UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE ODONTOLOGIA

MESTRADO EM ODONTOLOGIA- CLÍNICA ODONTOLÓGICA- CARIOLOGIA/DENTÍSTICA

GIOVANNA DAMIANI

AVALIAÇÃO DE CREMES DENTAIS COMERCIAIS COM OXIGÊNIO ATIVO, HIDROXIAPATITA E FLÚOR NA FORMAÇÃO DE LESÕES DE CÁRIE- ESTUDO *IN VITRO*

PORTO ALEGRE

2026

GIOVANNA DAMIANI

AVALIAÇÃO DE CREMES DENTAIS COMERCIAIS COM OXIGÊNIO ATIVO, HIDROXIAPATITA E FLÚOR NA FORMAÇÃO DE LESÕES DE CÁRIE- ESTUDO *IN VITRO*

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para obtenção do diploma de Mestre em Odontologia, área de concentração em Clínica Odontológica, ênfase em Cariologia/ Dentística.

Orientadoras: Profª. Drª Marisa Maltz,

Co-orientadoras: Profª. Drª Sandra Liana Henz

Profª. Drª Tamires Timm Maske

PORTO ALEGRE

2026

CIP - Catalogação na Publicação

Damiani, Giovanna
AVALIAÇÃO DE CREMES DENTAIS COMERCIAIS COM OXIGÊNIO ATIVO, HIDROXIAPATITA E FLÚOR NA FORMAÇÃO DE LESÕES DE CÁRIE- ESTUDO IN VITRO / Giovanna Damiani. -- 2026.
42 f.
Orientadora: Marisa Maltz.

Coorientadoras: Sandra Liana Henz, Tamires Timm Maske.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Porto Alegre, BR-RS, 2026.

1. Flúor. 2. Creme Dental. 3. Cárie Dentária. I. Maltz, Marisa, orient. II. Henz, Sandra Liana, coorient. III. Timm Maske, Tamires, coorient. IV. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

GIOVANNA DAMIANI

AVALIAÇÃO DE CREMES DENTAIS COMERCIAIS COM OXIGÊNIO ATIVO, HIDROXIAPATITA E FLÚOR NA FORMAÇÃO DE LESÕES DE CÁRIE- ESTUDO *IN VITRO*

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para obtenção do diploma de Mestre em Odontologia, área de concentração em Clínica Odontológica, ênfase em Cariologia/ Dentística.

Orientadoras: Profª. Drª Marisa Maltz,

Co-orientadoras: Profª. Drª Sandra Liana Henz

Profª. Drª Tamires Timm Maske

Profa. Dra. Clarissa Cavalcanti Fatturi Parolo

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Profa. Dr. Vicente Leitune

Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Prof. Dr. Gustavo Eidt

Responsabilidade social (PROADI-SUS)

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, **Edson e Ives**, por sempre acreditarem em mim, me incentivarem a seguir meus sonhos e nunca desistir, mesmo nos momentos difíceis. Obrigada por tudo que sempre fizeram, pelos esforços e renúncias para que eu tivesse a oportunidade de estar onde estou hoje, sem vocês, nada disso seria possível.

Às minhas co-orientadoras, **Profª Drª Sandra Liana Henz e Profª Drª Tamires Timm Maske**, pela paciência, dedicação e presença constante ao longo de todo o processo. Obrigada por me darem suporte nas dificuldades, por cada orientação, e pelo tempo que investiram em me orientar. Agradeço também à minha orientadora, **Profª Drª Marisa Maltz,** pela contribuição e olhar criterioso que trouxe a esse trabalho, suas observações ajudaram a refinar e melhorar essa pesquisa. E também a **Profª Drª Lina Hashizume**, pela disponibilidade, suporte, paciência e cuidado ao me ensinar e me ajudar com as análises bioquímicas usadas nesse trabalho.

À minha colega **Glenda Marques,** você foi uma peça fundamental para esse trabalho. Obrigada pela paciência, suporte, conversas e por toda a ajuda e orientação que me deste durante todo o processo.

Ao meu namorado **Luan**, pelo suporte de estar ao meu lado, sempre, e em todas as dificuldades.

Ao programa de **Pós Graduação em Odontologia** e a U**niversidade Federal do Rio Grande do Sul**.

RESUMO

DAMIANI, G. Avaliação de cremes dentais comerciais com oxigênio ativo, hidroxiapatita e flúor na formação de lesões de cárie - estudo in vitro. Faculdade de Odontologia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2025.

Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito anticariogênico e antimicrobiano de cremes dentais contendo oxigênio ativo (OA), hidroxiapatita (HA), e hidroxiapatita com flúor (HaF) em comparação a um creme dental fluoretado convencional. Foram utilizadas 36 amostras de esmalte bovino, divididas em quatro grupos experimentais: creme dental convencional com flúor (NaF; 1450 ppmF), creme dental com hidroxiapatita com flúor (HaF; 950 ppmF), creme dental com hidroxiapatita sem flúor (HA) e creme dental contendo oxigênio ativo sem flúor (OA). Biofilmes de microcosmos foram cultivados a partir de saliva humana, sobre discos de esmalte bovino por quatro dias em um modelo de biofilme dinâmico, com fluxo contínuo de saliva artificial e desafio cariogênico intermitente de 5% sacarose. Foram analisadas a perda de microdureza superficial do esmalte (DF-DI e %PDS), a composição microbiológica (contagem de unidades formadoras de colônia de microrganismos totais -MT, estreptococos do grupo mutans - EGM e acidúricos totais- AT) e a composição bioquímica do biofilme formado (concentrações de íons flúor, cálcio e fósforo). Os resultados mostraram que os dentifrícios testados não diferiram entre eles quanto a %PDS ($p > 0,05$) Na análise microbiológica, o grupo HA apresentou contagem de MT maior que OA e NaF ($p < 0,05$), sem diferenças para EGM e AT ($p > 0,05$). As análises iônicas mostraram concentrações significativamente mais elevadas de flúor nos grupos que continham esse íon em sua formulação (NaF e HaF; $p < 0,001$), enquanto cálcio e fósforo não diferiram entre os grupos ($p > 0,05$). Conclui-se que os cremes dentais contendo o oxigênio ativo (OA), hidroxiapatita (HA), hidroxiapatita associada ao flúor (HaF) e o convencional com flúor (NaF) apresentaram comportamentos semelhante quanto ao efeito anticariogênico.

Palavras- chaves: Flúor, Creme Dental, Cárie Dentária.

ABSTRACT

DAMIANI, G. Evaluation of commercial toothpastes containing active oxygen, hydroxyapatite, and fluoride on caries lesion formation - *in vitro* study. Faculdade de Odontologia. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre, 2025.

This study aimed to evaluate the anticariogenic and antimicrobial effects of toothpastes containing active oxygen (OA), hydroxyapatite (HA), and hydroxyapatite with fluorine (HaF), in comparison with a conventional fluoride toothpaste. Thirty-six bovine enamel samples were divided into four experimental groups: conventional fluoride toothpaste (NaF; 1450 ppm F), hydroxyapatite with fluorine toothpaste (HaF; 950 ppm F), hydroxyapatite toothpaste without fluoride (HA), and active oxygen toothpaste (OA). Microcosm biofilms were grown from human saliva for four days in a dynamic biofilm model with continuous artificial saliva flow and intermittent cariogenic challenge with 5% sucrose. Analyses included enamel surface microhardness loss (DF–DI and %PDS), microbiological composition (colony-forming unit counts of total microorganisms – TM, mutans group streptococci – MGS, and total acidurics – TA), and biochemical composition of the biofilm (fluoride, calcium, and phosphorus concentrations). The results showed that the tested dentifrices did not differ from each other regarding %PDS ($p > 0.05$). In the microbiological analysis, the HA group presented higher TM counts than OA and NaF ($p < 0.05$), with no differences for MGS and TA ($p > 0.05$). Ionic analyses showed significantly higher fluoride concentrations in the groups containing this ion in their formulation (NaF and HaF; $p < 0.001$), while calcium and phosphorus did not differ between the groups ($p > 0.05$). It can be concluded that toothpastes containing active oxygen (AO), hydroxyapatite (HA), hydroxyapatite combined with fluoride (HaF), and conventional fluoride (NaF) showed similar behavior regarding their anticariogenic effect.

Keywords: Fluoride, Toothpaste, Dental Caries.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL…..……..……...9

2 PROPOSIÇÃO……..……..13

3 HIPÓTESE……..……14

4 ARTIGO……..……..……...15

RELEVÂNCIA CLÍNICA……..…….33

CONFLITO DE INTERESSES……...33

REFERÊNCIAS……34

ANEXO 1……...41

1 INTRODUÇÃO GERAL

A cárie dentária é uma doença crônica, multifatorial e dependente da interação entre biofilme bacteriano e açúcares, sendo uma das condições de saúde que mais afetam a humanidade (SARMADI et al., 2025). Apesar de avanços nas estratégias de prevenção e tratamento, a cárie continua a ser uma das doenças mais prevalentes no mundo, atingindo aproximadamente 2,3 bilhões de adultos globalmente, o que resulta em elevados custos para os sistemas de saúde pública (JAMES et al., 2018). Embora a incidência de cáries tenha mostrado uma tendência de redução ao longo dos anos em muitas regiões, no Brasil, ainda é alarmante a prevalência da doença. Estima-se que cerca de 38% da população brasileira sofra com cáries não tratadas, evidenciando a necessidade de estratégias mais eficazes para o controle e prevenção dessa condição (CRESCENTE; GEHRKE; SANTOS, 2022). Isso demonstra não apenas a relevância da cárie dentária como problema de saúde pública, mas também a complexidade de fatores envolvidos, como hábitos alimentares e de higiene bucal.

