

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**  
**ÁREA DE CONCENTRAÇÃO ODONTOPEDIATRIA**

**Dissertação de Mestrado**

**"DETERMINAÇÃO DA QUANTIDADE DE FLUORETO  
ABSORVIDO PELO ESMALTE DECÍDUO APÓS INCUBAÇÃO  
EM LEITE BOVINO FLUORETADO *IN VITRO*"**

**KARIME TAVARES LIMA**

**Orientador: Prof. Dr. Izo Milton Zani**

**Trabalho de Dissertação apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Área de Concentração Odontopediatria, da Universidade Federal de Santa Catarina, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia.**

**Florianópolis - SC**

**2000**

**"DETERMINAÇÃO DA QUANTIDADE DE FLUORETO ABSORVIDO  
PELO ESMALTE DECÍDUO APÓS INCUBAÇÃO EM LEITE BOVINO  
FLUORETADO *IN VITRO* "**

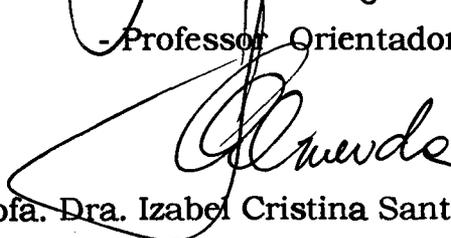
**Karime Tavares Lima**

Esta Dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de "Mestre em Odontologia", Área de Concentração Odontopediatria e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina.



Prof. Dr. Izo Milton Zani

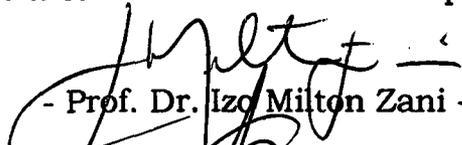
- Professor Orientador -



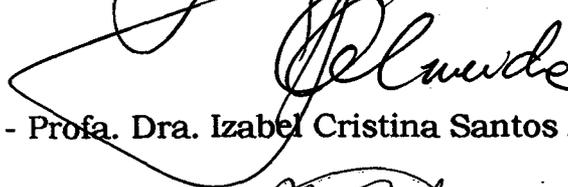
Profa. Dra. Izabel Cristina Santos Almeida

- Coordenadora do Programa -

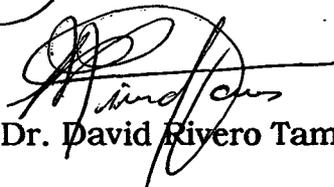
Apresentada perante a banca examinadora composta pelos Professores:



- Prof. Dr. Izo Milton Zani -



- Profa. Dra. Izabel Cristina Santos Almeida -



- Prof. Dr. David Rivero Tames -

Florianópolis, 26 de julho de 2000

" Ao invés de VER para CRER, prefira CRER para VER."

(Albert Einstein)

" Nenhum proveito se tira da ignorância, porque até para perguntar é preciso saber. "

(Décio Valente)

" Na dúvida, faça. Nenhuma ousadia é fatal. "

(Anônimo)

Aos meus pais, Raimundo e Sonia Lima...

"que me incentivaram quando decidi partir para tão longe, transmitindo-me força e coragem para perseguir e concretizar este antigo objetivo e mostrando-me, a todo momento, que o verdadeiro amor é, acima de tudo, imune ao tempo e à distância!"...

Às minhas tias Dora e Chica...

"por todo o apoio e carinho enquanto estive entregue a esta jornada, partilhando de todos os meus momentos, quer fossem agradáveis ou não"...

Aos meus manos queridos Karen e Fábio...

"sempre do meu lado, porta-vozes dos recados de amigos e familiares e das mudanças que aconteciam longe dos meus olhos, motivando-me a cumprir meus compromissos e retornar para perto deles..."

... Eu dedico com amor, sinceridade, respeito, admiração e profunda gratidão, este trabalho!

## **AGRADECIMENTOS ESPECIAIS**

A DEUS, por toda a Sua luz, ensinando-me todos os dias a pensar e agir com humildade, determinação e responsabilidade, apresentando a vida como uma estrada a ser descoberta e construída a todo momento e o tempo, o maior e melhor de todos os mestres.

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Área de Concentração Odontopediatria, Profa. Dra. Vera Lúcia Bosco, Profa. Dra. Maria José Carvalho Rocha, Prof. Dr. Ricardo de Sousa Vieira e Profa. Joeci Oliveira, da Universidade Federal de Santa Catarina, por receber de braços abertos pessoas de todas as diversidades geográficas e culturais, oferecendo suporte precioso para o amadurecimento profissional.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Izo Milton Zani, pela dedicação, tranquilidade inabalável, carinho e disposição, fundamentais para o meu aprendizado, busca e alcance de objetivos.

Ao Prof. Dr. Roldão Roosevelt Queiroz, que transmitiu-me segurança e experiência, cuja colaboração e orientação na fase experimental foram imprescindíveis para a realização deste estudo.

À Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Profa. Dra. Izabel Cristina Santos Almeida, pelo apoio incondicional e pelo trabalho de pesquisa publicado, dando-me exemplo de força, coragem, amizade, sinceridade e persistência na busca das concretizações de sonhos.

A todos os professores deste curso, minha sincera gratidão pelo aprendizado adquirido.

Aos colegas de curso, Raquel, Cinthia, Franklin, Juliana, Lucineide, Bráulio, Ana e Amaro, pelo carinho e amizade no convívio intra e extra Universidade.

À minha parceira e amiga Cleide Cristina (Pity), pelas longas conversas, gargalhadas, amizade generosa e auxílio nas horas difíceis.

Às minhas amigas Angélica e Luciana Malheiros, pela força constante, incentivo e carinho, além da valiosa ajuda para esta conquista.

Aos mais novos e queridos amigos Daniela, Aldenir, Nívea, Marcos, Graça, Rose, Yane, Alessandra, Jânia, Suzana e Albertina, que mesmo nas horas de lazer, jamais deixaram de me incentivar em relação à vida universitária e profissional.

Aos amigos maranhenses Marcos Aurélio, João Marcelo, Vanessa, Fernanda e Dirceu, que mesmo longe dos meus olhos, sempre estiveram próximos, demonstrando a todo momento que estavam comigo para o que desse e viesse.

Ao Prof. Dr. Sérgio Fernando Torres de Freitas, pela inestimável colaboração na execução da análise estatística.

À Professora Estera Musvkat Menezes, pela prontidão e ajuda valiosa na revisão metodológica e bibliográfica deste trabalho.

À Secretária da Pós-Graduação Ana Maria Frandolozo, pelo carinho, sorriso constante e atenção com que sempre me recebeu.

Ao Prof. Dr. David Riviero Tames, que me doou um pouco do seu precioso tempo para conversas inspiradoras e enriquecedoras acerca deste trabalho.

À Professora Ana Maria Maliska e aos estagiários Pablo, Rodrigo e Álvaro, do Laboratório de Materiais do Departamento de Engenharia Mecânica da UFSC, pela contribuição e atenção dispensadas.

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 - Composição nutricional do leite TIROL  
(unidades de massa por litro)..... p. 48

Tabela 2 - Teores restantes de fluoreto (mg/ml) nas soluções de leite  
adicionado de flúor (LF) e porcentagens de absorção pelo esmalte  
decíduo..... p. 50

## **LISTA DE QUADROS**

Quadro 1 - Composição percentual de lactose, proteínas, cálcio (Ca) e fósforo (P) dos leites materno e bovino..... p. 22

Quadro 2 - Composição percentual comparativa de água, proteínas, lactose, fósforo e cálcio entre leite bovino e leite humano..... p. 25

Quadro 3 - Teores de fluoreto nas amostras de leite bovino adicionado de 1mg NaF/litro em relação a intervalos crescentes de tempo..... p. 29

## **LISTA DE FIGURAS**

- Figura 1 - Dente decíduo fixado com cera amarela em base de acrílico..... p. 41
- Figura 2 - Leite utilizado no experimento e exemplificação da sua distribuição: 1L (corpo de prova 1 incubado em leite L) e 18LF (corpo de prova 18 incubado em leite LF)..... p. 43
- Figura 3 - Potenciômetro utilizado para determinação do pH na solução-teste e eletrodo íon seletivo para determinação de fluoreto..... p. 46
- Figura 4 - Representação gráfica do percentual dos teores médios de fluoreto restante e absorvido pelas amostras de esmalte decíduo incubadas em LF..... p. 51

LIMA, Karime T. **Determinação da quantidade de flúor absorvido pelo esmalte decíduo após incubação em leite bovino fluoretado *in vitro***. Florianópolis, 2000, (....)p. Dissertação (Mestrado em Odontologia - Área de Concentração Odontopediatria). Universidade Federal de Santa Catarina, 2000.

Palavras-chave: dente decíduo, esmalte, leite, fluoreto, absorção.

## **RESUMO**

O objetivo principal deste estudo foi avaliar a absorção de fluoreto pelo esmalte de dentes decíduos ocorrida durante sua incubação em leite bovino fluoretado, *in vitro*, mensurando a concentração de fluoreto naturalmente presente no leite e após a incubação das amostras de dente decíduo. Com este propósito, utilizou-se o leite TIROL integral, tipo longa vida, adquirido no mercado da cidade de Florianópolis (SC), dividido em duas porções iguais de 400ml e uma de 200ml (controle), determinando seu pH (6.8) e concentração inicial de fluoreto ( $5,1 \cdot 10^{-4}$ mg/ml), através da utilização de um potenciômetro e de um eletrodo seletivo específico para este íon, respectivamente. Foram utilizadas duas amostras com 17 corpos de prova (dentes decíduos com esmalte clinicamente sadio cada: **Grupo 1** (n=17) - amostra para incubação em leite puro; **Grupo 2** (n=17) - amostra para incubação em leite adicionado de fluoreto de potássio numa concentração aproximada de 2mg/ml (correspondente a 0,65 mgF<sup>-</sup>/ml). Os corpos de prova foram individualmente incubados em porções de leite puro (L) ou de leite adicionado de fluoreto de potássio

(LF), sendo mantidos em temperatura ambiente, por um período de 24h. Terminado o tempo de incubação, determinou-se as massas restantes de fluoreto nas porções do leite LF e subtraiu-se da sua concentração inicial, obtendo-se desta forma, a quantidade de fluoreto absorvida pelo esmalte decíduo. Os resultados mostraram que a concentração de fluoreto presente na porção LF sofreu uma redução média para 0,0372mg, com um desvio padrão de 0,00422, e que a concentração do fluoreto presente nas porções do leite L não sofreu nenhuma alteração após o período de incubação dos corpos de prova. Isso significa que a quantidade média de fluoreto restante nas porções do leite LF foi de 5,69%, sugerindo uma absorção média do íon pelo esmalte decíduo em cerca de 94,31%. Dentre as observações mais importantes durante o estudo, constatou-se que as porções do leite L sofreram, na sua grande maioria o processo de fermentação, enquanto que nenhuma das porções do leite LF apresentaram características deste processo. Isto pode comprovar o poder bacteriostático e bactericida do flúor, dependendo da sua concentração. Os resultados sugerem que o leite, além de alimento altamente nutritivo, pode ser um veículo adequado de fluoretos e potencialmente remineralizante, contribuindo como medida preventiva para combater a cárie dentária e minimizar e recuperar esmalte dentário desmineralizado.

LIMA, Karime T. **Determination of absorbed fluoride account by deciduous enamel after incubation into fluoridated bovine milk *in vitro***. Florianópolis, 2000, (....)p. Thesis for Master degree in Pediatric Dentistry. Federal University of Santa Catarina.

Keywords: deciduous tooth, enamel, milk, fluoride ion, absorption.

