citrato de zinco de modo a potenciar o seu efeito anti-bacteriano, e Triclosan/Gantrez, em que é adicionado um copolímero, ácido maleico de éter metílico polivinil (PVM/MA), comercialmente conhecido como Gantrez, que aumenta a sua eficácia, ao aumentar a retenção oral e diminuir a sua libertação. De acordo com Thylstrup (1995), estes produtos são eficazes contra a gengivite, estando indicados em problemas periodontais, sendo desprovidos de acção cariostática (Scheie, 1992; Cummins, 1992).

2.1.3. Compostos fenólicos

Os compostos fenólicos englobam os óleos essenciais, que, como foi referido anteriormente, estão presentes na composição básica de um dentífrico na qualidade de aromatizantes. Além desta propriedade, os óleos essenciais também possuem acção anti-bacteriana, uma vez que inibem a formação de placa bacteriana e previnem a gengivite. O Listerine® (Johnson & Johnson) é um representante desta categoria, sendo composto por uma mistura de óleos essenciais como o timol, o mentol, o eucaliptol e o salicinato de metilo. O cloreto de zinco, não metálico citado anteriormente, pode ser utilizado em associação aos óleos essenciais, devido às suas propriedades anti-tártaro. Os efeitos colaterais destas substâncias são a sensação de ardor e de queimadura das mucosas (Torres, 2000).

2.1.4. Halogéneos

O grupo dos halogéneos engloba os fluoretos, como o fluoreto de sódio, o monofluorofosfato de sódio, o fluoreto de estanho e o diamino-fluoreto de prata.

O flúor foi o primeiro agente terapêutico a ser incorporado nos dentífricos, e a primeira pasta dentífrica com flúor a ser reconhecida com o selo de garantia da ADA data de

1960 (Mandel, 1998). Actualmente, vários dentífricos fluoretados são reconhecidos pela ADA como agentes cariostáticos seguros e eficazes, e quase todos contêm fluoreto de sódio ou monofluorofosfato de sódio como princípio activo (Pereira, 1996).

De acordo com Pereira (1996) ” (...) a acção cariostática dos dentífricos fluoretados é hoje universalmente reconhecida” e, como tal, o seu uso é o principal factor na diminuição da incidência da cárie dentária em todo o mundo.

O flúor tem diversos mecanismos de acção cariostática, tendo efeitos na remineralização e na solubilidade do esmalte, e uma acção anti-bacteriana. O principal produto resultante da reacção do flúor com a hidroxiapatite é o fluoreto de cálcio, que precipita nos locais que estejam expostos ao flúor iónico. A sua precipitação nas lesões cariosas iniciais, com consequente libertação de flúor, é o mecanismo chave na remineralização destas lesões. Quando o flúor está presente na fase aquosa à volta da superfície dentária, na saliva e no fluido da placa, a solubilidade do esmalte é baixa, o que lhe confere uma maior resistência ao ataque ácido. O flúor também tem um efeito anti-bacteriano pois impede a colonização, o crescimento, a multiplicação e o metabolismo bacterianos (Krasse, 1988; Thylstrup, 1995).

As pastas dentífricas podem conter diferentes concentrações de flúor: concentrações baixas quando têm entre 250 e 500 ppm, concentrações convencionais quando têm entre 1000 e 1100 ppm, e concentrações altas quando têm entre 1450 e 1500 ppm. Os dentífricos com alta concentração de flúor têm maior eficácia cariostática, no entanto não devem ser usados em crianças em idade pré-escolar, e em crianças que tomem suplementos de flúor ou que vivam em áreas com fluoretação das águas de consumo, sob o risco de provocar fluorose dentária (Richards, 1992).

O efeito secundário mais importante da utilização de pastas dentífricas fluoretadas é a fluorose dentária, causada, principalmente, pela ingestão crónica de dentífricos pelas crianças e, como referido anteriormente, pelo uso de dentífricos com concentrações altas de flúor. Muito raramente podem ocorrer reacções alérgicas, sob a forma de queilites, gengivites, edema dos tecidos, ulcerações e descamação epitelial (Thylstrup, 1995).

O fluoreto de sódio é, de todos os fluoretos, o mais eficaz. Tal como o monofluorofosfato de sódio, tem um efeito cariostático pela diminuição da solubilidade do esmalte, provocada pelos ácidos produzidos pelas bactérias (Thylstrup, 1995). O fluoreto de estanho tem propriedades anti-cariogénicas e de todos os fluoretos é aquele que tem uma semi-vida mais curta, sendo mais comumente utilizado na forma de gel e na concentração de 0,4%, que é a mais eficaz. Tem uma aplicabilidade clínica limitada, devido à sua instabilidade química, ao seu sabor metálico e à pigmentação negra e linear que deixa nas superfícies dentárias (Torres, 2000). O diamino-fluoreto de prata possui acção bactericida contra *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus sp.*, impedindo a aglutinação de dextranos e reduzindo a colonização da superfície do esmalte por estas bactérias. A sua utilização está indicada no tratamento de cáries rompantes, quando não é possível o tratamento restaurador, e também para impedir a progressão de lesões cáries (Torres, 2000).

2.1.5. Substâncias naturais

As substâncias naturais têm vindo a ser incorporadas em inúmeras pastas dentífricas e colutórios, devido às suas propriedades anti-bacterianas e anti-inflamatórias. A fitoterapia (do grego *therapeia* = tratamento e *phyton* = vegetal), é o estudo das plantas medicinais e suas aplicações, e cada vez tem maior aceitação por parte das pessoas, pelo que a introdução de agentes fitoterapêuticos em dentífricos tem ganho muita popularidade (Ditterich, 2007). São exemplos de substâncias naturais a salva, a menta, o eucalipto, a camomila, a mirra, o aloé vera, o extracto de juá, o tomilho, o cacau, a propólis, a sanguinarina, o extracto de malva e o quitosano.

A salva (*Salvia officinalis* L.) possui uma acção anti-séptica e anti-inflamatória, sendo empregue no tratamento de estomatites, gengivites, glossites, aftas e halitose (Kozel *cit. in* Torres, 2000).

A menta (*Menta peperita* L.) contém nas suas folhas um óleo essencial rico em mentol, mentona e mentofurano, que possui propriedades anti-inflamatórias, sendo usada no tratamento da estomatite, de outras inflamações da cavidade oral e da halitose (Barreto, 2005).

O eucalipto (*Eucalyptus globulus* Labill.) contém um óleo essencial constituído por mais de 60% de eucaliptol, que é utilizado para evitar a gengivite (Xavier *cit. in* Barreto, 2005).

Segundo Pereira (*cit. in* Barreto, 2005) a camomila (*Matricaria chamomilla* L.) e a mirra têm um efeito anti-bacteriano semelhante à clorhexidina.

O aloé vera é uma planta rica em aloferon, que actua na multiplicação celular, acelerando a cicatrização, em antraquinona, que tem uma acção antisséptica, e em acemannan, que é um mucopolissacarídeo com propriedades anti-virais, anti-bacterianas e anti-micóticas.

O extracto de juá é um fitoterapêutico obtido da árvore de juazeiro (*Zizyphus joazeiro* Mart.), cujo principal componente químico é uma saponina triterpénica derivada do ácido oleanólico que tem propriedades detergentes, abrasivas e anti-bacterianas (Barreto, 2005).

O tomilho contém nas suas folhas 2 a 2,5 % de óleos essenciais, como o cimol e o timol, sendo empregue como um anti-séptico (Barriga *cit. in* Torres, 2000).

O extracto de cacau foi estudado *in vitro* por Paolino (*cit. in* Torres, 2000), que observou a sua capacidade para inibir a enzima glicosil transferase, responsável pela formação de polissacarídeos extracelulares em várias bactérias, tais como *Streptococcus mutans*.

A propólis é uma substância resinosa extraída em diversas plantas pelas abelhas e modificada pelas enzimas contidas na sua saliva. De acordo com Figueiredo (*cit. in* Torres 2000) esta resina possui propriedades anti-bacterianas, anti-inflamatórias, cicatrizantes, anti-sépticas, entre outras, que estão relacionadas com os seus principais componentes como os flavonóides, os ácidos fenólicos e seus ésteres, que pertencem ao grupo dos compostos fenólicos. A propólis é activa contra *Streptococcus mutans* e tem um mecanismo de inibição da enzima glicosiltransferase, responsável pela formação de placa bacteriana (Park *cit. in* Torres, 2000).

A sanguinária (*Sanguinaria canadensis* L.) é um alcalóide vegetal, também podendo ser classificada como um agente catiónico. O extracto de sanguinária é uma mistura de alcalóides benzofenantridinos, obtidos através da extracção alcoólica da seiva da raiz desta planta. Pode ser incorporado em pastas dentífricas ou colutórios, devido à sua acção anti-bacteriana contra bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, uma vez que provoca alterações da superfície celular bacteriana, reduzindo a agregação e adesão. As fórmulas comerciais desta substância agregam-lhe o cloreto de zinco, aumentando assim o seu potencial de inibição de formação de placa bacteriana. O efeito colateral do extracto de sanguinária é a sensação de ardor das mucosas (Thylstrup, 1995).

O extracto de malva é também um alcalóide vegetal, com propriedades emolientes, calmantes, expectorantes e anti-inflamatórias. A malva, associada ao quinosol e à tirocicina, está indicada para o tratamento de aftas, gengivites, estomatites e abscessos dentários.

O quitosano é um polímero hidrossolúvel semelhante à celulose, derivado da quitina, abundantemente encontrada no exoesqueleto dos crustáceos marinhos, de onde é na maior parte das vezes extraída. Pode ser incorporado em dentífricos e colutórios pelos seus efeitos anti-bacterianos, sendo activo contra *Streptococcus mutans* e eficaz na inibição da formação da placa bacteriana (Torres, 2000).

2.1.6. Agentes oxigenantes

Os agentes oxigenantes, como o peróxido de hidrogénio, o perborato de sódio e o peróxido de ureia, têm uma acção anti-bacteriana limitada, uma vez que só são eficazes enquanto há oxigénio disponível. Além do mais, o uso crónico destas substâncias pode ser perigoso, uma vez que podem ter potencial mutagénico, aumentar o risco de candidíase oral, provocar hipersensibilidade nas raízes dentárias expostas e induzir desmineralização das superfícies dentárias. Deste modo, os agentes oxigenantes têm maior aplicabilidade no tratamento da gengivite ulcerativa necrosante aguda (GUNA), em casos de pericoronarites, e como agentes de irrigação das bolsas periodontais (Wilkins, 1989).

2.1.7. Enzimas

As enzimas, como a glucose oxidase, a amiloglucosidase, a lactoperoxidase e a glucolactoperoxidase, podem ser incorporadas em pastas dentífricas e colutórios, se bem que a sua eficácia clínica ainda não esteja totalmente esclarecida. Pensa-se que podem ter um efeito anti-placa e anti-gengivite, ao actuarem no metabolismo da formação de placa bacteriana. Em casos de xerostomia resultante de efeitos colaterais de medicamentos, doenças das glândulas salivares (como o Síndrome de Sjogren) e irradiação da cabeça e pescoço, enzimas como a lisozima, a lactoferrina e a peroxidase também podem ser usadas com o intuito de restabelecerem a função anti-bacteriana da saliva (Cummins, 1992; Mandel, 1998).

2.1.8. Xilitol

O xilitol é um pentiol que pode ser encontrado em muitas frutas, grãos e vegetais, sendo usado como aromatizante artificial. Tem um poder adoçante semelhante ao da sacarose, mas não é cariogénico, sendo por isso usado nos dentífricos como agente aromatizante e como agente anti-bacteriano, uma vez que inibe o crescimento e o metabolismo de *Streptococcus mutans* e da placa bacteriana (Amaechi *cit. in* Torres, 2000).