O flúor tem desempenhado um papel crucial no manejo da doença cárie, sendo amplamente utilizado para o controle e tratamento dos seus primeiros sinais clínicos, com eficácia na redução da desmineralização do esmalte saudável e na estimulação da remineralização do esmalte dentário já afetado pela cárie (ULLAH & ZAFAR, 2015). O uso regular de pastas de dente com flúor tem demonstrado redução significativa na incidência de cáries em crianças, adolescentes e adultos, sendo considerado um método acessível e eficaz de prevenção (JULLIEN, 2021; ULLAH & ZAFAR, 2015; MARINHO et al., 2003a). Além disso, a aplicação tópica de flúor por meio dos dentifrícios atua na remineralização do esmalte dental, fortalecendo a superfície dental e tornando-a mais resistente à desmineralização. Revisões sistemáticas também mostram que a utilização contínua de cremes dentais fluoretados está associada a uma redução consistente de cáries em diversas faixas etárias, evidenciando sua importância como ferramenta preventiva essencial na saúde bucal (JULLIEN, 2021; MARINHO et al., 2003a).

Estudos científicos reforçam a eficácia dos dentifrícios fluoretados na prevenção da cárie dentária, especialmente em populações com risco elevado. O efeito anticárie do flúor se dá, principalmente, por sua ação mineral no esmalte dentário, ao se incorporar à estrutura da hidroxiapatita, o flúor substitui o grupo hidroxila (OH^-), formando fluorapatita e fluorhidroxiapatita, minerais estruturalmente mais estáveis e com menor solubilidade em meio ácido. Essa modificação torna o esmalte menos vulnerável ao processo de desmineralização

provocado pelos ácidos resultantes da fermentação bacteriana, aumentando de forma significativa sua resistência. Além disso, o flúor desempenha um papel essencial na remineralização de lesões iniciais, favorecendo a reincorporação de íons cálcio e fosfato o que fortalece novamente a estrutura do esmalte e auxilia na reversão do processo inicial da cárie (CLARK et al., 2020; ULLAH & ZAFAR, 2015).

O flúor é uma das estratégias mais eficazes na prevenção das lesões de cárie dentária. Quando utilizado em quantidade e concentração adequadas, ele torna-se benéfico para a prevenção das lesões de cárie e também como parte importante para o controle da doença cárie já estabelecida (JULLIEN, 2021). No entanto, a exposição excessiva aos fluoretos durante a formação dos dentes, especialmente em crianças pequenas, pode resultar em fluorose dentária, um distúrbio no desenvolvimento do esmalte dentário, caracterizado por alterações na mineralização e na maturação desse esmalte (JULLIEN, 2021). A fluorose ocorre em função da ingestão crônica de flúor acima dos níveis considerados seguros, sendo sua gravidade dependente da dose, da duração da exposição e do momento em que essa ingestão acontece durante a odontogênese (HUNG et al., 2023). O risco é particularmente elevado em crianças com menos de 8 anos de idade, fase em que os dentes permanentes estão em formação e o reflexo de cuspir ainda pode não estar completamente desenvolvido, favorecendo a ingestão de dentifrícios fluoretados (JULLIEN, 2021). Portanto, é essencial equilibrar os benefícios do flúor na prevenção da cárie com sua administração adequada, especialmente em crianças pequenas (JULLIEN, 2021).

Em alternativa ao uso de fluoretos, outras substâncias têm sido estudadas e demonstrado eficácia no controle de lesões de cáries, como a hidroxiapatita, um composto frequentemente adicionado aos cremes dentais com o objetivo de promover a remineralização dentária (CLARK et al., 2020). A hidroxiapatita é um mineral natural, do grupo das apatitas, encontrado abundantemente no esmalte dentário, composto por íons de cálcio e fosfato. Sob condições normais, existe um equilíbrio dinâmico entre a hidroxiapatita presente na estrutura dentária e nos fluidos da cavidade oral (KOENIGS, 2020), mas quando ocorre um desequilíbrio, a desmineralização é desencadeada e há uma perda de íons de cálcio e fosfato da estrutura dentária (O'HAGAN-WONG et al., 2021). Um fator importante para a remineralização é a disponibilidade desses íons, que são componentes principais dos cremes dentais que utilizam hidroxiapatita, demonstrando sua eficácia como um agente anticárie seguro e eficiente na higiene bucal (LIMEBACK; ENAX; MEYER, 2021). Além disso, tem sido observado que a interação das nanopartículas de hidroxiapatita com a superfície do

esmalte pode aumentar a resistência ao desenvolvimento das lesões de cárie, formando uma camada protetora que dificulta a desmineralização do esmalte (SCHAFER et al., 2009).