## **ABSTRACT**

The main goal of this study was evaluate the fluoride ion absorption by deciduous teeth enamel occurred during incubation into fluoridated bovine milk, *in vitro*, through the measurement of natural fluoride ion amount of milk and after sample deciduous teeth incubation. With this intention, a TIROL whole UHT bovine milk was bought on Florianópolis (SC) market and divided into two equal 400 ml portions and one 200ml portion (control), determining its pH value (6.8) and initial fluoride ion amount ( $5,1 \cdot 10^{-4}$ mg/ml), through use of potentiometer and an specific selective electrode for this ion, respectively. Two samples of 17 deciduous teeth (clinical healthy enamel) each one were used: **Group 1** (n=17) - sample to be incubated into pure milk; **Group 2** (n=17) - sample to be incubated into potassium fluoride ion added milk, with amount of 2mg/ml (about 0,65 mgF<sup>-</sup>/ml). Deciduous teeth were individually incubated into pure (L) or potassium fluoride ion added milk (LF), being kept on environment temperature during 24 hours. Finished this period, the remaining fluoride ion amounts were determined on LF and was subtracted from its initial amount, obtaining the absorbed fluoride ion amount by deciduous

enamel. The results showed that the fluoride ion amount in LF was reduced to about 0,0372mg, with standard diversion of 0,00422 and that fluoride ion amount on L wasn't changed after incubation period. It means that the fluoride ion remaining average amount on LF was 5,69%, suggesting an average ion absorption by deciduous enamel about 94,31%. Among the most important observations, this study noticed that L was fermented, while LF didn't show this process characteristics. It can notice the fluoride bacteriostatical and bactericidal potential dependent of its amount. The results suggest that the milk, besides a rich food, can be an appropriate fluoride vehicle and powerfully recalcifying, contributing like a preventive mean to dental decay, reducing and recovering demineralized dental enamel.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE TABELAS .....</b>	<b>viii</b>
<b>LISTA DE QUADROS .....</b>	<b>ix</b>
<b>LISTA DE FIGURAS .....</b>	<b>x</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>xi</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>xiii</b>
<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>17</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>20</b>
<b>2.1 Do potencial cariogênico do leite .....</b>	<b>20</b>
<b>2.2 Dos efeitos locais do leite sobre o esmalte dentário .....</b>	<b>25</b>
<b>2.3 Dos efeitos tópicos do flúor sobre o esmalte dentário .....</b>	<b>27</b>
<b>2.4 Do leite como veículo de fluoretos .....</b>	<b>29</b>
<b>2.5 Dos efeitos locais do leite fluoretado sobre o esmalte     dentário.....</b>	<b>32</b>
<b>3 PROPOSIÇÃO .....</b>	<b>38</b>
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>39</b>
<b>4.1 Especificações de materiais, instrumentais e aparelhos .....</b>	<b>39</b>
<b>4.2 Seleção e preparo das amostras .....</b>	<b>40</b>
<b>4.3 Preparo da solução teste .....</b>	<b>42</b>
<b>4.4 Incubação dos corpos de prova no leite .....</b>	<b>44</b>

<b>4.5 Determinação do pH nas amostras de leite .....</b>	<b>44</b>
<b>4.6 Determinação da massa de fluoreto (CaF<sub>2</sub>) no leite .....</b>	<b>45</b>
<b>4.7 Cálculo da quantidade de fluoreto (CaF<sub>2</sub>) absorvida pelo esmalte     decíduo .....</b>	<b>46</b>
<b>4.8 Análise estatística .....</b>	<b>47</b>
<b>5 RESULTADOS .....</b>	<b>48</b>
<b>5.1 Da análise química quantitativa do leite .....</b>	<b>48</b>
<b>5.2 Da massa de fluoreto absorvida pelo esmalte do dente     decíduo .....</b>	<b>49</b>
<b>6 DISCUSSÃO .....</b>	<b>52</b>
<b>6.1 Dos resultados da análise química quantitativa do leite     bovino .....</b>	<b>52</b>
<b>6.2 Dos resultados da determinação de fluoreto no leite     bovino .....</b>	<b>55</b>
<b>6.3 Dos resultados da absorção de fluoreto pelo esmalte de dentes     decíduos após incubação no leite bovino fluoretado .....</b>	<b>57</b>
<b>7 CONCLUSÃO .....</b>	<b>60</b>
<b>8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>61</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Uma das maiores preocupações dos profissionais da saúde tem sido o comprometimento precoce dos dentes decíduos pela cárie de aleitamento, uma doença infecto-contagiosa originada a partir de fatores socio-culturais relacionados com hábitos de amamentação noturna e higiene bucal negligenciada (MACHADO et al., 1994; WALTER, FERELLE, ISSAO, 1996).

MARTINS, FERNANDES, CORRÊA et al. (1998) enumeram alguns fatores principais que tornam a criança mais sensível à doença, entre eles a idade dos dentes, uma vez que o esmalte se encontra em processo de maturação pós-eruptiva nos primeiros 20 meses de vida, constituindo alvo fácil para a dissolução da sua estrutura; a falta de habilidade motora para realizar uma higienização bucal adequada; influência dos hábitos dietéticos, geralmente caracterizados pela introdução precoce e consumo freqüente de produtos muito ácidos ou com grandes quantidades de açúcares.

Logo nos primeiros meses de vida a dieta da criança se baseia integralmente no leite, quer seja sob aleitamento natural (desejável) ou artificial. O fato deste alimento permanecer em tempo demasiado na boca, ser oferecido várias vezes ao dia e não ser seguido de higiene bucal pode resultar num processo comumente conhecido como cárie de aleitamento (DEGANO & DEGANO, 1993).

A principal controvérsia tem se relacionado às suas propriedades cariogênicas e anticariogênicas, visto que o leite contém a lactose (açúcar comprovadamente metabolizável pelos microorganismos

da placa dentária), mas por outro lado contém também outros elementos considerados protetores, como cálcio e fosfatos (tendem a reduzir o efeito desmineralizante dos ácidos sobre o esmalte) e as proteínas, especialmente a caseína, que age reduzindo a queda do pH da placa durante sua exposição a ácidos (JENKINS & FERGUSON, 1966).

Com base nestes componentes, têm-se comparado as variedades de leite mais consumidas por lactentes, com destaque para os leites humano e bovino, quanto à sua cariogenicidade (JENKINS & FERGUSON, 1966; SÁ, PEREIRA, DUARTE et al., 1994).

Estabelecendo uma relação entre os hábitos alimentares no primeiro ano de vida da criança e o processo de cárie dentária, verificou-se que tanto o leite materno quanto o leite bovino e as fórmulas infantis industrializadas podem causar queda no pH da placa, facilitando a desmineralização do esmalte dentário. Além disso, o aleitamento artificial geralmente implica num contato precoce da criança com a sacarose, uma vez que por influências culturais, frequentemente se adiciona açúcar no alimento que lhe vai ser oferecido, aumentando ainda mais seu poder acidogênico e favorecendo a instalação da cárie dentária (LEBER & CORRÊA, 1998).

O flúor também tem despertado interesse como fator protetor do esmalte. Os primeiros dados sobre sua presença no leite mostraram que foi capaz de reduzir em 16 a 82% o CPOD de crianças americanas e suíças quando consumido sob uma concentração de 1 ppmF (partes por milhão de flúor) (KÛNZEL, 1993).

Visto que os dados disponíveis (McDOUGALL, 1977; GEDALIA, DAKUAR, SHAPIRA et al., 1991; TÓTH, GINTNER, BÁNÓCZY

et al., 1997) ratificam a capacidade do leite de remineralizar superfícies de esmalte desmineralizadas tanto em modelos *in vitro* como em modelos *in vivo*, considerou-se interessante verificar o comportamento do esmalte decíduo, em condições de higiene e com lesões de cárie artificial produzidas *in vitro*, incubado nas amostras em questão.

Assim, por se observar as contradições que permanecem quanto à ação do leite, este estudo pretende contribuir para seu esclarecimento, destacando algumas modificações relevantes que possam ocorrer no esmalte decíduo sob a ação do alimento e considerando, acima de tudo, que tais informações reconhecidas e consideradas como básicas sejam fundamentais para que se institua a promoção de saúde bucal ainda nos primeiros meses de vida.

## **2 REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Do potencial cariogênico do leite**

O leite é um alimento consumido pelas crianças numa frequência geralmente alta, entre as refeições e, principalmente, antes ou durante o sono, especialmente no caso dos bebês. A questão da sua cariogenicidade, apesar de ser efetivamente considerada a partir de 1964, já provocava interesse desde 1962, quando se enfatizou os possíveis efeitos cariogênicos do leite ingerido na mamadeira, usado para acalmar e fazer com que os bebês dormissem durante o dia. Sob estas condições, o alimento permaneceria mais tempo na boca e em contato com os dentes, enquanto o fluxo salivar sofreria redução e a deglutição ficaria bem menos freqüente (JENKINS & FERGUSON, 1966).

Os mesmos autores asseguram que alguns elementos presentes no leite podem favorecer a instalação da cárie, enquanto que outros podem agir dificultando-a, exercendo uma espécie de proteção, sendo por isso denominados de protetores. Destacam-se, entre os primeiros, a lactose, numa concentração de 3% a 4% e algumas vitaminas, através do estímulo à produção de ácidos pela microbiota bucal. Como elementos protetores, destacam-se o cálcio e os fosfatos, que tenderiam a reduzir a dissolução do esmalte sob ação de ácidos, e as proteínas, cuja ação resultaria numa redução da queda do pH da placa, ainda que em meio ácido.

POWELL (1976) mostra que a associação entre leite e cáries data de 1862, quando um médico pediatra observou que o alimento poderia ser um agente cariogênico, o que estimulou o avanço nas

pesquisas em torno do assunto. O autor apresenta indícios conflitantes sobre o fato do leite apresentar potencial cariogênico ou efeito protetor das superfícies dentárias. Para considerá-lo um alimento cariogênico, deveria se levar em conta que o leite é geralmente consumido com adição de sacarose e após a ingestão envolveria os dentes, sofrendo um processo de fermentação e favorecendo a descalcificação do esmalte dentário, enquanto que, por outro lado, o cálcio e o fósforo presentes na sua composição contribuiriam para um aumento da resistência desta estrutura à desmineralização.

REYNOLDS & JOHNSON (1981) verificaram que o leite bovino pasteurizado reduziu substancialmente a incidência de cárie num estudo conduzido com ratos, principalmente devido à influência direta dos seus componentes na flora bucal ou nos processos de desmineralização e remineralização (efeito químico), interferindo portanto na cariogenicidade da lactose, presente na quantidade aproximada de 4%. Entre estes componentes destacaram a fosfoproteína caseína, os fosfatos e o cálcio.

ROBERTS (1982) sugere que a única possibilidade do papel do leite na etiologia da cárie dentária esteja relacionada à lactose, um dissacarídeo metabolizável pela placa, ou à adição de outros açúcares, especialmente a sacarose. Dentro desta hipótese, sugere que o leite humano parece apresentar um potencial cariogênico maior que o leite bovino, uma vez que o seu teor de lactose é maior e seus teores de proteínas, cálcio (Ca) e fósforo (P) são menores, como mostra o Quadro 1.

Quadro 1 - Composição percentual de lactose, proteínas, cálcio (Ca) e fósforo (P) dos leites materno e bovino.