2.2. Dessensibilizantes

Os agentes dessensibilizantes são cada vez mais usados em dentífricos pois a hipersensibilidade dentinária é cada vez mais frequente na população, atingindo ambos os sexos em proporções de 8,7 a 30% (Gillam *cit. in* Madhu, 2006). Os agentes dessensibilizantes mais usados são o nitrato de potássio, o citrato de potássio, o cloreto de potássio, o cloreto de estrôncio, o citrato de sódio, o fluoreto de sódio, o fluoreto de estanho, o oxalato férrico, o oxalato de potássio e o fosfato de cálcio. Os fluoretos actuam diminuindo a permeabilidade dentinária, pela precipitação do fluoreto de cálcio, que é insolúvel, nos túbulos dentinários. Os iões de potássio reduzem a excitabilidade dos nervos tubulares, e os oxalatos e o fosfato de cálcio também reduzem a permeabilidade dentinária. Estes princípios activos são muitas vezes associados com o objectivo de potenciar o seu efeito dessensibilizante, à excepção do cloreto de estrôncio

e dos fluoretos, que não são compatíveis. Embora estas substâncias sejam altamente eficazes, o seu uso deverá ser prolongado, dado que a interrupção do tratamento pode voltar a precipitar os sintomas (Mandel, 1998; Orchardson, 2006).

2.3. Branqueadores

Os agentes branqueadores são utilizados não só com objetivos estéticos, mas também como parte do tratamento de alterações causadas por factores sistémicos, metabólicos, farmacológicos, traumáticos ou iatrogénicos. Para o efeito de branqueamento dentário são incorporados às pastas dentífricas o peróxido de hidrogénio, o peróxido de carbamida, o peróxido de cálcio e o perborato de sódio, cujos mecanismos de acção se baseiam na libertação de óxidos que irão penetrar no esmalte e/ou nos túbulos dentinários, promovendo oxidação ou redução dos pigmentos dentários, e assim o efeito branqueador. O peróxido de ureia é muitas vezes associado a estes agentes, pois aumenta a capacidade de penetração do esmalte pelo seu efeito abrasivo, e também desempenha um papel muito importante na alcalinização do meio, reduzindo os efeitos adversos deste tipo de tratamento (Yamashita, 2006).

2.4. Anti-inflamatórios

As substâncias com propriedades anti-inflamatórias podem ser adicionadas às pastas dentífricas, estando indicadas no tratamento de processos inflamatórios gengivais, uma vez que favorecem a regeneração e epitelização das mucosas. Como exemplos destas substâncias temos a alantoína, a pro-vitamina B5, a vitamina P, o ácido hialurónico, a enoxolona e a vitamina E (<http://www.odontocat.com/dentcolca.htm>).

2.5. Antibióticos

Antibióticos como a tetraciclina e a ampicilina podem ser incorporados nas pastas dentífricas, embora o seu uso esteja confinado ao tratamento da doença periodontal recorrente /refractária (Cummins, 1992).

3. Aprovação da “American Dental Association” (ADA)

A “American Dental Association” (ADA) tem um departamento denominado “Council on Dental Therapeutics” (CDT) cuja função é testar todos produtos de higiene oral que se encontram comercialmente disponíveis, como as pastas dentífricas, os colutórios, as escovas dentífricas (manuais e eléctricas) e os fios dentários. Estes produtos, após o estudo e investigação em termos de segurança, eficácia e veracidade das propriedades que lhe são publicitadas, podem ser classificados em “accepted” (aceites), “provisionally accepted” (aceites provisoriamente) e em “unaccepted” (não aceites). A aprovação pela ADA é deste modo assegurada pelos selos de garantia, que seguem a nomenclatura acima referida. O selo de garantia da ADA é assim uma importante forma de controlo de todos os medicamentos e substâncias químicas usadas no diagnóstico, tratamento e prevenção das doenças orais (Wilkins, 1989; ADA, 2009).



Figura 8 - Selo de aceitação da ADA
(www.dentalproductsreport.com)

As pastas dentífricas aprovadas com o selo de garantia da ADA encontram-se discriminadas no website desta instituição, sendo importante referir que a maioria dos dentífricos que se encontram à venda em hipermercados e supermercados nacionais, incluindo aqueles testados no presente estudo experimental, não possuem esta importante distinção.

4. Mecanismos de acção

Os agentes químicos incorporados em pastas dentífricas, com o objectivo de controlar a actividade cariogénica bacteriana, devem possuir certas características, tais como: baixa toxicidade e baixa permeabilidade pelos tecidos orais, isto é, não devem ser absorvidos pelas mucosas, não devem provocar reacções de hipersensibilidade e irritação dos tecidos e, caso sejam acidentalmente ingeridos, não devem manifestar toxicidade sistémica; acção específica, ou seja, devem actuar sobre as bactérias cariogénicas mas não devem alterar o equilíbrio entre a flora comensal e o hospedeiro, de modo a evitar a proliferação de bactérias oportunistas; substantividade, isto é, devem ficar retidos no

local de acção por longos períodos de tempo e devem ser lentamente libertados, evitando que o seu efeito seja rapidamente neutralizado pelo fluxo salivar; acção bactericida rápida, de modo a evitar a selecção de bactérias resistentes; estabilidade em solução, biodegradabilidade e actividade num amplo espectro de pH e de concentrações; sabor aceitável e baixa probabilidade de provocar alterações no paladar e descolorações dos dentes e das mucosas (Caufield *cit. in* Pereira, 1996; Thylstrup, 1995; Ditterich, 2007).

O veículo ideal para a libertação de agentes anti-bacterianos na cavidade oral deve reunir certas características, tais como a sua compatibilidade com o agente activo, uma adequada biodisponibilidade do agente activo no local de acção e uma boa aceitação por parte do paciente. Como já foi supracitado, as pastas dentífricas constituem um excelente veículo para estas substâncias (Torres, 2000).

Os agentes quimio-terapêuticos incorporados nos dentífricos, que foram descritos até agora, possuem diversos modos de acção, tais como inibição da colonização bacteriana, inibição do crescimento e metabolismo bacterianos, desestruturação da placa bacteriana madura e modificação da bioquímica e ecologia da placa bacteriana.

A inibição da colonização bacteriana é conseguida através da redução da adesão das bactérias nas superfícies dentárias, sendo usados para este propósito agentes, que uma vez adsorvidos, diminuem a energia livre de superfície do esmalte.

A inibição do crescimento e metabolismo bacteriano é exercida através de agentes anti-bacterianos de largo espectro com propriedades bactericidas ou bacteriostáticas. Estes agentes ligam-se à membrana bacteriana, interferindo com as suas funções e perturbando o seu metabolismo, ou alterando a sua permeabilidade, que tem como consequências o extravasamento dos componentes intracelulares e a desnaturação e coagulação das proteínas citoplasmáticas.

A desestruturação da placa bacteriana madura é obtida pela acção hidrolítica de agentes como as enzimas e a clorohexidina, que promovem a desaglutinação dos polissacarídeos extracelulares.

A modificação da bioquímica da placa bacteriana, reduzindo a formação de produtos citotóxicos, e da ecologia da mesma, para uma flora menos patogénica, é consequência da supressão prolongada do metabolismo bacteriano, pelo uso regular de agentes quimio-terapêuticos (Cummins, 1992; Thylstrup, 1995; Busscher, 2006).

Estes diferentes mecanismos de acção dos dentífricos, encontram-se resumidos no esquema seguidamente apresentado.

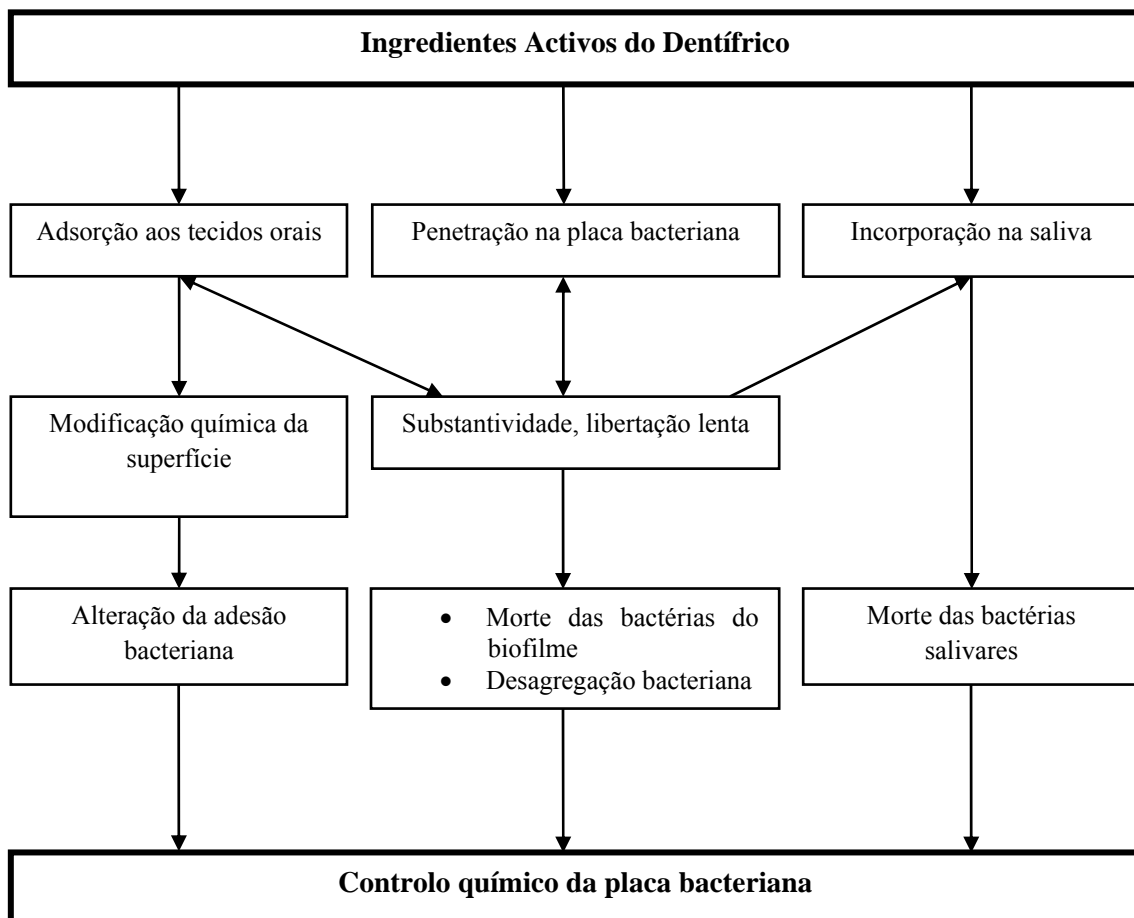


Figura 9 - Apresentação esquemática dos diferentes mecanismos de acção dos ingredientes activos incorporados nos dentífricos, para o controlo químico da placa bacteriana (adaptado de Busscher, 2006)

V. ESTUDOS *IN VITRO* DE AVALIAÇÃO DA ACTIVIDADE ANTI-BACTERIANA DOS DENTÍFRICOS

A investigação laboratorial sobre os componentes anti-bacterianos incorporados nos dentífricos é crucial para o desenvolvimento deste tipo de produtos terapêuticos. Os estudos *in vitro* são uma forma rápida e relativamente económica de seleccionar os componentes que apresentam propriedades anti-bacterianas, de modo a integrá-los em estudos mais complexos, como os ensaios clínicos. Por esta razão, os estudos *in vitro* devem ser concebidos com os objectivos de determinar: o espectro de acção anti-bacteriana, os mecanismos de acção anti-bacteriana, as formas de optimização da acção anti-bacteriana, o efeito modificador dos factores ambientais e do hospedeiro sobre a acção anti-bacteriana, e a ocorrência de alguns efeitos laterais. Além do mais, os estudos laboratoriais devem possuir previsibilidade, isto é, devem fornecer informação que facilite a escolha dos agentes anti-bacterianos a integrar em ensaios clínicos longitudinais, de modo a reduzir o número de experiências desnecessárias e altamente onerosas conduzidas em animais e humanos (Marsh, 1992).