<b>Leite</b>	<b>Lactose</b>	<b>Proteína</b>	<b>Ca</b>	<b>P</b>
Materno	7%	1,2%	0,036%	0,018%
Bovino	4%	3,3%	0,120%	0,095%

Fonte: ROBERTS, 1982

SPERRY (1983) levantou a questão sobre se os profissionais de saúde bucal devem encorajar ou não o consumo de leite. Ele ressalta que o alimento não é cariogênico, exceto sob certas condições onde há contato prolongado com as superfícies dos dentes e o fluxo salivar se encontra reduzido. Evidencia também que o leite possui a capacidade de retardar a cárie dentária pelo decréscimo na solubilidade do esmalte, contribuindo para a sua remineralização.

Após coletar a placa bacteriana de crianças que tomavam leite bovino pasteurizado sem adição de açúcar, por um período de 15 dias, antes de dormir, ANNÁN, NADAL, VALLADARES et al. (1991) avaliaram seu efeito sobre as unidades formadoras de colônia (ufc) de *S. mutans* e concluíram que houve redução da porcentagem de microorganismos formadores de dextrano em cerca de 50%.

Por outro lado DEGANO & DEGANO (1993) ressaltam que o aleitamento natural não é um agente etiológico da cárie dentária, uma vez que em áreas onde as crianças se alimentam exclusivamente de leite materno, há uma baixa incidência de cárie dentária associada à dieta. Uma outra razão para tal fato é de que o leite materno apresenta elementos capazes de conferir imunidade natural às crianças contra as cáries.

Ainda assim, COUTINHO & GONÇALVES (1993) sugerem que embora altamente rico, benéfico e importante do ponto de vista nutricional, o leite pode favorecer a instalação da cárie dentária quando em contato com os dentes por períodos freqüentes e prolongados.

Os efeitos do leite sobre a atividade dos *S. mutans* foi estudado por VACCA-SMITH & BOWEN (1995), que demonstraram que o alimento reduziu a absorção da enzima glicosil transferase, devido, principalmente, à presença da caseína, cuja eficácia na modulação da formação de glucano *in vitro* ficou comprovada.

Através da simulação das condições bucais de um bebê adormecido, BOWEN, PEARSON, ROSALEN et al. (1997) verificaram que o leite não induziu o crescimento de colônias bacterianas e foi o substrato que menos favoreceu o aparecimento de lesões de cárie, obtendo grau baixo ou insignificante de cariogenicidade.

Para BEZERRA & TOLEDO (1997), alguns componentes alimentares têm sido considerados, de certa forma, inibidores da atividade de cárie, sendo por isso chamados de protetores :

- a) fosfatos - seus efeitos locais parecem estar relacionados à redução da taxa de dissolução da hidroxiapatita e supersaturação de cálcio e fosfato nos fluidos bucais, auxiliando na remineralização e na capacidade de tamponamento dos ácidos na placa. Além disso, podem adsorver proteínas à superfície do esmalte, provocando modificação na composição da película adquirida;

- b) gorduras - possivelmente substituem os carboidratos da dieta, ou podem formar uma barreira de proteção ao esmalte. Além disso, podem inviabilizar a disponibilidade dos açúcares e apresentar ação antibacteriana;
- c) caseína (fosfoproteína) - liga-se à hidroxiapatita diminuindo sua solubilidade, ou reduzindo a aderência bacteriana à superfície dentária. Eleva também o pH da placa prevenindo a desmineralização do esmalte. No leite humano, apresenta-se numa quantidade de 11g/litro e no leite bovino numa quantidade de 36g/litro;
- d) cálcio - exerce papel importante durante os eventos de remineralização, aumentando a resistência do esmalte dentário.

ARAUJO, CURY, CARBONEL et al. (1998) sugerem que o potencial cariogênico da lactose é devido, principalmente, à sua capacidade de sofrer o processo de fermentação, produzindo uma condição de pH bucal em torno de 5.0, favorecendo, assim, a desmineralização dos dentes. Os autores comparam a composição percentual dos leites bovino e humano, descritas no Quadro 2.

Quadro 2 - Composição percentual comparativa de água, proteínas, lactose, fósforo e cálcio entre leite bovino e leite humano.

<b>Componentes</b>	<b>Leite bovino</b>	<b>Leite humano</b>
Água	87%	87,5%
Proteínas	3,5%	1,3%
Lactose	4,5%	7,2%
Fósforo	0,09%	0,01%
Cálcio	0,10%	0,03%

Fonte: ARAUJO, CURY, CARBONEL et al. (1998)

## **2.2 Dos efeitos locais do leite sobre o esmalte dentário**

O papel do leite na redução de descalcificação do esmalte *in vitro* foi abordada por WEISS & BIBBY (1966), que, testando leite integral pasteurizado, leite magro reconstituído, creme de leite e leite integral reconstituído em esmalte bovino, observaram uma redução média na solubilidade do tecido de 22,1%, 22,5%, 26,5% e 23,9%, respectivamente. Concluíram que as maiores taxas de redução na solubilidade estavam associadas às maiores quantidades de proteínas, com destaque para a caseína, com significativa influência no processo. Além disso, parece haver uma reação rápida e duradoura entre a estrutura de esmalte e os componentes do leite.

BIBBY, HUANG, ZERO et al. (1980) relacionaram os mesmos achados do estudo anterior com experimentos utilizando dissolução do esmalte e acidogênese sob ação de alguns subprodutos do leite, como achocolatados, sorvetes e iogurtes. Foi verificado que adicionando leite em pó magro ou integral aos mesmos, havia redução no déficit de desmineralização. Em contrapartida os produtos aumentaram a produção de ácidos, provavelmente devido à presença da sacarose na

sua composição. A partir destes dados foi sugerido que os fatores protetores do leite podem ser mais importantes como reguladores do ataque cariogênico do que o pH da placa na superfície dentária, confirmando-se também a ação da caseína como fator protetor mais importante contra a solubilidade do esmalte.

Através da comparação *in vitro* entre a capacidade de desmineralizar o esmalte dentário de diversos alimentos, BIBBY, MUDORFF, HUANG (1983) observaram que todos os produtos avaliados provocaram menor perda de esmalte do que o controle (solução de sacarose a 2%), com exceção para o suco em pó, que provocou um alto grau de desmineralização devido à alta acidez endógena. A maior redução deste efeito foi verificada em relação ao leite em pó.

Comparando os efeitos de refrigerantes, sucos de fruta e leite no esmalte humano de adultos (modelo intra-bucal), DEVER, THOMSON, HAMPTON (1987) chegaram à conclusão que o leite, adicionado ou não com sacarose a 5%, provocou as menores modificações na microdureza do esmalte, levando-os à hipótese de que além de substrato de baixa cariogenicidade o leite ainda é efetivo para exercer uma ação protetora no tecido mineralizado.

Em relação às mudanças do pH da placa dental na presença de leite materno e leite bovino, um estudo de BIRKHED, IMFELD, EDWARDSSON (1993) demonstra resultados sugestivos de que o primeiro provocou reduções maiores de pH do que o último. No entanto, os autores consideram que, baseando-se nas mudanças no pH da placa, nenhuma indicação da diferença entre o potencial cariogênico dos dois tipos de leite pode ser definida.

Através da investigação de THOMSON, THOMSON, CHANDLER (1996) com testes intra-bucais para comparar a acidogenicidade dos leites humano e bovino, constataram que o leite humano apresenta um potencial acidogênico e de solubilidade mineral do esmalte maior do que o leite bovino. Foram feitas adições de lactose a 2% no leite bovino e de Ca e P no leite materno na tentativa de igualar suas diferenças originais, mas apesar disso não houve alteração significativa nos resultados.

### **2.3 Dos efeitos tópicos do flúor sobre o esmalte dentário**

CAUFIELD & NAVIA (1984) consideram que, dependendo da concentração, os fluoretos agem de diversas maneiras em relação à cárie dentária. Assim, com uma concentração de 10ppm (partes por milhão) é capaz de reduzir a acidogênese pelos microorganismos bucais; com 250ppm ou mais podem inibir o crescimento bacteriano e a partir de 1000ppm podem ter ação bactericida.

TEN CATE & DUIJSTERS (1983) relatam que os vários mecanismos de ação do flúor presente em solução incluem a diminuição da solubilidade do esmalte (esmalte com flúor é menos solúvel do que esmalte sem flúor, visto que a desmineralização provocada pelo consumo de açúcar só tende a ocorrer num meio com pH bem abaixo do crítico), aumenta o grau de formação de precipitados cristalinos (aumentando a resistência do esmalte e favorecendo a remineralização no processo dinâmico de reparo de lesões de cárie nos dentes), além de exercer um efeito inibitório da acidogênese bacteriana.

STORINO (1993) ressalta que os fluoretos reduzem a solubilidade do esmalte e da dentina em meio ácido e aumentam a

tendência de remineralização de lesões cáries incipientes nas duas estruturas, diminuem a tensão superficial da estrutura dentária, diminuindo também a capacidade de adesão dos microorganismos aos dentes, além de possuírem efeito anti-enzimático e antimicrobiano. Tudo isso depende, no entanto, do tipo de sal em questão, da sua concentração e pH, duração e frequência de consumo e sensibilidade dos microorganismos.

Para que o flúor exerça ação efetiva na prevenção da cárie dentária, sem causar efeitos colaterais indesejáveis, é necessário uma dose ótima diária de 0,05 a 0,07mgF<sup>-</sup>/Kg de peso corporal, o que significa que embora alguns alimentos, como os peixes, contenham altas concentrações deste elemento, não são, por si sós, perigosos, visto que apenas uma pequena parte encontra-se sob forma ionizável (NEWBRUN, 1992; DUARTE, COELHO, LESSA, 1999).

CRUZ (1999) relata que o fluoreto de cálcio (CaF<sub>2</sub>) é considerado o fator mais importante da ação tópica do flúor na prevenção da cárie dentária. Diversos veículos fluoretados, aplicados topicamente no esmalte dental humano, induzem à formação e deposição de material similar ao CaF<sub>2</sub> em sua superfície, sendo este, provavelmente, o único produto resultante de exposições da estrutura a altas concentrações de flúor. Conforme o autor, o fluoreto é depositado na superfície do esmalte na forma de fluoridroxiapatita, com os íons de cálcio e fosfato sendo liberados do esmalte dental durante o desafio cariogênico, além de conferir proteção mecânica direta à sua superfície. Seu aspecto morfológico é globular e quimicamente diferente do fluoreto de cálcio puro, cuja forma é cúbica, devido à presença do fosfato. O provável mecanismo da aderência destes glóbulos à superfície dental é a epitaxia, que corresponde a um crescimento orientado e ligação de uma substância cristalina no substrato de outro composto cristalino.

## 2.4 Do leite como veículo de fluoretos

Menos de 20% do total do flúor presente no leite está na forma iônica, conforme mostrado por DUFF (1981) ao adicionar fluoreto de sódio a um litro de leite bovino ao nível de 1mg/litro. Os níveis totais de fluoreto no leite sofreram redução para menos de um quinto da massa adicionada, após o período de 72h, indicando que o mesmo possa ter reagido com o cálcio ou com um ou mais dos seus constituintes orgânicos. Este rápido decréscimo sugere que o mesmo não parece ser tão efetivo quanto a água como veículo fluoretado (Quadro 3).

Quadro 3 - Teores de fluoreto nas amostras de leite bovino adicionado de 1mg NaF/litro em relação a intervalos crescentes de tempo.

<b>Intervalos de tempo</b>	<b>Leite pasteurizado</b>	<b>Leite cru</b>
1 hora	0.97 ppm	0.92 ppm
4 horas	0.87 ppm	0.72 ppm
8 horas	0.71 ppm	0.57 ppm
24 horas	0.53 ppm	0.40 ppm
48 horas	0.24 ppm	0.29 ppm
72 horas	0.18 ppm	0.09 ppm

Fonte: DUFF, 1981.

SPAK, EKSTRAND, ZYLBERSTEIN (1982) relataram que o leite bovino não sofre influências da água de abastecimento público, pois independente da sua quantidade de flúor, a concentração de flúor no leite fica invariável. Os autores identificam duas formas do mineral no leite: uma forma iônica, mensurável por eletrodo íon-seletivo e a

forma de flúor total, que representa uma quantidade 10 vezes maior que a primeira, dependendo, no caso do leite bovino, da qualidade do pasto do qual o gado se alimenta.

Ao estudar a quantidade de flúor presente no leite humano, EKSTRAND, SPAK, FALCH et al. (1984) identificaram  $0.36 \pm 0.15 \mu\text{M}$  (micromol) ( $\pm$  SD) quando as mães viviam em áreas com abastecimento de água fluoretada com 1 ppmF e  $0.30 \pm 0.10 \mu\text{M}$  quando as mesmas residiam em áreas com abastecimento de água fluoretada com 0.2 ppmF. Concluíram que os lactentes recebiam aproximadamente as mesmas quantidades de flúor das mães residentes nas duas áreas, apesar das concentrações do mineral na água de abastecimento serem diferentes.

Investigando sobre a disponibilidade de flúor no leite pasteurizado e esterilizado, PHILLIPS (1991) constatou que sua forma iônica era de 4.40 ppm (88%) no período de fabricação, permanecendo constante nos 3 meses seguintes, de 3.75 ppm (75%) após 5 meses e 3.10 ppm (62%) após 8 meses. No leite que havia apenas sido pasteurizado, a disponibilidade de flúor iônico foi determinada em 5.00 ppm (100%) no período de 3 dias, armazenado a uma temperatura de 4°C. Os resultados levaram o autor a considerar que a forma iônica do flúor presente no leite, apesar de sofrer influência do processamento, manteve um alto grau de concentração, o que o torna um veículo adequado à administração do mineral.

BÁNÓCZY, STEPHEN, PAKHOMOV (1996) enfatizam que a presença do flúor no leite pode exercer uma influência positiva nos processos de desmineralização e remineralização dos tecidos duros dos dentes, além de não alterar seu sabor e ser bem absorvido pelo organismo (embora mais lentamente do que quando presente na água).

As características de inibição cariogênica do leite fluoretado têm sido discutidas desde 1953, quando o pediatra suíço Ziegler propôs a adição de 1ml de fluoreto de sódio (NaF) a 0,22% (1000 ppmF<sup>-</sup>) em 1 litro de leite fresco como medida profilática contra os altos índices de prevalência de cárie dentária, constatando que a fluoretação do leite provem as melhores médias de dosagem para todas as faixas etárias (BÁNÓCZY, STEPHEN, FAKHOMOV, 1996).

KOLESNIK, PHILLIPS, VILLA (1996) argumentam que o processo de fluoretação do leite envolve técnicas simples de execução e o monitoramento da qualidade através da utilização de eletrodos iônicos seletivos é bastante acessível e simples de ser feito. Os autores salientam que a concentração requerida para permitir o consumo de uma quantidade ótima de flúor pelas crianças é de até 1 mg/dia, de acordo com sua idade e com a concentração de flúor na água de abastecimento público da região onde vive.

HEINTZE & BASTOS (1996) avaliaram o teor de flúor em algumas bebidas do mercado nacional e os dados mostraram que vários tipos de leite, incluindo o fresco, o longa vida e em pó, apresentaram teores inferiores a 0.1 ppmF<sup>-</sup>, com média de 0.8 ppmF<sup>-</sup>. Bebidas produzidas com água fluoretada (1mgF<sup>-</sup>/litro) contêm cerca de 0,5mgF<sup>-</sup>/litro mais do que aquelas produzidas sem água fluoretada. Constataram ainda que no leite, a biodisponibilidade de fluoreto de sódio é de 30% menos do que na água.

Segundo SILVA (1999), a concentração de flúor no leite humano é de 0.004ppmF em áreas não fluoretadas e de 0.01ppmF em áreas fluoretadas. No leite bovino a concentração de flúor varia de 0.01ppm a 0.05ppmF, independente da concentração do mineral na água. Contudo, a concentração do mineral no leite humano aumenta

ligeiramente após ingestão de doses altas de flúor. O mesmo ressalta ainda a variação da concentração do flúor nos alimentos, estimando que a sua ingestão, proveniente da dieta, está entre 0.2ppm e 1.0ppm. Este valor máximo só é alcançado quando se considera o consumo de chás. Nos Estados Unidos, a concentração média do mineral encontrada nos derivados do leite foi de 0.25ppm.

## **2.5 Dos efeitos locais do leite fluoretado sobre o esmalte dentário**

LIGHT, BIBBY, SMITH et al. (1968) determinaram um aumento na quantidade de flúor no esmalte de dentes decíduos de crianças cujas mães consumiam leite contendo NaF (fluoreto de sódio) no período de gestação e quando as mesmas crianças o consumiam após o nascimento. Os dados indicam também ausência de lesões de cárie, além de altos teores de flúor na estrutura do esmalte destas crianças.

Ao comparar o incremento de flúor no esmalte de dentes de ratos que consumiam 3ml de água ou leite contendo 50 ppmF, 5 dias por semana, durante um período de 8 semanas, POULSEN, LARSEN, LARSON (1976) concluíram que o mesmo foi maior no grupo que consumiu o leite fluoretado do que nos ratos que consumiram água fluoretada. Os efeitos tópicos do flúor nos dois veículos resultaram numa significativa redução na prevalência de lesões vestibulares e linguais/palatais, mas nenhum efeito significativo foi detectado nas superfícies proximais e de sulco e fissuras.

McDOUGALL (1977) observou que, expondo o esmalte dentário ao leite alternado a períodos de desmineralização, ocorreu menor perda de minerais do que a amostra controle submetida à

desmineralização apenas. A exposição de lesões artificiais de esmalte ao leite por 50 horas resultou em remineralização, verificada por um aumento na birefringência negativa (indicando que a quantidade de espaços presentes no corpo das lesões artificiais nas amostras submetidas ao tratamento com leite havia sofrido uma redução) e no percentual do conteúdo mineral do esmalte mais superficial, ao mesmo tempo em que houve perda no conteúdo de cálcio do leite.

MOR & RODDA (1983) sugerem que a redução na porosidade da estrutura de esmalte dentário (indicada pela birefringência negativa) se deva não apenas à incorporação de íons de cálcio e fósforo pelas lesões artificiais, mas também à possibilidade da caseína preencher estes poros, obstruindo a lesão. As alterações histológicas observadas demonstram que os componentes do leite apresentam capacidade de difundir-se no corpo da lesão, modificando o volume dos poros e, em alguns casos, diminuindo a extensão da lesão em si.

Numa investigação de FEATHERSTONE & ROSENBERG (1984) acerca do efeito dos lipídios na progressão de lesões artificiais de cárie no esmalte dentário, evidenciou-se que estes elementos, formadores da matriz orgânica do tecido juntamente com água e proteínas, são capazes de inibir o processo de desmineralização por promover uma barreira protetora aos cristais de apatita. À avaliação de dentes com esmalte normal e com esmalte desprovido de lipídios, concluíram que houve maior progressão de lesões artificiais de cárie nos primeiros.

Ao analisar a capacidade dos leites humano e bovino para inibir a dissolução do esmalte em presença de microorganismos bucais, RUGG-GUNN, ROBERTS, WRIGHT (1985) puderam concluir que o leite

humano provocou uma proteção menor no esmalte quando comparado ao leite bovino, ao mesmo tempo em que a quantidade de Ca e P dissolvidos na sua presença foi maior. Os autores atribuem tal diferença ao seu maior teor de lactose, às concentrações mais baixas de Ca, P e de fosfoproteínas, cuja afinidade com o esmalte dentário é muito alta. No entanto, ao ser comparado a soluções aquosas de lactose e sacarose, o leite humano mostrou-se capaz de exercer proteção contra a dissolução do esmalte tanto quanto o leite bovino.

TÓTH, ZIMMERMANN, BÁNÓCZY et al. (1987) avaliaram o incremento do conteúdo de flúor no esmalte dentário de crianças na faixa etária de oito a dez anos, que consumiram 200ml leite fluoretado diariamente ( $0,4\text{mgF}^-$  quando tinham 3 a 5 anos e  $0,75\text{mgF}^-$  de 5 anos em diante), por um período de 5 anos. Os resultados mostraram que deste grupo teste 59,4% das crianças estavam sem lesões de cárie, enquanto que no grupo controle (sem consumo de leite fluoretado), correspondeu a 17,2%. O grupo teste apresentou uma média de flúor no esmalte em cerca de  $12,54 \pm 0,761\text{ng}$  (nanogramas)/ $7,1\text{mm}^2$ , significativamente maior do que no grupo controle, que foi de  $7,30 \pm 0,360\text{ng}/7,1\text{mm}^2$ . Os autores chamam a atenção para a alta biodisponibilidade de flúor consumido através do leite, o que justifica os resultados do estudo. Os efeitos locais devem ser acentuados em função do flúor proveniente do leite, secretado pela saliva, e seu acúmulo na placa dentária.

Após a avaliação da eficácia do leite fluoretado como um alimento cariostático, VILLA, GUERRERO, CISTERNAS et al. (1990) verificaram que a absorção do flúor (na forma de monofluorofosfato) no leite é tão alta quanto a absorção do elemento (na forma de fluoreto de sódio) na água. Além disso, os autores ainda chamaram atenção para o

fato de que o sistema de fluoretação do leite é muito mais econômico, sendo uma alternativa viável para alguns países menos desenvolvidos.

Partindo do princípio de que o leite é um meio natural de recalificação, GEDALIA, DAKUAR, SHAPIRA et al. (1991) estudaram seu efeito durante a exposição de lâminas de esmalte pré-desmineralizadas com bebida ácida (Coca-Cola), cujo pH foi estimado em 2.3. A microdureza destas placas foi avaliada antes e após a imersão na bebida e após a exposição ao leite. Os achados mostraram que, após a imersão na Coca-Cola, houve decréscimo significativo na microdureza, causando até mesmo irregularidades na superfície do esmalte. Os efeitos remineralizantes do leite bovino ficaram comprovados ao se verificar, após o tratamento, que a microdureza do esmalte sofreu aumento e morfológicamente reduziram-se os centros de erosão. Entretanto, ressaltaram que os maiores depósitos formados na superfícies de esmalte podem ser de origem orgânica proveniente do leite bovino.

Em um estudo de BOTEVA, RUGG-GUNN e HIGHAM (1996), no qual foram testadas três soluções ( leite integral com 5 ppm de flúor, água com 5 ppm de flúor e leite integral comum), ficou demonstrado que o maior grau de remineralização de lesões artificiais de mancha branca ocorreu no grupo tratado com o leite fluoretado, tanto sob microradiografia quanto sob microscopia de polarização.

Um estudo de TÓTH, GINTNER, BÁNÓCZY et al. (1997) em modelos de esmalte dental humano desmineralizados *in vitro* com gel ácido de pH=4.95, indicou uma redução na solubilidade do esmalte sob a ação do leite contendo flúor, mostrando que seu mecanismo de ação compreendeu a redução do teor de carbonato e o acúmulo de flúor no esmalte. Com base nestes resultados, concluíram que o modelo

utilizado indica um possível efeito tópico do leite fluoretado como fonte de liberação lenta de flúor para minimizar ataques ácidos, aumentando a resistência do esmalte dentário.