Contudo, torna-se pertinente salientar que os resultados obtidos nos estudos laboratoriais devem ser cautelosamente interpretados, pois existem inúmeros factores, impossíveis de mimetizar *in vitro*, que podem alterar o uso ou a acção de um determinado produto. Desta forma, e embora este tipo de estudos forneçam informação valiosa sobre os ingredientes dos dentífricos e a suas combinações, essa mesma informação não deve, de forma alguma, ser extrapolada para uma situação real (Addy, 1992).

1. Testes de sensibilidade bacteriana

Os testes de sensibilidade utilizados para avaliar os agentes anti-bacterianos usados na Medicina Dentária baseiam-se naqueles que têm vindo a ser desenvolvidos para aplicação clínica na área da Medicina. Este tipo de testes tem como objectivo a determinação de dois importantes parâmetros: a concentração mínima inibitória (CMI) e a concentração mínima bactericida (CMB). A CMI é a menor concentração a partir da qual um agente possui a capacidade de inibir o crescimento bacteriano, e pode ser

determinada de duas formas: pela incorporação de um agente inibidor, com uma vasta gama de concentrações, directamente numa placa de agar, ou por diluições seriadas de um inibidor, posteriormente incorporadas num meio líquido de crescimento bacteriano. A CMI é um parâmetro de especial importância pois é o principal indicador da eficácia anti-bacteriana de um agente. A CMB é a menor concentração a partir da qual 99,9% das bactérias presentes são mortas pelo agente, num período de tempo definido. Embora a CMB raramente tenha sido determinada para os agentes anti-bacterianos incorporados nos dentífricos, as experiências com antibióticos sugerem que a CMB é mais elevada do que a CMI. No entanto, na Medicina Dentária, os agentes anti-bacterianos são incorporados nos dentífricos com o intuito de controlar a placa bacteriana, em vez de a eliminar, e prevenir a cárie dentária, em vez de a tratar. Consequentemente, os agentes anti-bacterianos mais bem sucedidos são aqueles que possuem actividade num amplo espectro de concentrações, principalmente a níveis sub-letais e sub-CMI, ou seja, aqueles que ficam retidos por longos períodos de tempo e são libertados lentamente num nível sub-MIC são os mais eficazes (Marsh, 1992).

Existem várias técnicas para determinar a concentração mínima inibitória e a concentração mínima bactericida, tais como o método de difusão em agar, os métodos de diluição e o E-teste. (Ureña, 1997). O método de difusão em agar, que se encontra bibliograficamente referenciado por vários autores (Souza-Gugelmin, 2006 ; Leyster, 2006; Barreto, 2005; Lee, 2004), será seguidamente descrito, dado que foi aquele que serviu de base para o estudo experimental realizado nesta monografia.

1.1. Método de difusão em agar

O método de difusão em agar, também denominado técnica de difusão em agar pelo sistema do disco, teste de difusão do disco ou simplesmente método do disco, foi desenvolvido por William Kirby e A.W. Bauer, em 1966. Este método é actualmente recomendado pela FDA (Food and Drug Administration) e standardizado pelo CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (Ureña, 1997).

Embora esta técnica produza, essencialmente, resultados qualitativos, classificando as bactérias em sensíveis, intermédias ou resistentes, também pode ser usada como um

teste quantitativo. As suas principais vantagens são a flexibilidade no número e tipo de agentes anti-bacterianos que podem ser testados, a facilidade de realização de testes individuais em qualquer altura, a simplicidade e rapidez de execução, e a obtenção de resultados precisos e reproduzíveis. As suas principais desvantagens são a inaplicabilidade em algumas bactérias de crescimento lento e também em algumas bactérias anaeróbias, e a deficiente produção de resultados em agentes anti-bacterianos de fraca difusão (Thornsberry, 1991)

O método do disco de Kirby e Bauer baseia-se no princípio de que se um disco impregnado com um antibiótico for colocado numa placa de agar previamente inoculada com a bactéria em estudo, ocorre um fenómeno de difusão centrífuga/radial do antibiótico através do agar, produzindo-se um gradiente de concentração do mesmo. Desta forma, o antibiótico está presente em grandes concentrações perto do disco, e à medida que a distância ao centro do disco aumenta a concentração do antibiótico diminui. Este fenómeno é traduzido por um halo claro, transparente à volta do disco quando há inibição do crescimento bacteriano pelo antibiótico (Figura 10), o que significa que quanto maior for o halo de inibição maior é a sensibilidade da bactéria ao antibiótico (Ureña, 1997).

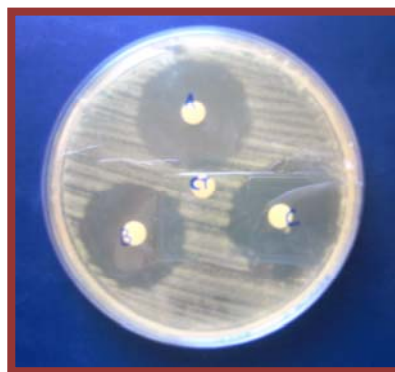


Figura 10 – Método do disco de Kirby e Bauer

O meio de cultura recomendado para a realização desta técnica é o meio de Mueller-Hinton agar, no entanto, neste estudo foram usados os meios Brain Heart Infusion (BHI) e Man, Rogosa, Sharpe (MRS), quer para a preparação dos inóculos bacterianos, quer para a realização da técnica de difusão em agar. O uso destes meios alternativos deveu-se ao facto de após várias experiências preliminares se constatar que não havia crescimento das bactérias no meio preconizado por esta técnica. Depois de uma exaustiva consulta bibliográfica foram seleccionados os meios Brain Heart Infusion (BHI) para o crescimento de *Streptococcus mutans* (Rosell, 2004; Barreto, 2005; Souza-Gugelmin, 2006; Murray, 2007) e Man, Rogosa, Sharpe (MRS) para o crescimento de *Lactobacillus acidophilus* (Danielsen, 2003), que se mostraram eficientes.

Para a inoculação das placas é introduzida uma zaragatoa estéril numa suspensão bacteriana de 0,5 McFarland, e o excesso é removido rodando e pressionando a zaragatoa contra as paredes do tubo, acima do nível do líquido. Seguidamente realiza-se o espalhamento na placa executando-se movimentos de ziguezague com a zaragatoa em três direcções. Após a inoculação, as placas devem secar durante 3 a 5 minutos (no máximo 15 minutos) (Wiley, 2008).

Passado este tempo, os discos são colocados na superfície das placas previamente inoculadas, com o auxílio de uma pinça estéril. Os discos devem ser suavemente pressionados contra a superfície do agar, utilizando-se a pinça ou uma agulha estéril, de modo a assegurar um contacto íntimo com a dita superfície. Para além do mais, os discos devem ser dispostos com uma distância suficiente entre si, para evitar a sobreposição dos halos de inibição, e com uma distância mínima de 10 a 15 mm da periferia da placa (Ureña, 1997).

Após quinze minutos da aplicação dos discos, as placas devem ser invertidas e incubadas a 36°C (\pm 1°C). Um atraso de tempo neste processo pode condicionar uma excessiva pré-difusão do agente anti-bacteriano (Barry, 1991).

Os diâmetros dos halos de inibição resultantes são medidos em milímetros, com o auxílio de uma craveira. A leitura dos halos deve ser efectuada por um único observador a partir da placa de Petri colocada sobre uma base preta não reflectora, num local bem iluminado. Os diâmetros dos halos de inibição podem ser considerados equivalentes aos valores de concentração mínima inibitória (CMI) do agente bacteriano, ou traduzidos qualitativamente em três categorias, baseadas nas tabelas de interpretação de resultados. Desta forma, uma bactéria pode ser classificada em: sensível (S), intermédia (I), ou resistente (R). Uma bactéria é sensível (S) a determinado agente quando o diâmetro do halo de inibição é igual ou superior ao valor estipulado, é resistente (R) quando o diâmetro do halo de inibição é igual ou inferior ao valor estipulado, e intermédia (I) quando o diâmetro do halo de inibição é inferior ao valor estipulado para S e superior ao valor estipulado para R (Wiley, 2008).

VI. MATERIAL E MÉTODOS

1. Material

1.1. Recolha de informação

Para a realização desta monografia recorreu-se a material bibliográfico escrito em língua portuguesa, inglesa e francesa, disponível em livros e revistas científicas, consultados em várias bibliotecas universitárias. Como fontes de pesquisa foram ainda utilizados motores de busca da Internet, tais como o Pubmed, a Medline, o Elsevier, a Scielo, o Science Direct e o Google.

A recolha dos preços de mercado das pastas dentífricas foi feita junto de seis superfícies comerciais: Jumbo (Maia), Continente (Maia), Pingo Doce (Maia), Feira Nova (Santa Maria da Feira), Minipreço (Maia) e Intermarchê (Santa Maria da Feira), no período compreendido entre 08/01/09 e 10/01/09. Procurou-se minimizar o tempo de recolha de forma a evitar possíveis alterações dos preços.

1.2. Recursos materiais utilizados

- Cultura de *Streptococcus mutans* (proveniente de um isolado clínico)
- Cultura de *Lactobacillus acidophilus* (ATCC4356)
- Meio Brain Heart Infusion (BHI) (Oxoid, Ref. CM0225) (para o crescimento de *Streptococcus mutans*)
- Meio Man, Rogosa, Sharpe (MRS) (Oxoid, Ref. CM0359) (para o crescimento de *Lactobacillus acidophilus*)

- 6 pastas dentífricas: Sensodyne® Protecção Total (75ml), Colgate® Anti-cáries (75ml), Aquafresh® Limpeza Extrema (75ml), Polegar® com Flúor (75ml), Dia® Bi-flúor Action (75ml), Auchan® Anti-cáries (75ml).
- Discos estéreis de antibiograma com 6mm de diâmetro (Oxoid, Ref. CT0998B)
- Estufa (Binder, modelo BD115)
- Densitómetro (BioMerieux, modelo Densimat)
- Centrífuga (Heraeus, modelo Biofuge Primo R)
- Balança analítica (Acculab, modelo ALC 210.4)
- Vórtex (Reagente 5, modelo ZX3)
- Jarra de anaerobiose e catalisadores de microaerofilia (Biomerieux, Ref. 96125)
- Craveira

2. Métodos

2.1. Tipo de estudo

O estudo apresentado é de tipologia experimental, tendo sido realizado no Laboratório de Investigação de Microbiologia da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Fernando Pessoa. O estudo é constituído por três experiências realizadas em momentos temporais diferentes, sendo cada uma delas feita em triplicado.

2.2. População

O estudo teve como população alvo as pastas dentífricas comercializadas nos supermercados e/ou hipermercados nacionais.

2.3. Amostra

A amostra é constituída por seis pastas dentífricas: Sensodyne® Protecção Total (75ml) – GlaxoSmithKline; Colgate® Anti-cáries (75ml) – Colgate-Palmolive; Aquafresh® Limpeza Extrema (75ml) – GlaxoSmithKline; Polegar® com Flúor (75ml) – Auchan production; Dia® Bi-flúor Action (75ml) – Fabricante Grego desconhecido; Auchan® Anti-cáries (75ml) – BEM 1385-C.