Ao avaliar o efeito do leite contendo flúor em várias concentrações (grupo 1: 1mg/litro; grupo 2: 2,5mg/litro; grupo 3: 5mg/litro) sobre a solubilidade do esmalte humano, GINTNER, TÓTH, BÁNÓCZY et al. (1997) verificaram que o conteúdo de flúor na superfície do esmalte aumentou consideravelmente sob a ação de todas as concentrações, especialmente nos grupos 2 e 3, onde o conteúdo de fósforo perdido foi o menor. Concluíram que o flúor é um importante elemento presente no leite com capacidade de reduzir a solubilidade do esmalte aos ácidos.

Com o objetivo de testar os efeitos do leite com diferentes concentrações de flúor (0, 1, 2.5 e 5ppmF) na remineralização de lesões de manchas brancas em esmalte de premolares, AL-KHATEEB, TROLLSAS, GINTNER et al. (1998) verificaram que a concentração de 1ppmF promoveu o maior grau de remineralização, seguida das amostras com 2.5 e 5ppmF. O leite que não continha flúor (0 ppmF) promoveu uma remineralização insignificante. Os autores enfatizam o fato de que o leite com menor concentração de flúor mostrou-se mais eficaz do que aqueles com concentrações maiores.

Num estudo semelhante, KAHAMA, DAMEN, TEN CATE (1998) observaram que o leite bovino contendo flúor intrínseco só foi capaz de proteger os espécimes de esmalte desmineralizado *in vitro* quando os mesmos foram submetidos a dois tratamentos diários. Na concentração de 0,3µg/ml de flúor, o leite foi capaz de reduzir em 36% a perda de cálcio do esmalte ocorrida em meio com pH=5.0. Por outro lado, alertam para um achado importante: sob condições de desafios

acidogênicos muito severos ( $\text{pH} < 4.6$ ), a descalcificação continua a ocorrer normalmente, mesmo após o tratamento com leite.

### **3 PROPOSIÇÃO**

- 3.1 Mensurar o pH do leite bovino;
- 3.2 Mensurar a concentração natural do fluoreto (forma iônica do flúor) nas amostras do leites bovino;
- 3.3 Determinar, *in vitro*, a absorção do fluoreto no esmalte de dentes decíduos humanos após incubação por 24 horas no leite bovino puro e adicionado de flúor.
- 3.4 Comparar os resultados das massas de fluoreto encontradas nas amostras de leite puro e no leite adicionado de flúor.

## **4 MATERIAIS E MÉTODOS**

### **4.1 Especificações de materiais, instrumentais e aparelhos**

Agitador magnético Micronal

Água destilada

Blocos de acrílico

Caneta marcadora azul Artline 400XF

Cera amarela Horus

Citrato de sódio Vetec P.A.

Cloreto de sódio Vetec P.A.

Contra-ângulo

Copos plásticos descartáveis com capacidade para 50ml

Corning pHmeter 220

Disco de diamante Swiss Dental Diamond 273D

Eletrodo íon-seletivo a fluoreto Orion para Flúor

Esmalte de unhas (Colorama 198)

Estereomicroscópio

Etiquetas adesivas com área de 9mm<sup>2</sup>

Fluoreto de potássio J. Baker P.A.

Formol 3%

Hidróxido de Potássio Vetec P.A.

Leite TIROL UHT integral longa vida

Lixa n. 600 e 1200 (3M)

Lixadeira mecânica para superfícies

Micro-motor

Pedra pomes

Pinça clínica

Potenciômetro Cornig Modelo E452

Taça de borracha para contra-ângulo  
TISAB III (preparado com reagentes grau analítico)

#### **4.2 Seleção e preparo das amostras**

Foram utilizados dentes decíduos humanos anteriores superiores e inferiores (incisivos e caninos), esfoliados naturalmente ou extraídos por razões ortodônticas ou odontopediátricas, doados por crianças atendidas nas Clínicas de Graduação e Pós-Graduação em Odontopediatria da UFSC e em clínicas particulares da cidade de Florianópolis (SC). As coroas clínicas de todos os elementos encontravam-se totalmente híginas ou afetadas por lesões de cárie ou restaurações que não comprometessem suas faces vestibulares, em cuja estrutura de esmalte foram realizados os experimentos. O grau de rizólise foi desconsiderado, interessando somente suas condições coronárias.

Os dentes obtidos foram submetidos à profilaxia com pedra pomes e taça de borracha montada em contra-ângulo para remoção de detritos orgânicos presentes na região coronária e colocados em recipientes de vidro contendo solução de formol a 3%, em temperatura ambiente, até o preparo dos corpos de prova.

Os espécimes foram então fixados individualmente com cera amarela em bases cilíndricas de acrílico, como demonstrado na Figura 1.

Figura 1 - Dente decíduo fixado com cera amarela em base de acrílico.



As superfícies de esmalte (cl clinicamente sadias) foram levemente polidas em lixadeira mecânica do Laboratório de Materiais do Curso de Engenharia Mecânica da UFSC, com o emprego de discos de lixa d'água de n.600 e n.1200 (3M), com a finalidade de facilitar a delimitação da área de teste.

Para a delimitação da área de teste utilizou-se um adesivo de formato quadrado regular com área de  $9\text{mm}^2$  (milímetros quadrados) na superfície vestibular do esmalte. Logo depois pincelou-se esmalte de unhas colorido, aguardou-se sua secagem e removeu-se o adesivo, permanecendo a área delimitada de esmalte exposto.

Selecionou-se 34 corpos de prova, dividindo-os, aleatoriamente, em dois grupos:

**Grupo 1 (n=17)** : amostra para incubação em leite bovino puro;

**Grupo 2 (n=17)** : amostra para incubação em leite bovino adicionado de flúor na forma de fluoreto de potássio.

### 4.3 Preparo da solução teste

O leite bovino utilizado neste estudo foi o leite TIROL longa vida UHT integral (Figura 2), loteA373, data de fabricação 20/03/2000 e de validade até 20/07/2000, obtido no mercado de Florianópolis (SC).

Dividiu-se o conteúdo total de 1 litro em três porções:

**Leite L** : 400ml (mililitros);

**Leite LF**: 400ml;

**Controle**: 200ml (para determinação de fluoreto naturalmente presente).

Figura 2 - Leite utilizado no experimento e exemplificação da sua distribuição: 1L (corpo de prova 1 incubado em leite L) e 18LF (corpo de prova 18 incubado em leite LF).



No leite LF adicionou-se a quantidade total de 801,7mg (miligramas) de fluoreto, na forma de fluoreto de potássio [KF], pesada em balança analítica Sartorius modelo EA 620, a qual correspondeu a uma concentração aproximada de 2mg de fluoreto de potássio por ml de leite (2000 ppm).

Distribui-se a parte L em 17 copos plásticos com capacidade para 50ml , cada um contendo 20ml de leite puro, fazendo o

mesmo com a parte LF, com cada copo contendo 20ml de leite fluoretado.

#### **4.4 Incubação dos corpos de prova no leite**

Os 34 corpos de prova, numerados de 1 a 34, foram incubados nos copos contendo leite, os quais foram identificados com números (correspondentes ao corpo de prova) e letras (correspondentes ao leite puro ou fluoretado). Assim, o copo identificado como 1L (Figura 2) corresponde ao corpo de prova 1 incubado em leite puro, assim como o corpo 18LF (Figura 2), corresponde ao corpo de prova 18 incubado em leite fluoretado. Desta forma, os corpos de prova 1 ao 17 foram incubados em leite puro e os de número 18 ao 34, incubados em leite fluoretado.

O período de incubação foi de 24 horas, à temperatura ambiente. Passado este tempo, retirou-se os corpos de prova do leite e os copos contendo o leite foram mantidos em geladeira para se proceder com a análise do fluoreto no dia seguinte.

#### **4.5 Determinação do pH nas amostras de leite**

Para a determinação de pH nas amostras de leite, utilizou-se o pHmetro Corning (Figura 3), do Laboratório de Automação em Química Analítica da UFSC. A calibração do aparelho foi feita com uma solução tampão a pH =7.0.

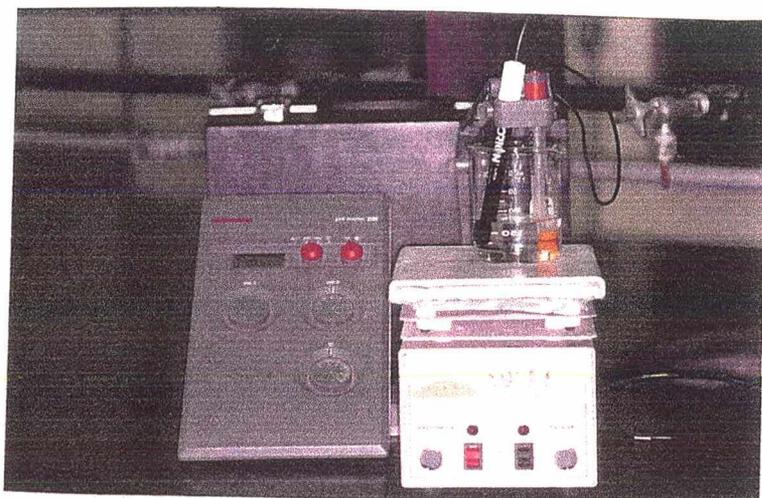
A composição de carboidratos, proteínas e gorduras descrita na sua embalagem foi considerada, assim como os dados de

teores de cálcio (Ca), fósforo (P) e flúor (F) fornecidos pelo Departamento Técnico dos Laticínios TIROL.

#### **4.6 Determinação da massa de fluoreto (CaF<sub>2</sub>) no leite**

A determinação do fluoreto no leite foi realizado segundo o procedimento proposto por FRANT & ROSS JR.(1968). Segundo essa técnica, faz-se uso de um ajustador de força iônica conhecido por “TISAB”, preparado da seguinte forma: sobre aproximadamente 500ml de água destilada adiciona-se 57ml de ácido acético glacial (CH<sub>3</sub>COOH), 58g de cloreto de sódio (NaCl) e 0,3g de citrato de sódio (C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>O<sub>7</sub>Na) e posteriormente o pH foi ajustado para 5,0 a 5,5 com solução aquosa a 5,0 mol por litro em hidróxido de sódio (NaOH). Depois construiu-se uma curva analítica para a qual tomou-se 50ml da solução de “TISAB” e adicionou-se diversos volumes de solução aquosa de fluoreto de modo a ter uma curva analítica com concentrações de fluoreto, a saber:  $2,31 \cdot 10^{-5}$  mol por litro;  $6,80 \cdot 10^{-5}$  mol por litro;  $3,05 \cdot 10^{-4}$  mol por litro e  $2,30 \cdot 10^{-3}$  mol por litro. Para cada padrão de fluoreto determinou-se o potencial observado (em milivolts, após o tempo de 3 minutos), com o uso de um eletrodo íon-seletivo (Figura 3), e traçou-se uma curva analítica, determinando-se a sua equação. Para as amostras o procedimento foi o mesmo adotado para as soluções padrões, ou seja, sobre 50ml da solução de “TISAB” foi adicionado 1 ml da solução de amostra (leite fluoretado) e determinou-se o potencial tal como o procedido para os padrões. A seguir, os valores de potenciais foram lançados sobre a equação da curva analítica e determinou-se a quantidade de fluoreto não absorvida pelos corpos de prova.

Figura 3 - Potenciômetro utilizado para determinação do pH na solução-teste e eletrodo íon seletivo para determinação de fluoreto.



#### 4.7 Cálculo da quantidade de fluoreto ( $\text{CaF}_2$ ) absorvida pelo esmalte decíduo

Para a determinação da quantidade de fluoreto ( $\text{CaF}_2$ ) absorvido ( $M_{\text{abs}}$ ) pelo esmalte decíduo, subtraiu-se a massa de fluoreto determinada no leite ( $M_{\text{res}}$ ) do total de fluoreto ( $\text{CaF}_2$ ) presente no mesmo antes da incubação dos corpos de prova ( $M_{\text{ini}}$ ). Assim:

$$M_{\text{abs}} = M_{\text{ini}} - M_{\text{res}}$$

#### **4.8 Análise estatística**

O teste estatístico utilizado para os valores de pH e concentração de flúor restante nas soluções de leite testadas foi o teste "t" de Student pareado e para grupos independentes ( $p < 0,0001$ ). O intervalo de confiança ficou estabelecido em 0,00195 para o nível 0,05 de significância.