Figura 11 - Pastas dentífricas em estudo. A – Sensodyne Protecção Total; B - Colgate Anti-cáries; C - Aquafresh Limpeza Extrema; D - Polegar com Flúor; E – Dia Bi-flúor Action; F - Auchan Anti-cáries

A composição química de cada um dos dentífricos em estudo encontra-se descrita na Tabela 1, sendo importante referir que esta informação encontra-se disponível nas respectivas embalagens.

Estudo *in vitro* da eficácia anti-bacteriana de seis dentífricos
em *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus*

COMPOSIÇÃO QUÍMICA	MARCA COMERCIAL					
	A	B	C	D	E	F
	Sensodyne Protecção Total	Colgate Anti-cáries	Aquafresh Limpeza Extrema	Polegar com Flúor	Dia Bi-Flúor Action	Auchan Creme Total Anti-cáries
Abrasivos	Sílica hidratada	Fosfato de cálcio di-hidratado Glicerofosfato de cálcio	Sílica hidratada	Sílica hidratada	Sílica hidratada Sílica Glicerofosfato de cálcio	Sílica hidratada Sílica Caulino (silicato)
Humectantes	Sorbitol Glicerina Polietilenoglicol 1 (PEG-6)	Glicerina Sorbitol Polietilenoglicol 1 (PEG-12)	Sorbitol Glicerina Polietilenoglicol 1 (PEG-6)	Sorbitol	Sorbitol Propilenoglicol Polietilenoglicol 1 (PEG-32)	Sorbitol
Aglutinantes	Goma xantana	Carboximetilcelulose	Goma xantana Goma carragena	Carboximetilcelulose	Goma xantana	Goma xantana
Detergentes	Lauril sulfato de sódio Cocamidopropil betaina	Lauril sulfato de sódio	Lauril sulfato de sódio	Lauril sulfato de sódio	Lauril sulfato de sódio	Lauril sulfato de sódio
Conservantes				Éster metílico do ácido parahidroxibenzoico Éster propílico do ácido parahidroxibenzoico	Éster metílico do ácido parahidroxibenzoico	Benzoato de sódio Éster propílico do ácido parahidroxibenzoico Éster metílico do ácido parahidroxibenzoico
Corantes	Dióxido de titânio		Dióxido de titânio Cl 73360 (azul); Cl 74260 (verde)	Dióxido de titânio	Dióxido de titânio (Cl 77891)	Dióxido de titânio
Aromatizantes	Aroma Sacarina de sódio Limoneno	Aroma Sacarina de sódio Limoneno	Aroma Sacarina de sódio	Aroma Sacarina de sódio	Aroma Sacarina de sódio Limoneno	Aroma Sacarina de sódio
Agentes Terapêuticos						
Anti-bacterianos	Fluoreto de sódio	Monofluoro fosfato de sódio Fluoreto de sódio Pirofosfato tetrassódico	Bicarbonato de sódio Fluoreto de sódio Cloreto de zinco Hidróxido de sódio	Fluoreto de sódio	Monofluoro fosfato de sódio Fluoreto de sódio	Monofluoro fosfato de sódio Fluoreto de sódio Triclosan
Dessensibilizantes	Nitrato de potássio		Citrato de sódio			
Branqueadores					Ureia	
Anti-inflamatórios			Alantoína			

Tabela 1 - Composição química dos seis dentífricos em estudo

2.3.1. Critérios de inclusão da amostra

As pastas dentífricas foram seleccionadas de acordo com o seu preço de mercado, no momento do estudo, tomando-se em consideração os preços mais altos *versus* os preços mais baixos. Por conseguinte, foram escolhidas três pastas dentífricas de marcas conhecidas e outras três de marcas brancas ou próprias. Para as pastas dentífricas das marcas próprias dos supermercados/hipermercados, tomou-se o valor de um só estabelecimento comercial, uma vez que o preço não varia significativamente conforme a localização do mesmo. Quanto às pastas dentífricas de marcas comercializadas em vários tipos de estabelecimentos comerciais, realizou-se a média dos preços consultados em seis supermercados/hipermercados diferentes (Tabela 2). Os supermercados/hipermercados escolhidos foram aqueles mais populares, de melhor acesso e, basicamente, quase todos aqueles existentes a nível nacional. Outro critério de inclusão foi optar pelas pastas dentífricas cuja composição é a mais simples possível, e em que o efeito publicitado é o mais próximo do efeito anti-cárie, que é aquele que se pretende estudar.

Tabela 2 - Média dos preços dos dentífricos em estudo (Preços consultados de 08/01/09 a 10/01/09)

Hipermercados/ Supermercados	Pastas dentífricas					
	Sensodyne Protecção Total	Colgate Anti- cáries	Aquafresh Limpeza Extrema	Polegar com Flúor	Dia Bi- Flúor Action	Auchan Creme Total Anti- cáries
Jumbo	3,48 €	1,75 €	2,36 €	0,82 €		0,99 €
Continente	3,47 €	1,91 €	2,35 €			
Pingo Doce	3,48 €	1,49 €	2,39 €			
Minipreço	3,39 €	1,48 €	2,99 €		0,89 €	
Feira Nova	3,48 €	1,79 €	2,64 €			
Intermarchê	3,59 €	1,98 €	2,49 €			
Média	3,48 €	1,73 €	2,54 €	0,82 €	0,89 €	0,99 €

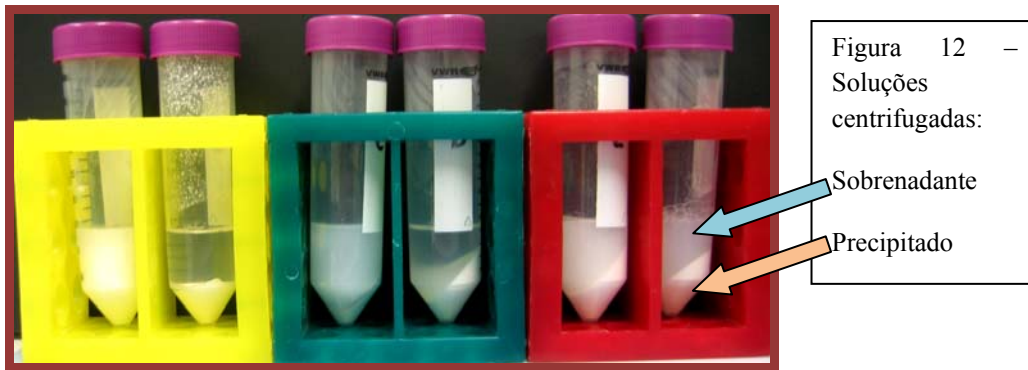
2.3.2. Critérios de exclusão da amostra

Não fizeram parte do estudo as pastas dentífricas comercializadas em farmácias, na Internet e em outro tipo de estabelecimentos comerciais, tais como as mercearias e

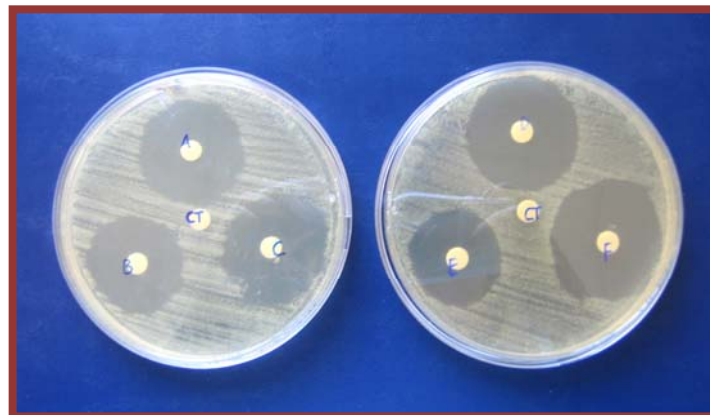
minimercados. Por outro lado, as pastas dentífricas cuja composição é mais complexa, resultado da combinação de diversos tipos de agentes terapêuticos (anti-bacterianos, fluoretos, branqueadores, dessensibilizantes), também foram excluídas deste estudo.

3. Protocolo experimental (adaptação do Método do disco de Kirby e Bauer)

1. Repicaram-se as culturas de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus* para caldos de BHI e MRS, respectivamente
2. Incubaram-se estes caldos na estufa a 37°C, durante 48 horas
3. Prepararam-se os inóculos bacterianos numa densidade de 0,5 da escala de Mc Farland
4. Identificaram-se as pastas dentífricas com letras de A a F
5. Colocaram-se 10ml de água estéril em cada um dos 6 tubos de Falcon, previamente identificados de A a F
6. Pesaram-se 5g de cada pasta dentífrica numa balança analítica, que foram introduzidas nos tubos correspondentes, de modo a obter uma diluição de 1:2
7. Agitou-se cada um dos tubos no vórtex, de modo a obter uma solução homogénea
8. Centrifugaram-se as soluções durante 20 minutos a 6000 rpm, com o objectivo de precipitar as partículas sólidas dos dentífricos
9. Colocaram-se 20µl de sobrenadante de cada solução nos discos de antibiograma estéreis



10. Procedeu-se à secagem dos discos numa estufa a 37°C durante 15 minutos
11. Inocularam-se as placas de MRS agar e BHI agar com culturas de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus*, respectivamente, utilizando-se uma zaragatoa estéril pela técnica de difusão em agar (Método do disco de Kirby e Bauer)
12. Colocaram-se os discos correspondentes a cada pasta dentífrica nas placas previamente inoculadas e identificadas. Os discos foram dispostos segundo uma orientação triangular, de modo a evitar a sobreposição dos halos de inibição.



13. Incubaram-se as placas em jarros de anaerobiose a 37°C durante 48 horas, em atmosfera de microaerofilia

14. Procedeu-se à medição do diâmetro dos halos de inibição à volta dos discos (em milímetros) utilizando uma craveira (Figura 14)



15. Considerou-se que existe actividade anti-bacteriana quando os halos de inibição são maiores ou iguais do que 10 mm de diâmetro

Figura 14 – Craveira
(www.marazulazul.blogspot.com)

É importante realçar que os sobrenadantes resultantes da centrifugação das soluções dos dentífricos foram utilizados para a impregnação dos discos estéreis de antibiograma, uma vez que são os componentes dos dentífricos solúveis em água os responsáveis pela acção anti-bacteriana dos mesmos (Barreto, 2005).

É também pertinente referir que no Método do Disco de Kirby e Bauer para os antibióticos existem valores standardizados para a determinação da sensibilidade das bactérias. Contudo, esta classificação é inexistente para os vários agentes anti-bacterianos incorporados nos dentífricos. No entanto, Barry (1991) afirma que o agente contido num disco deve ser suficientemente potente para produzir, no mínimo, halos de inibição de 10 mm de diâmetro, e não deve ser demasiado potente de modo a produzir halos de inibição maiores do que 40 mm de diâmetro. Com base nesta informação, neste estudo experimental considerou-se que as pastas dentífricas em estudo possuem actividade anti-bacteriana quando o halo de inibição resultante é maior ou igual a 10 mm de diâmetro, medida que também foi usada no estudo de Rosell *et al.* (2004).

4. Esquematização do estudo experimental

Este estudo foi constituído por três experiências realizadas em momentos temporais diferentes. Cada experiência foi feita nas duas bactérias, e em triplicado, o que resulta, no total, em dezoito experiências, nove para cada bactéria. Colocaram-se três discos, correspondentes a três dentífricos diferentes, em cada placa, de modo a evitar a sobreposição dos halos de inibição. Desta forma, e uma vez que o estudo foi feito em triplicado, em cada experiência obtivemos um total de doze placas, seis para o *Streptococcus mutans* e seis para o *Lactobacillus acidophilus*.

É importante salientar que todas as placas continham um disco “controle”, impregnado com água estéril, e nas três experiências, para cada bactéria, havia sempre uma “placa controle”, à qual não eram adicionados os discos.

Uma melhor visualização e compreensão do estudo realizado pode ser conseguida através da observação do esquema em baixo apresentado.

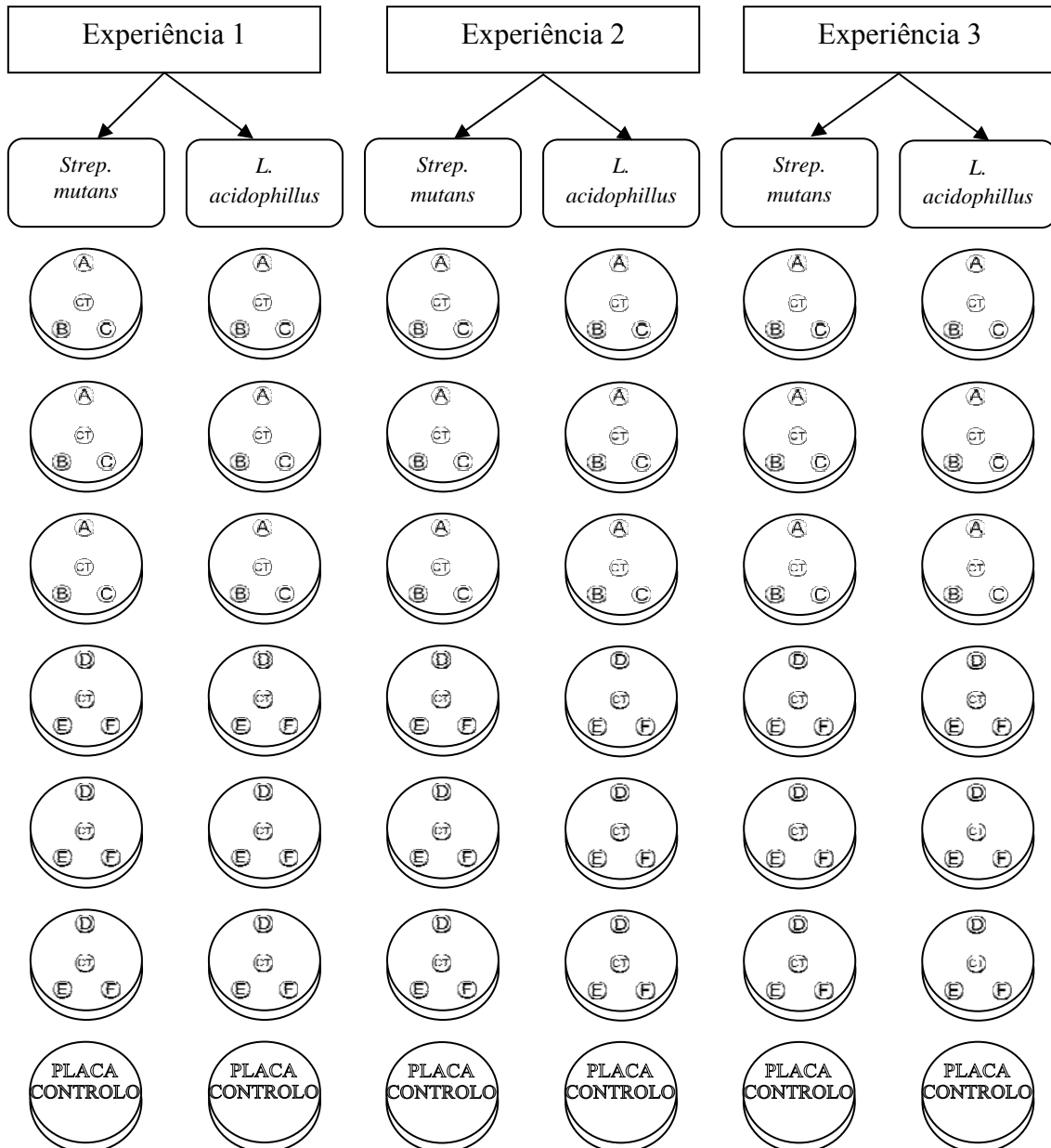


Figura 15 - Apresentação esquemática do estudo laboratorial realizado. A - Sensodyne Protecção Total; B - Colgate Anti-cáries; C - Aquafresh Limpeza Extrema; D - Polegar com Flúor; E - Dia Bi-Flúor Action; F - Auchan Creme Total Anti-cáries; CT - Controlo.

5. Análise estatística

Os dados recolhidos foram inseridos e analisados estatisticamente com recurso ao programa informático *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS®, versão 16.0). Para todos os testes estatísticos foi considerado um nível de significância de 0,05 ($\alpha=5\%$).

Para descrever os participantes do estudo foram aplicadas metodologias apropriadas de análise descritiva, nomeadamente, gráficos e medidas sumário. As variáveis categóricas foram descritas através de frequências absolutas (n) e relativas (%), e as variáveis contínuas foram descritas utilizando medianas, mínimos e máximos, uma vez que a distribuição destas é assimétrica.

Para testar a distribuição do diâmetro (em milímetros) dos halos de inibição das pastas dentífricas em estudo nas bactérias *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus* foi aplicado o teste Kruskal-Wallis, dado que a distribuição dos diâmetros é assimétrica. Seguidamente fizeram-se comparações múltiplas das médias das ordens com o teste post-hoc LSD, para verificar entre que pastas dentífricas existem diferenças estatisticamente significativas.

VII. RESULTADOS

Os diâmetros dos halos de inibição resultantes da actuação das seis pastas dentífricas na bactéria *Streptococcus mutans* encontram-se discriminados na Tabela 3.

Tabela 3 – Diâmetros dos halos de inibição, expressos em milímetros, das seis pastas dentífricas em estudo, em *Streptococcus mutans*. A - Sensodyne Protecção Total; B - Colgate Anti-cáries; C - Aquafresh Limpeza Extrema; D - Polegar com Flúor; E - Dia Bi-Flúor Action; F- Auchan Creme Total Anti-cáries; CT - Controlo.

<i>Streptococcus mutans</i>		Diâmetro dos halos de inibição (mm) das pastas dentífricas em estudo						
		A	B	C	D	E	F	CT
Experiência 1	Experiência 1.1	44	31	31	34	29	36	0
	Experiência 1.2	32	29	33	33	28	34	0
	Experiência 1.3	32	29	33	32	26	36	0
Experiência 2	Experiência 2.1	37	27	33	35	28	36	0
	Experiência 2.2	36	29	32	37	29	34	0
	Experiência 2.3	30	32	34	36	28	36	0
Experiência 3	Experiência 3.1	26	28	25	30	25	32	0
	Experiência 3.2	26	27	28	29	24	29	0
	Experiência 3.3	26	28	28	32	24	32	0

Os halos de inibição resultantes da actuação das seis pastas dentífricas em estudo na bactéria *Streptococcus mutans*, podem ser visualizados a partir da Figura 16, onde está representado um dos ensaios laboratoriais efectuados nesta bactéria.

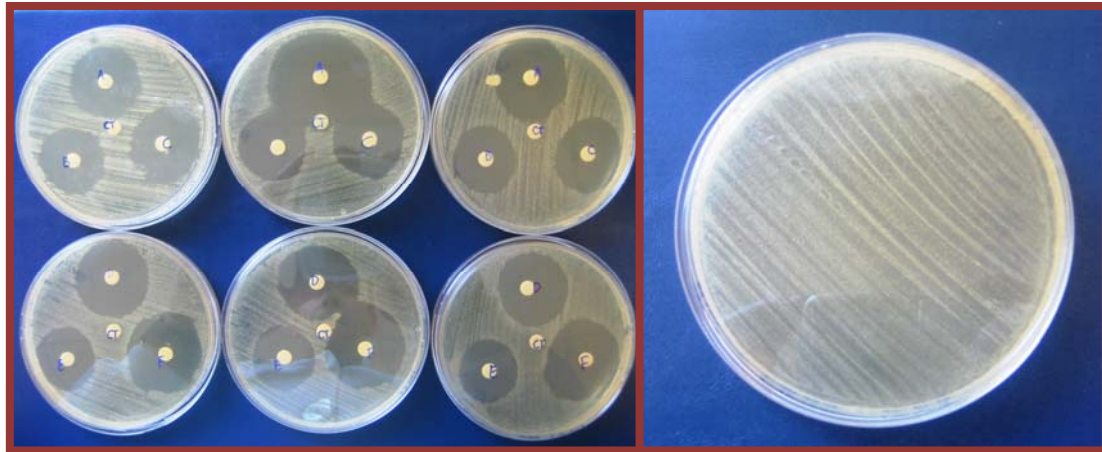


Figura 16 – Ensaio em *Streptococcus mutans*, onde é possível visualizar os halos de inibição resultantes da acção das seis pastas dentífricas. Ensaio em triplicado (figura à esquerda); Placa controlo (figura à direita)

Os diâmetros dos halos de inibição resultantes da actuação das seis pastas dentífricas na bactéria *Lactobacillus acidophilus* encontram-se discriminados na Tabela 4.

Tabela 4 – Diâmetros dos halos de inibição, expressos em milímetros, das seis pastas dentífricas em estudo, em *Lactobacillus acidophilus*. A - Sensodyne Protecção Total; B - Colgate Anti-cáries; C - Aquafresh Limpeza Extrema; D - Polegar com Flúor; E - Dia Bi-Flúor Action; F- Auchan Creme Total Anti-cáries; CT - Controlo

<i>Lactobacillus acidophilus</i>		Diâmetro dos halos de inibição (mm) das pastas dentífricas em estudo						
		A	B	C	D	E	F	CT
Experiência 1	Experiência 1.1	31	32	28	33	26	33	0
	Experiência 1.2	26	27	27	34	28	34	0
	Experiência 1.3	29	28	30	33	25	31	0
Experiência 2	Experiência 2.1	26	30	28	32	27	34	0
	Experiência 2.2	26	31	32	33	28	31	0
	Experiência 2.3	28	32	31	31	27	32	0
Experiência 3	Experiência 3.1	27	30	30	45	34	42	0
	Experiência 3.2	27	33	30	37	30	40	0
	Experiência 3.3	28	30	28	30	26	37	0

Contrariamente às experiências realizadas em *Streptococcus mutans*, os halos de inibição resultantes das experiências realizadas em *Lactobacillus acidophilus* são muito difíceis de visualizar, razão pela qual não são apresentadas figuras alusivas às mesmas.

A distribuição dos diâmetros dos halos de inibição das pastas dentífricas em estudo nas bactérias *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus*, pode ser visualizada a partir das tabelas seguidamente apresentadas.