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Da análise química quantitativa do leite

O leite bovino utilizado neste estudo apresentou os valores nutricionais assim descritos:

Tabela 1 - Composição nutricional do leite TIROL (unidades de massa por litro).

<b>Macro e micronutrientes</b>	<b>Quantidade por litro de leite</b>
Proteínas	33g
Gorduras	32g
Carboidratos	48g
Cálcio (Ca)	1200mg
Fósforo (P)	1000mg
Flúor	20 $\mu$ g

Fonte: Laticínios TIROL LTDA.

A concentração de flúor informada pelo Departamento Técnico do fabricante foi de 20 $\mu$ g (microgramas)/litro ( $0,2 \cdot 10^{-4}$ mg/ml) enquanto que o eletrodo íon seletivo utilizado neste estudo indicou a concentração de  $5,1 \cdot 10^{-4}$  mg/ml (0,51ppm).

O pH obtido do leite bovino foi 6.8 e a concentração de fluoreto totalizou  $65 \cdot 10^{-2}$ mg/ml (650ppm) após a adição de 2mg/ml de fluoreto de potássio.

## **5.2 Da massa de fluoreto absorvida pelo esmalte do dente decíduo**

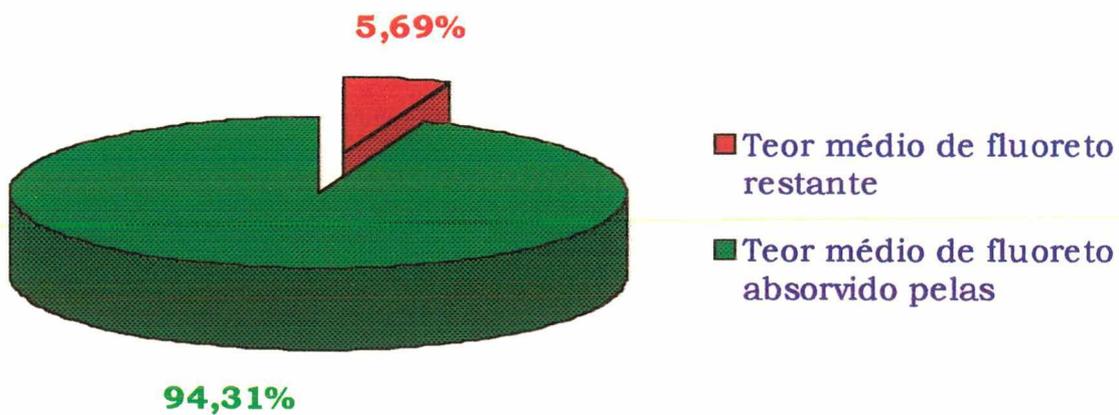
Após determinação dos teores de flúor na solução controle, verificou-se que seu teor inicial de  $5,1 \cdot 10^{-4}$  mg/ml foi mantido, enquanto que nas soluções do leite LF, de concentração inicial igual a  $65 \cdot 10^{-2}$  mg/ml, houve diferenças estatisticamente significantes.

Os resultados (Tabela 2) apontaram uma média de 0,0372mg/ml de flúor restante nas porções de leite LF, com um desvio padrão de 0,00422. O intervalo de confiança estabelecido para o nível de 0,05 de significância foi de 0,00195. Logo, o limite inferior para se considerar um grupo equivalente a este é uma massa de 0,03524 (média menos o intervalo de confiança). O teste “t” de Student foi igual a 38,7 ( $p < 0,0001$ ), confirmando que houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos e que os dentes incubados nas soluções LF apresentaram maior concentração de flúor no esmalte.

Tabela 2 - Teores restantes de fluoreto (mg/ml) nas soluções de leite adicionado de flúor (LF) e porcentagens de absorção pelo esmalte decíduo durante o período de incubação (24 h).

<b>Solução</b>	<b>Teor de fluoreto</b>	<b>Porcentagem absorvida</b>
18LF	0,042mg (6,47%)	93,53%
19LF	0,042mg (6,47%)	93,53%
20LF	0,040mg (6,15%)	93,85%
21LF	0,034mg (5,23%)	94,77%
22LF	0,040mg (6,15%)	93,85%
23LF	0,040mg (6,15%)	93,85%
24LF	0,045mg (6,92%)	93,08%
25LF	0,044mg (6,77%)	93,23%
26LF	0,033mg (5,08%)	94,92%
27LF	0,034mg (5,23%)	94,77%
28LF	0,034mg (5,23%)	94,77%
29LF	0,033mg (5,08%)	94,92%
30LF	0,034mg (5,23%)	94,77%
31LF	0,034mg (5,23%)	94,77%
32LF	0,034mg (5,23%)	94,77%
33LF	0,036mg (5,54%)	94,46%
34LF	0,034mg (5,23%)	94,77%

Figura 4 - Representação gráfica do percentual dos teores médios de fluoreto restante e absorvido pelas amostras de esmalte decíduo incubadas em LF.



## **6 DISCUSSÃO**

### **6.1 Dos resultados da análise química quantitativa do leite bovino**

O leite é, sabidamente, um produto altamente rico em macro e micronutrientes essenciais à saúde do homem, desde seus primeiros meses de vida, quando constitui alimento único, até as fases mais tardias, quando torna-se complemento da dieta (BENBOUZID & RAMANATHAN, 1996).

Alguns estudos têm enfatizado as controvérsias provocadas em torno da cariogenicidade do leite, que contém, entre outros macronutrientes, a lactose, um dissacarídeo comprovadamente metabolizável pelos microorganismos da placa dental e, por isso, potencialmente cariogênico. Porém, nenhum consenso parece ter-se estabelecido até aqui, uma vez que também apresenta quantidades consideráveis de minerais, como Ca e P e caseína, proteína considerada protetora dos tecidos dentários (BIBBY, HUANG, ZERO et al., 1980; THYLSTRUP & FEJERSKOV, 1995).

Algumas variáveis, como a forma de ingestão do leite, acondicionado em copos, xícaras, mamadeiras (aleitamento artificial) ou sob amamentação no peito (aleitamento natural), podem favorecer o aparecimento da cárie dentária, visto que o aleitamento artificial, além de tirar do bebê o contato materno mais importante nos seus primeiros meses de vida, a amamentação, dificultando seu desenvolvimento facial (porção muscular, óssea e vias aéreas) ideal, geralmente representa a introdução da sacarose na sua dieta, transformando-o em um dos

fatores mais importantes dentro do risco de desenvolvimento da cárie dentária (EDUARDO, CORRÊA, BONEKER, 1998). Desta forma, também deve ser considerado o horário de ingestão, geralmente durante a noite e sem qualquer higienização subsequente, quando o leite fica estagnado sobre os dentes por um período longo. Neste período, o meio bucal ainda se encontra caracterizado pela redução do reflexo deglutivo e do fluxo salivar, com a capacidade reduzida de tamponamento da saliva (JENKINS & FERGUSON, 1966; POWELL, 1976; ROBERTS, 1982; COUTINHO & GONÇALVES, 1993).

Os mesmos autores realizaram vários trabalhos com o objetivo de atingir um consenso quanto ao potencial cariogênico do leite, mas as dúvidas persistem e a análise dos seus constituintes pode representar um caminho válido para que se chegue a este consenso.

Consideradas importantes agentes protetores dos dentes, especialmente durante desafios cariogênicos, as proteínas foram encontradas numa quantidade de 3,3%, segundo tabela descrita na embalagem do leite TIROL, aproximando-se do encontrado por ARAUJO, CURY, CARBONEL et al. (1998), que foi de 3,5%. No leite humano ROBERTS (1982) encontrou o equivalente a 1,2%, enquanto ARAUJO, CURY, CARBONEL et al. (1998) encontraram 1,3%, percentuais mais baixos que aqueles do leite bovino. Há concordância em afirmar que as proteínas são importantes agentes protetores contra a cárie dentária, por agirem, de forma geral, na neutralização do pH bucal após desafios cariogênicos (JENKINS & FERGUSON, 1966; REYNOLDS & JOHNSON, 1981). Dentro deste grupo, destaca-se a caseína, que age na redução da solubilidade da hidroxiapatita, previne a desmineralização do esmalte dentário (BEZERRA & TOLEDO, 1997) e regula a formação do glucano *in vitro* (VACCA-SMITH & BOWEN, 1995). Entretanto, a quantidade de caseína no leite utilizado neste estudo não

estava especificada na embalagem e nem foi informada pelo Departamento Técnico dos Laticínios TIROL LTDA.

A quantidade de lactose presente no leite TIROL corresponde a aproximadamente 4,8%, porcentagem acima dos 4% propostos por JENKINS & FERGUSON (1966), REYNOLDS & JOHNSON (1981), ROBERTS (1982), e aproximada aos 4,5% propostos por ARAUJO, CURY, CARBONEL et al. (1998). No leite humano a lactose está presente numa quantidade bem maior, correspondendo a 7% para ROBERTS (1982) e a 7,2% para ARAUJO, CURY, CARBONEL et al. (1998). Considerada um açúcar metabolizável pelos microorganismos da placa bacteriana, a lactose é passiva de sofrer fermentação, produzindo um meio com pH aproximado a 5.0, o que pode favorecer a desmineralização dentária quando em contato prolongado com os dentes, uma vez que estaria abaixo do pH crítico de 5.5 (ARAUJO, CURY, CARBONEL et al., 1998).

No que diz respeito às quantidades de Ca e P, os valores fornecidos pelo fabricante mostraram-se semelhantes aos respectivos 0,12% e 0,095% da pesquisa de ROBERTS (1982), e um pouco maiores que aqueles estabelecidos por ARAUJO, CURY, CARBONEL et al. (1998), 0,10% e 0,09%. Quanto a estes nutrientes, o leite bovino é mais rico que o leite humano, numa proporção de aproximadamente 9 vezes maior para o Ca e 3 vezes maior para o P. O principal mecanismo de ação destes minerais estaria relacionado ao aumento da resistência do esmalte dentário ao ataque bacteriano e à queda do pH bucal, prevenindo-o contra a desmineralização (POWEL, 1976; BEZERRA & TOLEDO, 1997).

À determinação do pH, o leite TIROL *in natura* apresentou o valor de 6.8, bem acima do pH=5.5, considerado crítico, uma vez que

abaixo dele ocorre a subsaturação da saliva em Ca e P. Deste modo, a tendência é de que ocorra a perda desses minerais do esmalte dental para o meio, caracterizando o processo de desmineralização (CURY, 1992). Portanto, a acidez do leite só parece ter significado quando ocorre a fermentação da lactose, conforme relataram ARAUJO, CURY, CARBONEL et al. (1998).

## **6.2 Dos resultados da determinação de fluoreto no leite bovino**

O flúor adicionado ao leite não altera o seu sabor, é bem e mais lentamente absorvido do que o adicionado à água fluoretada, além de ser constituído por um açúcar mais lentamente fermentável pela placa dentária e proteínas e gorduras com efeito cariostático (BÁNÓCZY, BRAMBILLA, CUTRESS et al., 1996).