Tabela 5 – Distribuição dos diâmetros (em mm) dos halos de inibição das pastas dentífricas (n=54) na bactéria *Streptococcus mutans*. N – nº de experiências realizadas para cada pasta dentífrica; Min - mínimo; Max - máximo; £ - Teste de Kruskal-Wallis

		n	mediana	(min-max)	p£	A	B	C	D	E	F
						p	p	p	p	p	p
Pastas Dentífricas											
Diâmetros dos halos de inibição na bactéria <i>Streptococcus mutans</i> (em mm)	A	9	32	(26-44)	<0,001£	-	0,076	0,768	0,167	0,002	0,062
	B	9	29	(27-32)		-	0,136	0,002	0,170	0,001	
	C	9	32	(25-34)		-	0,096	0,005	0,032		
	D	9	33	(29-37)		-	<0,001	0,615			
	E	9	28	(24-29)		-	<0,001				
	F	9	34	(29-36)		-					

Tabela 6 – Distribuição dos diâmetros (em mm) dos halos de inibição das pastas dentífricas (n=54) na bactéria *Lactobacillus acidophilus*. N – nº de experiências realizadas para cada pasta dentífrica; Min - mínimo; Max - máximo; £ - Teste de Kruskal-Wallis

		n	mediana	(min.max)	p£	A	B	C	D	E	F
						p	p	p	p	p	p
Pastas Dentífricas											
Diâmetros dos halos de inibição na bactéria <i>Lactobacillus acidophilus</i> (em mm)	A	9	27	(26-31)	<0,001£	-	0,003	0,049	<0,001	0,708	<0,001
	B	9	30	(27-33)		-	0,279	0,007	0,009	0,002	
	C	9	30	(27-32)		-	<0,001	0,107	<0,001		
	D	9	33	(30-45)		-	<0,001	0,659			
	E	9	27	(25-34)		-	<0,001				
	F	9	34	(31-42)		-					

Pela análise da Tabela 6 é possível verificar que existem diferenças estatisticamente significativas na distribuição dos diâmetros dos halos de inibição das pastas dentífricas em estudo ($n=54$; $p < 0,001$) na bactéria *Streptococcus mutans*. A comparação múltipla das médias das ordens revela que essas diferenças são estatisticamente significativas entre:

- As pastas dentífricas A e E ($p=0,002$);
- As pastas dentífricas B e D ($p=0,002$), B e F ($p=0,001$);
- As pastas dentífricas C e E ($p=0,005$), C e F ($p=0,032$);
- As pastas dentífricas D e B ($p=0,002$), D e E ($p < 0,001$);
- As pastas dentífricas E e A ($p=0,002$), E e C ($p=0,005$), E e D ($p < 0,001$), E e F ($p < 0,001$);
- As pastas dentífricas F e B ($p=0,001$), F e C ($p=0,032$), F e E ($p < 0,001$).

Pela análise da Tabela 7 é possível constatar que na bactéria *Lactobacillus acidophilus* existem diferenças estatisticamente significativas, na distribuição dos diâmetros dos halos de inibição das pastas dentífricas em estudo ($n=54$; $p < 0,001$). A comparação múltipla das médias das ordens revela que essas diferenças são estatisticamente significativas entre:

- As pastas dentífricas A e B ($p=0,003$), A e C ($p=0,049$), A e D ($p < 0,001$), A e F ($p < 0,001$);
- As pastas dentífricas B e A ($p=0,003$), B e D ($p=0,007$), B e E ($p=0,009$), B e F ($p=0,002$);

- As pastas dentífricas C e A ($p=0,049$), C e D ($p <0,001$), C e F ($p <0,001$);
- As pastas dentífricas D e A ($p <0,001$), D e B ($p=0,007$), D e C ($p <0,001$), D e E ($p <0,001$);
- As pastas dentífricas E e B ($p=0,009$), E e D ($p <0,001$), E e F ($p <0,001$);
- As pastas dentífricas F e A ($p <0,001$), F e B ($p=0,002$), F e C ($p <0,001$), F e E ($p <0,001$).

Os gráficos apresentados em seguida permitem visualizar a distribuição dos diâmetros dos halos de inibição das pastas dentífricas em estudo nas bactérias *Streptococcus mutans* (Gráfico 1) e *Lactobacillus acidophilus* (Gráfico 2). É de notar que todas as pastas dentífricas em estudo possuem actividade anti-bacteriana nas duas bactérias, dado que os halos de inibição resultantes são maiores do que 10mm de diâmetro.

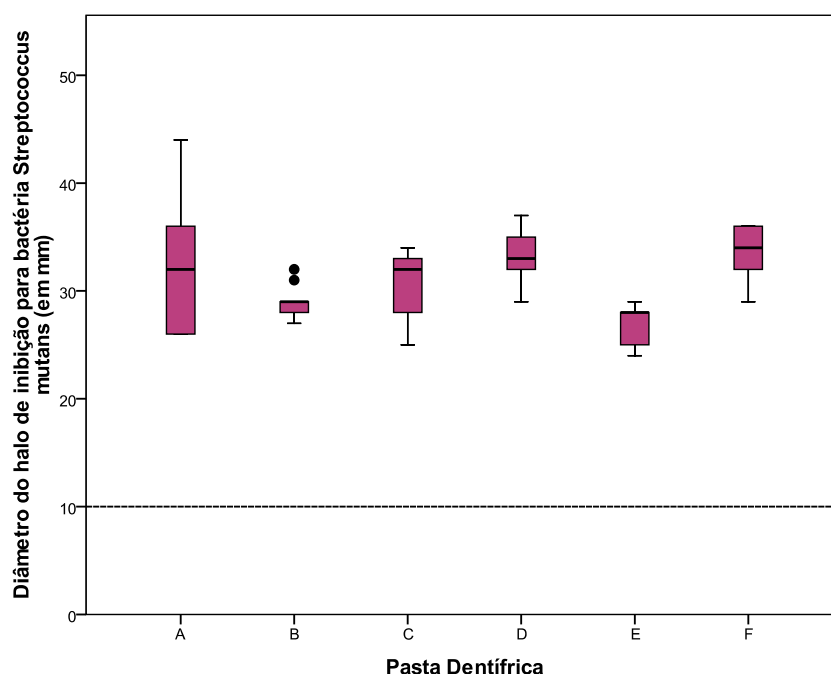


Gráfico 1 – Distribuição dos diâmetros (em mm) dos halos de inibição das pastas dentífricas (n=54) na bactéria *Streptococcus mutans* (£ - Teste de Kruskal-Wallis)

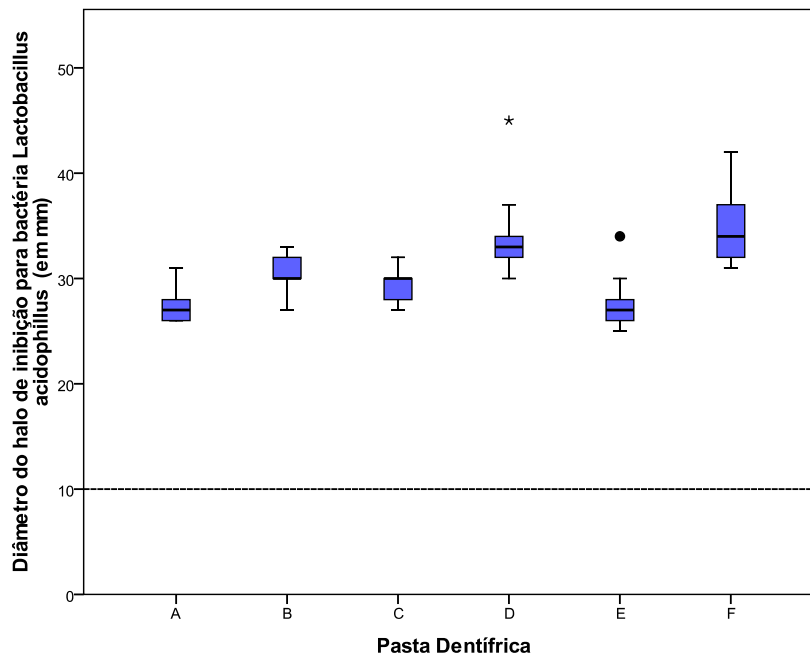


Gráfico 2 – Distribuição dos diâmetros (em mm) dos halos de inibição das pastas dentífricas (n=54) na bactéria *Lactobacillus acidophilus* (£ - Teste de Kruskal-Wallis)

VIII. DISCUSSÃO

Antes de mais, torna-se pertinente salientar a carência de estudos feitos em Portugal que comparem diferentes dentífricos em relação à sua eficácia anti-bacteriana. Consequentemente, a maioria dos estudos que abordam este tema e que serviram de base para a elaboração deste trabalho, são realizados noutros países, em que as pastas dentífricas são diferentes daquelas disponíveis no mercado nacional. Além disso, a enorme variabilidade em relação aos seus objectivos específicos, bem como as bactérias utilizadas e o tipo de dentífricos investigados (na sua maioria dentífricos com extractos de plantas), faz com que grande parte dos dados obtidos na presente monografia não possa ser confrontada com esses estudos.

De acordo com a análise estatística dos dados obtidos no estudo experimental, é possível verificar que todos os dentífricos estudados apresentaram eficácia anti-bacteriana em *Streptococcus mutans* e em *Lactobacillus acidophilus*, dado que os

diâmetros dos halos de inibição resultantes da sua acção nestas duas bactérias, são sempre maiores do que 10mm de diâmetro.

É importante referir que os diâmetros dos halos de inibição resultantes da acção das seis pastas dentífricas em estudo foram comparados entre si, em cada bactéria. No entanto, esta comparação não foi realizada entre as duas bactérias, dado que os meios de cultura bacterianos são diferentes, o que condiciona a existência de possíveis diferenças nos diâmetros dos halos de inibição, tornando assim pouco fidedigna a sua comparação.

1. Resultados do estudo em *Streptococcus mutans*

Contrariamente a Moran (*cit. in* Addy, 1992), que refere que a maioria dos dentífricos apresenta semelhante actividade anti-bacteriana *in vitro*, os diâmetros dos halos de inibição resultantes da acção dos seis dentífricos estudados apresentaram diferenças estatisticamente significativas, o que ilustra a variabilidade da eficácia anti-bacteriana dos mesmos:

- A pasta dentífrica A (Sensodyne® Protecção Total) possuiu maior eficácia do que a pasta dentífrica E (Dia® Bi-flúor Action);
- A pasta dentífrica B (Colgate® Anti-cáries) possuiu menor eficácia do que as pastas dentífricas D (Polegar® com Flúor) e F (Auchan® Anti-cáries);
- A pasta dentífrica C (Aquafresh® Limpeza Extrema) possuiu maior eficácia do que a pasta dentífrica E (Dia® Bi-flúor Action), e menor eficácia do que a F (Auchan® Anti-cáries);
- A pasta dentífrica D (Polegar® com Flúor) possuiu maior eficácia do que as pastas dentífricas B (Colgate® Anti-cáries) e E (Dia® Bi-flúor Action);

- A pasta dentífrica E (Dia® Bi-flúor Action) possuiu menor eficácia do que as pastas dentífricas A (Sensodyne® Protecção Total), C (Aquafresh® Limpeza Extrema), D (Polegar® com Flúor) e F (Auchan® Anti-cáries);
- A pasta dentífrica F (Auchan® Anti-cáries) possuiu maior eficácia do que as pastas dentífricas B (Colgate® Anti-cáries), C (Aquafresh® Limpeza Extrema) e E (Dia® Bi-flúor Action).

1.1. Pastas dentífricas de marcas conhecidas

Entre as pastas dentífricas de marcas conhecidas, nomeadamente a Sensodyne® Protecção Total, a Colgate® Anti-cáries e a Aquafresh® Limpeza Extrema, não existiram diferenças estatisticamente significativas em relação à sua eficácia anti-bacteriana em *Streptococcus mutans*.

1.2. Pastas dentífricas de marcas brancas

Entre as pastas dentífricas de marcas brancas existiram diferenças estatisticamente significativas em relação à sua eficácia anti-bacteriana em *Streptococcus mutans*, constatando-se que a Polegar® com Flúor e a Auchan® Anti-cáries foram igualmente eficazes, e que ambas possuíram maior eficácia do que Dia® Bi-flúor Action.