À análise da massa de fluoreto naturalmente presente no leite deste estudo, encontrou-se o valor de  $5,1 \cdot 10^{-4} \text{mgF}^-/\text{ml}$ , o que corresponde a  $0,51 \text{ppmF}^-$ , na forma de fluoreto de cálcio ( $\text{CaF}_2$ ). Este teor está acima do verificado por HEINTZE & BASTOS (1996), que mostraram o leite longa vida com concentrações inferiores a  $0,1 \text{ppmF}^-$  (biodisponibilidade de fluoreto de sódio 30% menor que na água). Contudo, a média estabelecida por SILVA (1999) para o leite bovino foi de  $0,01 \text{ppmF}^-$  a  $0,05 \text{ppmF}^-$ , enquanto que o consumo de fluoreto proveniente da dieta estaria entre  $0,2 \text{ppm}$  e  $1 \text{ppm}$ . A alta média encontrada neste estudo pode ter ocorrido em função da quantidade de flúor presente nas gramíneas que servem de alimento para o gado SILVA (1999).

Após a adição do fluoreto de potássio numa concentração de  $2 \text{mg}/\text{ml}$ , o leite TIROL apresentou um total de  $65 \cdot 10^{-2} \text{mgF}^-/\text{ml}$  (650

ppmF<sup>-</sup>), concentração relativamente alta, considerando-se que a dose ótima diária necessária para que o flúor exerça ação preventiva contra a cárie dentária seja de 0,05 a 0,07mgF<sup>-</sup>/kg de peso. Esta alta concentração atingida após a adição do fluoreto de potássio se justifica no caráter imediato e laboratorial desta pesquisa, uma vez que o período de incubação das amostras de esmalte decíduo foi relativamente curto e a intenção era a obtenção de resultados a curto prazo. Portanto, ressalta-se que o consumo de leite fluoretado deve ser racional e para se evitar o risco de intoxicações e fluorose dentária é fundamental observar a utilização de outros meios com flúor para prevenção contra a cárie dentária, tais como água de abastecimento público, dentifrícios, soluções para bochecho e aplicações profissionais.

A dose provavelmente tóxica (DPT) estimada para crianças é de 5,0mgF/kg, acima da qual se caracteriza toxicidade aguda por flúor (CURY, 1992). Logo, com a concentração natural achada aqui, seria necessária uma quantidade acima de 9,8 litros de leite bovino por dia para causar intoxicação por flúor numa criança de 10 kg, desconsiderando, contudo, outros mecanismos de uso do flúor.

Observou-se que o leite, após adição de fluoreto de potássio, não sofreu o processo natural de fermentação ao ser mantido em temperatura ambiente durante o período de incubação dos corpos de prova (24h), o mesmo não acontecendo com a solução controle. Com base nesta observação pode-se sugerir que o flúor é um potente agente bacteriostático, impedindo a ação das bactérias responsáveis pela fermentação do leite, o que confirma as considerações de CAUFIELD & NAVIA (1984), mostrando que acima de 250ppm e abaixo de 1000ppm o fluoreto é capaz de inibir o crescimento bacteriano.

### **6.3 Dos resultados da absorção de fluoreto pelo esmalte de dentes decíduos após incubação no leite bovino fluoretado**

Além dos já conhecidos efeitos sistêmicos do flúor presente no leite (LIGHT, BIBBY, SMITH et al., 1968; TÓTH, ZIMMERMANN, BÁNÓCZY, 1987), pôde-se, através deste estudo, verificar que houve um efeito local significativo quando o leite fluoretado esteve em contato com a estrutura dentária pelo período de 24 horas *in vitro*. As análises químicas realizadas no leite, após incubação de dentes decíduos, mostraram que a quantidade inicial de fluoreto nas soluções de leite LF diminuiu, sugerindo uma absorção de fluoretos pelo esmalte dentário clinicamente sadio, numa quantidade média de  $12,24\text{mgF}^-/9\text{mm}^2$  de esmalte ( $0,612\text{mgF}^-/\text{ml}$  de leite). Estes resultados comprovam aqueles mostrados por GINTNER, TÓTH, BÁNÓCZY et al. (1997), em cujo estudo foi demonstrado que houve aumento no conteúdo de flúor na superfície de esmalte dentário previamente desmineralizado, com capacidade para reduzir a solubilidade do tecido por ação de ácidos.

No trabalho de TÓTH, ZIMMERMANN, BÁNÓCZY et al. (1987), a média de absorção de flúor esteve em  $12,54 \pm 0,761$  ng/ $7,1\text{mm}^2$  de esmalte, a partir da ação sistêmica do consumo de leite fluoretado, quantidade que está inferior aos resultados achados neste estudo, visto que aqui se determinou a absorção de fluoreto por ação tópica *in vitro*, com alta concentração de flúor no leite ( $0,65\text{mgF}^-/\text{ml}$ ), por um período de 24 horas, enquanto que os autores acima desenvolveram um acompanhamento longitudinal (5 anos) dos efeitos sistêmicos do leite fluoretado em quantidades menores ( $0,4\text{mgF}^-/200$  ml e  $0,75\text{mgF}^-/200\text{ml}$ ).

POULSEN, LARSEN, LARSON (1976) concluíram que o incremento de flúor no esmalte de ratos que consumiram leite

fluoretado foi maior do que os que consumiram água fluoretada, assim como GEDALIA, DAKUAR, SHAPIRA et al. (1991), que afirmaram que o leite é um meio natural de recalificação, visto que, além de possuir rico conteúdo mineral, apresenta componentes orgânicos, como proteínas e lipídios, ausentes na composição da água. Esses nutrientes funcionariam, entre outras coisas, como barreiras mecânicas à adesão da placa bacteriana no esmalte dentário.

O conteúdo de flúor na superfície do esmalte, segundo estudo de GINTNER, TÓTH, BÁNÓCZY et al. (1997), é diretamente proporcional à concentração do mineral no leite, ao passo que a remineralização de lesões de mancha branca é maior quanto menor for sua concentração (AL.-KHATEEB, TROLLSAS, GINTNER et al., 1998). Esta discordância de opiniões pode acontecer em função do maior tempo de exposição ao leite fluoretado utilizado no segundo estudo, uma vez que o mecanismo de ação efetiva do flúor se dá quando sua presença é constante e em baixas concentrações, na cavidade bucal (CURY, 1992).

Vários estudos (MOR & RODDA, 1983; RUGG-GUNN, ROBERTS, WRIGHT, 1985; GEDALIA, DAKUAR, SHAPIRA et al., 1991; BOTEVA, RUGG-GUNN, HIGHAM, 1996; TÓTH, GINTNER, BÁNÓCZY et al., 1997; GINTNER, TÓTH, BÁNÓCZY, 1997; AL.-KHATEEB, TROLLSAS, GINTNER et al., 1998; KAHAMA, DAMEN, TEN CATE, 1998) enfatizaram a eficácia do leite fluoretado como solução remineralizante de estruturas dentárias, pré-desmineralizadas ou não.

Além de aumentar a resistência do esmalte dentário à desmineralização pela formação de precipitados cristalinos (TEN CATE & DUIJSTERS, 1983), o leite fluoretado assume papel importante na redução da porosidade presente no corpo das lesões cariosas, tanto pelo

seu preenchimento através da ação da caseína, como pela incorporação de cálcio e fósforo, resultando na alteração do volume dos poros e até mesmo da sua dimensão. Este fenômeno, classificado como aumento da birefringência negativa, foi enfatizado por McDOUGALL (1977), MOR & RODDA (1983), através da utilização de lesões de cárie artificialmente produzidas. Torna-se claro, portanto, que o leite, mais do que sua composição mineral, contribui para a prevenção da cárie dentária através dos seus componentes orgânicos, inclusive os lipídios, protetores comprovados dos cristais de apatita contra a desmineralização (FEATHERSTONE & ROSENBERG, 1984).

Enquanto há muitas notícias sobre os efeitos positivos à saúde causados pelo leite fluoretado, há pouca experiência científica no meio para suportar estas reivindicações, o que torna estas discussões relevantes do ponto de vista prático e evidenciam a importância de estudos e pesquisas continuados em nosso meio.

## **7 CONCLUSÃO**

- 7.1 O leite bovino apresenta pH endógeno igual a 6.8, bem acima do pH crítico de 5.5.
- 7.2 O teor de fluoreto encontrado no leite bovino puro foi 0.51 ppm, aumentando para 650 ppm após a adição de fluoreto de potássio a 2mg/ml.
- 7.3 Após o período de 24h, o leite puro (L) apresentou características típicas do processo fermentativo, ao contrário do leite adicionado de fluoreto de potássio (LF), que manteve suas características iniciais. Há indícios, portanto, de que a alta concentração de fluoreto presente no leite LF possa ter agido na inibição da atividade fermentativa bacteriana, mostrando que o flúor foi um potente agente bacteriostático nessas condições.
- 7.4 Houve uma absorção significativa de fluoreto ( $\text{CaF}_2$ ) pelas amostras de esmalte decíduo incubadas no leite LF contendo 650 ppmF<sup>-</sup>, representando uma porcentagem média de 94,2%.
- 7.5 Embora seja objeto de inúmeros estudos, o flúor, quando consumido através do leite, ainda é um assunto pouco explorado pelo meio científico em relação a outros veículos. Daí a necessidade da realização de mais pesquisas sobre o tema, já que diz respeito a uma medida preventiva precoce.

## 8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AL-KHATEEB, S., TROLLSAS, K., GINTNER, Z. et al. Remineralization of white spot lesions with fluoridated milk *in vitro*: a microradiographic study. **Caries Res.**, Basel, v.32, n.4, p.284, July/Aug. 1998.

ANNÁN, E. S. G. de, NADAL, M. M. T. de, VALLADARES, R. E. R. de et al. Efecto de leche sobre los estreptococos orales de la placa bacteriana em niños. **Rev. Assoc. Odontol. Argent.**, Buenos Aires, v.79, n.4, p.221-224, oct./dic. 1991.

ARAUJO, F. B. de, CURY, J. A., CARBONEL, V. C. et al. Estudo *in situ* da cariogenicidade do leite bovino: aspectos clínicos. **Rev. ABO Nac.**, Rio de Janeiro, v.6, n.2, p. 103-106, abr./maio, 1998.

BÁNÓCZY, J., BRAMBILLA, T. W., CUTRESS, T. W. et al. Bioavailability of fluoride from milk. In: BÁNÓCZY, J., STEPHEN, K. W., PAKHOMOV, G.N. **Milk fluoridation for the prevention of dental caries**. Geneva: WHO Graphics, 1996. 105p. p. 27-45.

BÁNÓCZY, J., STEPHEN, K. W., PAKHOMOV, G.N. Clinical studies. In: \_\_\_\_\_. **Milk fluoridation for the prevention of dental caries**. Geneva: WHO Graphics, 1996. 105p. p. 46-71.

BENBOUZID, D., RAMANATHAN, J. Nutritional value of milk. In: BÁNÓCZY, J., STEPHEN, K. W., PAKHOMOV, G.N. **Milk fluoridation for the prevention of dental caries**. Geneva: WHO Graphics, 1996. 105p. p. 1-9.

- BEZERRA, A. C. B., TOLEDO, O. A. de. Nutrição, dieta e cárie. In: KRIGER, L. (Coordenador) **Promoção de saúde bucal** - ABOPREV. São Paulo: Artes Médicas, 1997. 457p. p. 50-56.
- BIBBY, B. G., HUANG, C. T., ZERO, D. et al. Protective effect of milk against *in vitro* caries. **J. Dent. Res.**, Washington, v.59, n.10, p. 1565-1570, Oct. 1980.
- BIBBY, B. G., MUDORFF, S. A., HUANG, C. T. Enamel demineralization tests with some standard foods and candies. **J. Dent. Res.**, Washington, v.62, n.8, p.885-888, Aug. 1983.
- BIRKHED, D., IMFELD, T., EDWARDSSON, S. pH changes in human dental plaque from lactose and milk before and after adaptation. **Caries Res.**, Basel, v.27, p.43-50, 1993.
- BOTEVA, E. S., RUGG-GUNN, A. J., HIGHAM, S. M. Remineralization of white-spot carious lesions with fluoridated milk. **Caries Res.**, Basel, v.30, n.4, p.307, July/Aug. 1996.
- BOWEN, W. H., PEARSON, S. K., ROSALEN, P. L. et. al. Assessing the cariogenic potential of some infant formulas, milk and sugar solutions. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.128, p.865-871, July, 1997.
- CAULFIELD, P. W., NAVIA, J. M. Agentes mibrobianos na profilaxia das cáries. In: MENAKER, L., MORHART, R. E., NAVIA, J. M. **Cáries dentárias**: bases biológicas. Rio de janeiro: Guanabara Koogan, 1984. 461 p. Cap. 18, p. 340-367.

- COUTINHO, T. C. L., GONÇALVES, M. Amamentação no peito e cárie dentária: revisão da literatura e relato de caso clínico. **RBO**, Rio de Janeiro, v.50, n.6, p.51-56, nov./dez. 1993.
- CRUZ, R. de A. Considerações clínicas e laboratoriais sobre a reatividade de compostos fluoretados aplicados topicamente no esmalte dental humano. In: KRIGER, L. (Coordenador). **Promoção de Saúde Bucal** - ABOPREV. 2.ed. São Paulo: Artes Médicas, 1999. 475p., Cap. 9, p. 169-194.
- CURY, J. A. Uso do flúor. In: BARATIERI, L. N., ANDRADA, M. A. C. de, MONTEIRO JR., S. et al. **Dentística**: procedimentos preventivos e restauradores. 2. ed. São Paulo: Santos, 1992. 509p. Cap.2. p. 43-67.
- DEGANO, M. P., DEGANO, R. A. Breastfeeding and oral health: a primer for the dental practitioner. **N. Y. State Dent. J.**, New York, v.59, n.2, p.30-32, Feb. 1993.
- DEVER, J. G., THOMSON, M. E., HAMPTON, M. Fruit juice and flavoured milk: effects on enamel in an intra-oral model. **New Zealand Dent. J.**, Dunedin, v.83, n.371, p.7-10, Jan. 1987.
- DUARTE, J. M., COELHO, L. da G. C., LESSA, W. D. D. A. Avaliação *in vitro* da eficácia do flúor adicionado em refrigerantes na prevenção da desmineralização do esmalte do dente. **Rev. ABO Nac.**, São Paulo, v.7, n.5, p.307-313, out./nov. 1999.
- DUFF, E. J. Total and ionic fluoride in milk. **Caries Res.**, Basel, v.15, n.5, p. 406-408, Sep./Oct. 1981.

- EDUARDO, M. A. de P., CORRÊA, M. S. N. P., BONEKER, M. J. Aleitamento artificial. In: CORRÊA, M. S. N. P. **Odontopediatria na primeira infância**. São Paulo: Santos, 1998. 679p. p.65-69.
- EKSTRAND, J., SPAK, C. J., FALCH, J. et. al. Distribution of fluoride to human breast milk following intake of high doses of fluoride. **Caries Res.**, Basel, v.18, n.1, p.93-95, Jan./Feb.1984.
- FEATHERSTONE, J. D. B., ROSENBERG, H. Lipid effect on the progress of artificial carious lesions in dental enamel. **Caries Res.**, Basel, v. 18, n.1, p.52-55, Jan./Feb. 1984.
- FRANT, M. S., ROSS JR., W.R. Use of a total ionic's straight adjustment buffer for eletrods determination of fluoride. **Milest. Analytical Chem.**, Washington, v.40, p.1169 a 1171, 1968.
- GEDALIA, I., DAKUAR, A., SHAPIRA, L. et al. Enamel softening with Coca-Cola and rehardening with milk or saliva. **Am. J. Dent.**, San Antonio, v.4, n.3, p.120-122, June, 1991.
- GINTNER, Z., TÓTH, Zs., BÁNÓCZY, J. et. al. Effect of fluoridated milk on the acid solubility of dental enamel. **Caries Res.**, Basel, v.31, n.4, p.302, July/Aug. 1997.
- HEINTZE, S. D., BASTOS, J. R. de M. Avaliação do teor de flúor e pH em bebidas no mercado nacional. **Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.**, São Paulo, v.50, n.4, p. 339-345, jul./ago. 1996.
- JENKINS, G. N., FERGUSON, D. B. Milk and dental caries. **Br. Dent. J.**, London, v.120, n. 10, p. 472-477, May, 1966.

- KAHAMA, R. W., DAMEN, J. J. M., TEN CATE, J. M. The effect of intrinsic fluoride in cows' milk on *in vitro* enamel demineralization. **Caries Res.**, Basel, v.32, n.3, p. 200-203, May/June, 1998.
- KOLESNIK, A. G., PHILLIPS, P. C., VILLA, A. E. Physico-chemical studies in milk fluoridation. In: BÁNÓCZY, J., STEPHEN, K. W., PAKHOMOV, G.N. **Milk fluoridation for the prevention of dental caries**. Geneva: WHO Graphics, 1996. 105p. Cap.2, p. 10-26.
- KÜNZEL, W. Systemic use of fluoride - other methods: salt, sugar, milk, etc. **Caries Res.**, Basel, v.27, suppl. 1, p. 16-22, Nov./Dec. 1993.
- LARSEN, M. J., BRUNN, C. A química da cárie dentária e o flúor: mecanismos de ação. In: THYLSTRUP, A., FEJERSKOV, O. **Cariologia clínica**. São Paulo: Santos, 1995. p. 231-254.
- LEBER, P. M., CORRÊA, M. S. N. P. Dieta. In: CORRÊA, M. S. N. P. **Odontopediatria na primeira infância**. 1. ed. São Paulo: Santos, 1998. 679p. p. 279-289.
- LIGHT, A. E., BIBBY, B. G., SMITH, F. A. et. al. Fluoride content of teeth from children who drank fluoridated milk. **J. Dent. Res.**, Washington, v.47, n.4, p.668, July/Aug. 1968.
- MACHADO, I. et al. Considerações gerais sobre prevenção de cárie na primeira infância. **Rev. Odontoped.**, São Paulo, v.3, n.1, p.2-8, jan./mar. 1994.

- MARTINS, A. L. C. F., FERNANDES, F. R. C., CORRÊA, M. S. N. P., GUERRERA, A. C. A cárie dentária. In: CORRÊA, M. S. N. P. **Odontopediatria na primeira infância**. São Paulo: Santos, 1998. 679p. p.195-208.
- McDOUGALL, W. A. Effect of milk on enamel demineralization and remineralization *in vitro*. **Caries Res.**, Basel, v.11, n.3, p.166-172, May/June, 1977.
- MOR, B. M., RODDA, J. C. *In vitro* remineralisation of artificial caries-like lesions with milk. **New Zealand Dent. J.**, Dunedin, v.79, n.355, Jan. 1983.
- NEWBRUN, E. Current regulations and recommendations concerning water fluoridation, fluoride supplements and topical fluoride agents. **J. Dent. Res.**, Washington, v.71, n.5, p. 1255-1265, May, 1992.
- PHILLIPS, P. C. Fluoride availability in fluoridated milk systems. **Caries Res.**, Basel, v.25, n.3, p.237, May/June, 1991.
- POULSEN, S., LARSEN, M. J., LARSON, R. H. Effect of fluoridated milk and water on enamel fluoride content and dental caries in the rat. **Caries Res.**, Basel, v.10, n.3, p.227-233, May/June, 1976.
- POWELL, D. Milk...is it related to rampant caries of the early primary dentition ? **J. Calif. Dent. Ass.**, Califórnia, v.4, n.1, p.58-63, Jan. 1976.
- REYNOLDS, E. C., JOHNSON, I. H. Effect of milk on caries incidence and bacterial composition of dental plaque in the rat. **Archs. Oral Biol.**, Oxford, v.26, p.445-451, 1981.

ROBERTS, G. J. Is breast feeding a possible cause of dental caries ? **J. Dent.**, London, v.10, n.4, p.346-352, Oct., 1982.

RUGG-GUNN, A. J., ROBERTS, G. J., WRIGHT, W. G. Effect of human milk on plaque pH *in situ* and enamel dissolution *in vitro* compared with bovine milk, lactose and sucrose. **Caries Res.**, Basel, v.19, n.4, p.327-334, July/Aug. 1985.

SÁ, M. R., PEREIRA, D. V., DUARTE, D. A. et al. A relação entre leite e cáries dentárias na Odontopediatria. **Rev. Odontoped.**, Rio de Janeiro, v.3, n.2, p.99-105, maio/jun. 1994.

SILVA, M. F. de A. Flúor sistêmico: aspectos básicos, toxicológicos e clínicos. In: KRIGER, L. (Coordenador). **Promoção de Saúde Bucal - ABOPREV**. 2.ed. São Paulo: Artes Médicas, 1999. 475p., Cap. 8, p. 143-165.

SPAK, C. J., EKSTRAND, J., ZYLBERSTEIN, D. Bioavailability of fluoride added to baby formula and milk. **Caries Res.**, Basel, v.16, n.3, p.249-256, May/June, 1982.

SPERRY, N. J. Should dental health professionals encourage the consumption of milk ? **Dent. Hyg.**, Chicago, v.57, n.1, p.23-27, Jan., 1983.

STORINO, S. P. Flúor: origem, importância e aplicação. In: **Cariologia: procedimentos preventivos**. Rio de Janeiro: Revinter, 1993. 133p. Cap. 3, p. 19-28.

- TEN CATE, J. M., DUIJSTERS, P. P. E. Influence of fluoride in solution on tooth demineralization. I. Chemical data. **Caries Res.**, Basel, v.17, n.3, p.193-199, May/June, 1983.
- THOMSON, M. E., THOMSON, C. W., CHANDLER, N. P. *In vitro* and intra-oral investigations into the cariogenic potential of human milk. **Caries Res.**, Basel, v.30, p.434-438, 1996.
- THYLSTRUP, A., FEJERSKOV, O. **Cariologia clínica**. São Paulo: Santos, 1995. 404p.
- TÓTH, Zs., GINTNER, Z., BÁNÓCZY, J. et. al. The effect of fluoridated milk on human dental enamel in an *in vitro* demineralization model. **Caries Res.**, Basel, v.31, n.3, p. 212-215, May/June, 1997.
- TÓTH, Zs., ZIMMERMANN, P., BÁNÓCZY, J. et al. Enamel biopsy studies after five years consumption of fluoridated milk. **Fluoride**, v.20, n.3, p. 171-176, Oct. 1987.
- VACCA-SMITH, A . M., BOWEN, W. H. The effect of milk kappa casein on streptococcal glucosyltransferase. **Caries Res.**, Basel, v.29, n.6, p. 498-506, Nov./Dic. 1995.
- VILLA, A., GUERRERO, S., CISTERNAS, P. et. al. La prevencion de caries atraves de un vehiculo nutricional. **Arch. Latinoam. Nutr.**, Venezuela, v.40, n.2, p. 197-208, jun., 1990.
- WALTER, L. R. de F., FERELLE, A., ISSAO, M. et. al. Cárie dentária. In: WALTER, L. R. de F. et al. **Odontologia para o bebê**. São Paulo: Artes Médicas, 1996. 246p. p.95-106.

WEISS, M. E., BIBBY, B. G. Effects of milk on enamel solubility. **Archs. Oral. Biol.**, Oxford, v.11, n.1, p.49-57, Nov. 1966.