1.3. Pastas dentífricas de marcas conhecidas versus Pastas dentífricas de marcas brancas

Entre as pastas dentífricas de marcas conhecidas e as pastas dentífricas de marcas brancas existiram diferenças estatisticamente significativas em relação à sua eficácia anti-bacteriana em *Streptococcus mutans*.

As marcas conhecidas foram mais eficazes do que as marcas brancas em duas situações:

- em que a Sensodyne® Protecção Total foi mais eficaz do que a Dia® Bi-flúor Action;
- em que a Aquafresh® Limpeza Extrema foi mais eficaz do que a Dia® Bi-flúor Action.

As marcas brancas possuíram maior eficácia do que as marcas conhecidas em três situações:

- em que a Polegar® com Flúor foi mais eficaz do que a Colgate® Anti-cáries;
- em que a Auchan® Anti-cáries foi mais eficaz do que a Colgate® Anti-cáries;
- em que a Auchan® Anti-cáries foi mais eficaz do que a Aquafresh® Limpeza Extrema.

De todas as pastas dentífricas estudadas em *Streptococcus mutans*, e de acordo com as medianas dos diâmetros dos halos de inibição, aquela que apresentou maior eficácia anti-bacteriana foi a pasta dentífrica F (Auchan® Anti-cáries), cuja mediana foi igual a 34mm. A que apresentou menor eficácia anti-bacteriana foi a pasta dentífrica E (Dia® Bi-flúor Action), cuja mediana foi igual a 28mm, seguindo-se a B (Colgate® Anti-cáries), cuja mediana foi igual a 29mm. Este resultado encontra-se de acordo com o estudo de Leyster (2006), em que a Colgate® também foi um dos dentífricos com menor eficácia anti-bacteriana em *Streptococcus mutans*.

2. Resultados do estudo em *Lactobacillus acidophilus*

Em *Lactobacillus acidophilus* também foi possível verificar a variabilidade da eficácia anti-bacteriana dos seis dentífricos estudados, dado que os diâmetros dos halos de inibição resultantes da sua acção apresentaram diferenças estatisticamente significativas:

- A pasta dentífrica A (Sensodyne® Protecção Total) possuiu menor eficácia do que as pastas dentífricas B (Colgate® Anti-cáries), C (Aquafresh® Limpeza Extrema), D (Polegar® com Flúor) e F (Auchan® Anti-cáries);
- A pasta dentífrica B (Colgate® Anti-cáries) possuiu maior eficácia do que as pastas dentífricas A (Sensodyne® Protecção Total), E (Dia® Bi-flúor Action) e F (Auchan® Anti-cáries), e menor eficácia do que a pasta dentífrica D (Polegar® com Flúor);
- A pasta dentífrica C (Aquafresh® Limpeza Extrema) possuiu maior eficácia do que as pastas dentífricas A (Sensodyne® Protecção Total) e F (Auchan® Anti-cáries), e menor eficácia do que a pasta dentífrica D (Polegar® com Flúor);
- A pasta dentífrica D (Polegar® com Flúor) possuiu maior eficácia do que as pastas dentífricas A (Sensodyne® Protecção Total), B (Colgate® Anti-cáries), C (Aquafresh® Limpeza Extrema) e E (Dia® Bi-flúor Action);
- A pasta dentífrica E (Dia® Bi-flúor Action) possuiu menor eficácia do que as pastas dentífricas B (Colgate® Anti-cáries), D (Polegar® com Flúor) e F (Auchan® Anti-cáries);
- A pasta dentífrica F (Auchan® Anti-cáries) possuiu maior eficácia do que as pastas dentífricas A (Sensodyne® Protecção Total), B (Colgate® Anti-cáries), C (Aquafresh® Limpeza Extrema) e E (Dia® Bi-flúor Action).

2.1. Pastas dentífricas de marcas conhecidas

Entre as pastas dentífricas de marcas conhecidas existiram diferenças estatisticamente significativas em relação à sua eficácia anti-bacteriana em *Lactobacillus acidophilus*, verificando-se que a Colgate® Anti-cáries e a Aquafresh® Limpeza Extrema foram igualmente eficazes, resultado igual ao reportado pelo estudo de Leyster (2006) em *Lactobacillus acidophilus*, e que ambas possuíram maior eficácia do que a Sensodyne® Protecção Total.

2.2. Pastas dentífricas de marcas brancas

Entre as pastas dentífricas de marcas brancas existiram diferenças estatisticamente significativas em relação à sua eficácia anti-bacteriana em *Lactobacillus acidophilus*, constatando-se que a Polegar® com Flúor e a Auchan® Anti-cáries foram igualmente eficazes, e que ambas possuíram maior eficácia do que Dia® Bi-flúor Action. Este resultado foi semelhante ao anteriormente descrito em *Streptococcus mutans*.

2.3. Pastas dentífricas de marcas conhecidas versus Pastas dentífricas de marcas brancas

Entre as pastas dentífricas de marcas conhecidas e as pastas dentífricas de marcas brancas existiram diferenças estatisticamente significativas em relação à sua eficácia anti-bacteriana em *Lactobacillus acidophilus*.

As marcas conhecidas foram mais eficazes do que as marcas brancas em três situações:

- em que a Colgate® Anti-cáries foi mais eficaz do que a Dia® Bi-flúor Action;
- em que a Colgate® Anti-cáries foi mais eficaz do que a Auchan® Anti-cáries;
- em que a Aquafresh® Limpeza Extrema foi mais eficaz do que a Auchan® Anti-cáries.

As marcas brancas possuíram maior eficácia do que as marcas conhecidas em seis situações:

- em que a Polegar® com Flúor foi mais eficaz do que a Sensodyne® Protecção Total;
- em que a Polegar® com Flúor foi mais eficaz do que a Colgate® Anti-cáries;

- em que a Polegar® com Flúor foi mais eficaz do que a Aquafresh® Limpeza Extrema;
- em que a Auchan® Anti-cáries foi mais eficaz do que a Sensodyne® Protecção Total;
- em que a Auchan® Anti-cáries foi mais eficaz do que a Colgate® Anti-cáries;
- em que a Auchan® Anti-cáries foi mais eficaz do que a Aquafresh® Limpeza Extrema.

De todas as pastas dentífricas estudadas em *Lactobacillus acidophilus*, e de acordo com as medianas dos diâmetros dos halos de inibição, aquela que apresentou maior eficácia anti-bacteriana foi a pasta dentífrica F (Auchan® Anti-cáries), cuja mediana foi igual a 34mm, e as que apresentaram menor eficácia anti-bacteriana foram as pastas dentífricas E (Dia® Bi-flúor Action) e A (Sensodyne® Protecção Total), cujas medianas foram iguais a 27mm.

3. Considerações gerais

Apesar de todos os dentífricos em estudo conterem flúor na sua composição, apenas as pastas dentífricas Colgate® Anti-cáries, Aquafresh® Limpeza Extrema e Auchan® Anti-cáries incorporam outro tipo de agentes anti-bacterianos (Tabela 1). Desta forma, seria de esperar que estes dentífricos tivessem maior eficácia anti-bacteriana em relação a todos os outros estudados. Contudo, este facto só se verificou na pasta dentífrica Auchan® Anti-cáries, que além de ter sido aquela com maior eficácia anti-bacteriana tanto em *Streptococcus mutans* como em *Lactobacillus acidophilus*, foi também a única que continha triclosan. A incorporação deste agente anti-bacteriano, outrora descrito no capítulo IV desta monografia, pode estar relacionada com este resultado, que vem contrariar Moran (*cit. in* Addy, 1992), que afirma que a incorporação de agentes anti-bacterianos nos dentífricos não aumenta significativamente a eficácia anti-bacteriana *in vitro* dos mesmos. Paradoxalmente, os estudos de Rosell *et al.* (2004), de Barreto *et al.* (2005) e de Souza (2005) corroboram este resultado, pois verificam que os

dentífricos que contêm triclosan são aqueles que apresentam maior eficácia anti-bacteriana *in vitro*.

Pela análise dos resultados também foi possível verificar que as pastas dentífricas de marcas brancas possuíram maior eficácia do que as pastas dentífricas de marcas conhecidas num maior número de situações, tanto em *Streptococcus mutans* como em *Lactobacillus acidophilus*. Consequentemente, a maior eficácia foi constatada nos dentífricos de marcas brancas, cujo preço de mercado é comparativamente mais baixo em relação aos dentífricos de marcas conhecidas.

Conclusão

Após a recolha e a devida análise estatística dos dados obtidos neste estudo, foi possível concluir que:

- Todas as pastas dentífricas estudadas apresentaram eficácia anti-bacteriana em *Streptococcus mutans* e em *Lactobacillus acidophilus*;
- A maior parte das pastas dentífricas estudadas apresentou variabilidade na sua eficácia anti-bacteriana, tanto em *Streptococcus mutans* como em *Lactobacillus acidophilus*, pois os diâmetros dos halos de inibição resultantes da sua acção nestas duas bactérias apresentaram diferenças estatisticamente significativas;
- As pastas dentífricas de marcas conhecidas não apresentaram diferenças estatisticamente significativas na sua eficácia anti-bacteriana em *Streptococcus mutans*, contrariamente ao ocorrido em *Lactobacillus acidophilus*, em que a Colgate® Anti-cáries e a Aquafresh® Limpeza Extrema se mostraram mais eficazes do que a Sensodyne® Protecção Total;
- As pastas dentífricas de marcas brancas apresentaram diferenças estatisticamente significativas na sua eficácia anti-bacteriana tanto em *Streptococcus mutans* como em *Lactobacillus acidophilus*, constatando-se que a Polegar® com Flúor e a Auchan® Anti-cáries, foram igualmente eficazes entre si, e que cada uma delas possuiu maior eficácia do que a Dia® Bi-flúor Action;
- As pastas dentífricas de marcas brancas foram mais eficazes, num maior número de vezes, do que as pastas dentífricas de marcas conhecidas, tanto em *Streptococcus mutans* como em *Lactobacillus acidophilus*;
- As pastas dentífricas Auchan® Anti-cáries e Dia® Bi-flúor Action foram, respectivamente, aquelas com maior e menor eficácia anti-bacteriana, tanto em *Streptococcus mutans* como em *Lactobacillus acidophilus*, constatando-se que

os dentífricos de marcas brancas estudados foram aqueles que apresentaram maior variabilidade entre si.

Os dados obtidos neste estudo permitem orientar em relação ao dentífrico que se pode recomendar, pois embora todos os dentífricos estudados possuam uma óptima acção anti-bacteriana, uma vez que os diâmetros dos seus halos de inibição são muito superiores a 10mm, foi constatado que nas duas bactérias utilizadas neste estudo as pastas dentífricas Auchan® Anti-cáries e Polegar® com Flúor demonstraram ser as mais eficazes.

Consequentemente, torna-se seguro aconselhar a todos os pacientes, independentemente da sua situação socioeconómica, duas das pastas dentífricas estudadas de preço mais baixo, nomeadamente a Auchan® Anti-cáries e a Polegar® com Flúor. Estes dentífricos não só custam, em média, 0,99€ e 0,82€, respectivamente, como também revelaram ser mais eficazes em duas bactérias cariogénicas do que os dentífricos de marcas conhecidas, cujos preços de mercado são comparativamente mais elevados (Tabela 2).

No entanto, e uma vez que os presentes resultados são obtidos através de um estudo *in vitro*, as pastas dentífricas investigadas necessitam de algumas propriedades, tais como substantividade, amplo espectro de acção, biocompatibilidade e baixa permeabilidade, para se tornarem realmente efectivas no meio oral. Desta forma, é imperativo uma maior investigação nesta área, baseada em estudos laboratoriais que recriem o meio ambiente da cavidade oral, de modo a validar a eficácia dos dentífricos presentemente estudados.

Bibliografia

- Addy, M. *et al.* (1992). The evaluation of toothpaste products in promoting gingival health. *In: Embery, G. e Rolla, G. (Ed.). Clinical and Biological Aspects of Dentifrices.* New York, Oxford Medical Publications, pp. 249-259.
- Al-Sharbati, M.M., Meidan, T.M. e Sudani, O. (2000). Oral health practices and dental caries among Libyan pupils, Benghazi (1993-94). *Eastern Mediterranean Health Journal*, 6 (5/6), pp. 997-1004.
- American Dental Association. [Em linha]. Disponível em <<http://www.ada.org/>>. [Consultado em 19/06/09].
- Bagramian, R., Garcia-Godoy, F. e Volpe, A. (2009). The global increase in dental caries. A pending public health crisis. *American Journal of Dentistry*, 22 (1), pp. 3-8.
- Barkvoll, P. (1992). Considerations concerning the sodium lauryl sulphate content of dentifrices. *In: Embery, G. e Rolla, G. (Ed.). Clinical and Biological Aspects of Dentifrices.* New York, Oxford Medical Publications, pp. 173-179.
- Barreto, L.V. *et al.* (2005). Acción antimicrobiana *in vitro* de dentífricos conteniendo fitoterápicos, *Avances en Odontoestomatología*, 21 (4), pp. 195-201.
- Barry, A.L. e Thornsberry C. (1991). Susceptibility Tests: Diffusion Test Procedures. *In: Balows, A. et al. (Ed.). Manual of Clinical Microbiology.* 5ª edição. Washington DC, ASM Press, pp. 1117-1125.
- Boléo, P. (1964). A higiene da boca através dos tempos até à época presente. *In: II Congresso Nacional de Estomatologia – Actas.* Porto, Edições Maranus, pp. 319-348.

- Bowen, W.H. e Tabak, L.A. (1995). *Cariologia para a década de 90*. 1ª edição. São Paulo, Livraria Santos Editora.
- Brooks, G.F. *et al.* (2007). *Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology*. 24ª edição. USA, McGraw-Hill.
- Busscher, H.J. *et al.* (2007). Efficacy and mechanisms of non-antibacterial, chemical plaque control by dentifrices – An in vitro study, *Journal of Dentistry*, 35, pp. 294-301.
- Cummins, D. (1992). Mechanisms of action of clinically proven anti-plaque agents. *In: Embery, G. e Rolla, G. (Ed.). Clinical and Biological Aspects of Dentifrices*. New York, Oxford Medical Publications, pp. 205-223.
- Cummins, D. e Creeth, J.E. (1992). Delivery of antiplaque agents from dentifrices, gels, and mouthwashes, *Journal of Dental Research*, 71 (7), pp. 1439-1449.
- Danielsen, M. e Wind, A. (2003). Susceptibility of *Lactobacillus* spp. to antimicrobial agents, *International Journal of Food Microbiology*, 82 (1), pp. 1-11.
- Davey, H. e Embery, G. (1992). Metal ions in oral hygiene products. *In: Embery, G. e Rolla, G. (Ed.). Clinical and Biological Aspects of Dentifrices*. New York, Oxford Medical Publications, pp. 165-171.
- Dechaume, M. e Huard, P. (1977). L'Odontologie de la Renaissance à nos jours. *In: Dechaume, M. e Huard, P. (Ed.). Histoire Illustrée de L'art Dentaire*. Paris, Les Éditions Roger DaCosta, pp. 46-55.
- Ditterich, R.G. *et al.* (2007). Atividade antimicrobiana *in vitro* de substâncias naturais presentes nos dentifrícios, *Revista Odontologia Clínico-Científica*, 6 (4), pp. 303-307.

- Duncan, L. *et al.* (2004). *Mosby's Dental Dictionary*. St. Louis, Missouri, Mosby.

- Fischman, S.L. (1992). Hare's teeth to fluorides, historical aspects of dentifrice use. *In: Embery, G. e Rolla, G. (Ed.). Clinical and Biological Aspects of Dentifrices*. New York, Oxford Medical Publications, pp. 1-7.

- Holt, J.G *et al.* (1994). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. 9ª edição. Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins.

- Krasse, B. (1988). *Risco de Cáries – Um Guia Prático para Avaliação e Controle*. 2ª edição. São Paulo, Quintessence Editora.

- Lee, S.S., Zhang, W. e Li, Y. (2004). The antimicrobial potential of 14 natural herbal dentifrices: results of an in vitro diffusion method study, *Journal of the American Dental Association*, 135 (8), pp. 1133-1141.

- Lefébure, C. (2001). *Une Histoire de L'art dentaire*. Toulouse, Éditions Privat.

- Leyster, C.W. (2006). An investigation of the levels of antimicrobial efficacy in commercial dentifrices on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus*, *Saint Martin's University Biology Journal*, 1 (1), pp. 155-166.

- Lyons, A.S. e Petrucelli, J.R. [198-]. *História da Medicina*. Lisboa, Farmapress Edições.

- Madhu P.S., Setty S. e Ravindra, S. (2006). Dentinal hypersensitivity? Can this agent be the solution? , *Indian Journal of Dental Research*, 17 (4), pp. 178-184.

- Mandel, I.D. (1998). The New Toothpastes, *Journal of the California Dental Association*, 26 (3), pp. 186-190.

- Marder, M.Z. (1966). Therapeutic Aids for the Dental Hygienist. *In: Kutscher, A.H. et al. (Ed.). Pharmacology for the Dental Hygienist.* Philadelphia, Lea & Febiger, pp. 233-241.
- Marsh, P.D. (1992). Microbiological aspects of dentifrices: *in vitro* studies. *In: Embery, G. e Rolla, G. (Ed.). Clinical and Biological Aspects of Dentifrices.* New York, Oxford Medical Publications, pp. 325-335.
- Melo, P. (2001). Influência de diferentes métodos de administração de fluoretos nas variações de incidência de cárie [Dissertação de Doutoramento em Medicina Dentária Conservadora]. Porto: Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto. [Em linha]. Disponível em <<http://repositorio.up.pt/>>. [Consultado em 15/06/09].
- Murray, R. et al. (2007). *Manual of Clinical Microbiology.* 9ª edição. Washington DC, ASM Press.
- Nisengard, R.J. e Newman, M.G. (1997). *Microbiologia oral e imunologia.* 2ª edição. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan.
- Odontocat: El Portal de Odontología. [Em linha]. Disponível em <<http://www.odontocat.com/dentcolca.htm>>. [Consultado em 22/06/09].
- Orchardson, R. e Gillam D.G. (2006). Managing dentin hypersensitivity, *Journal of the American Dental Association*, 137 (7), pp. 990-998.
- Pereira, A. (1996). Cáries Dentárias: Etiologia e Prevenção. [Em linha]. Disponível em <<http://www.medisa.pt/>>. [Consultado em 05/06/09].
- Petersen, P.E. (2003). The World Oral Health Report 2003: continuous improvement of oral health in the 21st century – the approach of the WHO Global

Oral Health Programme. [Em linha]. Disponível em <<http://www.who.int/whr/2003/en/index.html>>. [Consultado em 05/06/09].

- Petersen, P.E. (2005). The burden of oral disease: challenges to improving oral health in the 21st century. *Bulletin of the World Health Organization*, 83 (1), pp. 3.
- Petersen, P.E. *et al.* (2005). The global burden of oral diseases and risks to oral health. *Bulletin of the World Health Organization*, 83 (9), pp. 661-669.
- Reynolds, E.C. (1994). Contents of toothpaste - safety implications. *Australian Prescriber*, 17 (2), pp. 49-51.
- Richards, A., Fejerskov, O. e Larsen, M.J. (1992). Fluoride concentrations in dentifrices in relation to efficacy, side-effects, and salivary clearance. *In*: Embery, G. e Rolla, G. (Ed.). *Clinical and Biological Aspects of Dentifrices*. New York, Oxford Medical Publications, pp. 73-85.
- Rosell, F.L. *et al.* (2004). Atividade antimicrobiana de substâncias naturais em dentifrícios, *Saúde em Revista*, 6 (14), pp. 39-44.
- Samaranayake, L.P. (1998). *Essential Microbiology for Dentistry*. London, Churchill Livingstone.
- Scheie, A.A. (1992). Dentifrices in the control of dental caries. *In*: Embery, G. e Rolla, G. (Ed.). *Clinical and Biological Aspects of Dentifrices*. New York, Oxford Medical Publications, pp. 29-37.
- Souza, J.G. (2005). Avaliação da ação antimicrobiana de dentifrícios fluoretados comparado com hidróxido de cálcio através da cultura de microrganismos presentes na lesão de cárie dentária [Dissertação de Mestrado em Clínica Odontológica]. Marília: Faculdade de Ciências Odontológicas da Universidade de Marília. [Em linha]. Disponível em <<http://www.uimar.br/>>. [Consultado em 04/06/09].

- Souza-Gugelmin, M.C. *et al.* (2006). Avaliação da atividade antimicrobiana de dentifrícios infantis: Estudo *in vitro*, *Revista da Faculdade de Odontologia de Porto Alegre*, 47(3), pp. 10-13.
- Stephen, K.W. e Purdell-Lewis, D.J. (1992). Behavioural aspects of oral hygiene. *In: Embery, G. e Rolla, G. (Ed.). Clinical and Biological Aspects of Dentifrices.* New York, Oxford Medical Publications, pp. 13-19.
- Thornsberry, C. (1991). Antimicrobial Susceptibility Testing: General Considerations. *In: Balows, A. et al. (Ed.). Manual of Clinical Microbiology.* 5ª edição. Washington DC, ASM Press, pp. 1059-1064.
- Thylstrup, A. e Bruun, C. (1992). The use of dentifrices in the treatment of dental caries. *In: Embery, G. e Rolla, G. (Ed.). Clinical and Biological Aspects of Dentifrices.* New York, Oxford Medical Publications, pp. 131-141.
- Thylstrup, A. e Fejerskov, O. (1995). *Cariologia Clínica.* 2ª edição. São Paulo, Livraria Santos Editora.
- Torres, C.R.G. *et al.* (2000). Agentes antimicrobianos e seu potencial de uso na odontologia, *Revista da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos*, 3 (2), pp. 43-52.
- Ureña, J.L. (1997). *Microbiologia Oral.* México, McGraw-Hill Interamericana.
- Vyas, Y.K., Bhatnagar, M. e Sharma, K. (2008). *In vitro* evaluation of antibacterial activity of an herbal dentifrice against *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus*. *Indian Journal of Dental Research*, 19 (1), pp. 26-28.
- Wiley, J.M., Sherwood, L.M. e Woolverton, C.J. (2008). *Prescott, Harley, and Klein's Microbiology.* New York, McGraw-Hill International Edition.

- Wilkins, E.M. (1989). Auxiliary Plaque Control Measures. *In: Wilkins, E.M. (Ed.). Clinical Practice of the Dental Hygienist*. 6ª edição. Philadelphia, Lea & Febiger, pp. 317-336.

- Wohleber, C. (2002). Toothpaste: only recently has it started doing more good than harm. *American heritage of invention & technology*, 18 (2), pp. 8-9.

- Yamashita, J.C. *et al.* (2006). Avaliação da superfície de esmalte bovino após tratamento clareador e diferentes formas de polimento. Estudo em MEV, *Revista Salusvita*, 25 (1), pp. 43-56.