Diferente dos fluoretos, a ingestão de hidroxiapatita não tem sido associada a nenhum risco sistêmico relevante até o momento (EPPLE et al., 2018), o que torna essa substância uma opção particularmente atraente para populações mais vulneráveis, como crianças pequenas, que podem não ter o reflexo de cuspir durante a escovação dentária. Estudos também evidenciam que, especialmente na forma de nanopartículas, a hidroxiapatita pode interagir de forma eficaz com a superfície dental, promovendo a remineralização e melhorando a resistência do esmalte, tornando-a uma alternativa promissora no combate à cárie dentária. Essa propriedade é amplificada pela biocompatibilidade e segurança das nanopartículas de hidroxiapatita, que têm sido bem aceitas em diversos estudos clínicos (HADIDI et al., 2022; EPPLE et al., 2018). Além disso, estudos recentes indicaram que a hidroxiapatita biomimética, especialmente na forma de nanopartículas, apresenta alta afinidade com a superfície do esmalte, devido à sua similaridade com a hidroxiapatita biológica. Essas partículas podem se depositar sobre a superfície dentária e em áreas de microdefeitos, formando uma camada mineral que atua como reservatório de cálcio e fosfato, favorecendo a remineralização e aumentando a resistência do esmalte frente a desafios ácidos (CHEN et al., 2021). Evidências sugerem que a hidroxiapatita pode influenciar a adesão bacteriana e a organização inicial do biofilme, contribuindo para um ambiente menos favorável para o desenvolvimento da cárie, no entanto, os mecanismos nos quais essa modulação ocorre ainda não estão completamente esclarecidos (CHEN et al., 2021, KENSCHE et al., 2017; HADIDI et al., 2022).

Outra substância que tem ganhado destaque como alternativa ao uso de fluoretos, é o oxigênio ativo. Um estudo *in vitro* investigou a exposição de estreptococos do grupo mutans ao oxigênio ativo e constatou que ele exerce efeito inibidor sobre a formação de biofilme, além de alterar a biogênese da superfície celular desses microrganismos, impactando profundamente a composição dos biofilmes orais (AHN et al., 2007). Também foi observado que o uso de pastas dentais contendo oxigênio ativo promovem a redução significativa do biofilme supragengival e a melhora dos índices de gengivite (CUNHA et al., 2019). Recentemente, um novo creme dental contendo oxigênio ativo, lactoferrina e xilitol foi lançado no mercado brasileiro pela marca holandesa bluem®, sendo o primeiro no país a utilizar o oxigênio ativo em sua formulação.

O xilitol tem sido amplamente estudado por seus benefícios na prevenção de cáries dentárias, sendo observado que ele não é metabolizado pelas bactérias do biofilme oral, como o estreptococos do grupo mutans. Isso ocorre porque as bactérias não conseguem utilizar o xilitol como substrato, o que interfere em seus processos metabólicos, promovendo um ciclo de energia ineficiente e resultando em morte celular (NAYAK et al., 2014; AHMED et al., 2017, TRAHAN, et al. 1991). Além disso, o xilitol estimula o aumento do fluxo salivar, o que é benéfico para a manutenção do pH bucal adequado, essencial para prevenir a desmineralização do esmalte dental (SALLI et al., 2017). Também tem mostrado reduzir os níveis de estreptococos do grupo mutans, diminuindo o potencial acidogênico e a adesão desses microrganismos às superfícies dentárias (AHMED et al., 2017). Utilizado regularmente em produtos de higiene oral pode levar à redução significativa na incidência de cáries, promovendo uma proteção contínua contra o desenvolvimento de biofilmes dentários (NAYAK et al., 2014).

A lactoferrina, uma glicoproteína multifuncional, também desempenha um papel crucial na saúde bucal. Além de suas funções de ligação e transferência de ferro, a lactoferrina possui propriedades antibacterianas, antivirais, antifúngicas e anti-inflamatórias que contribuem para a manutenção da saúde oral (WANG et al., 2017). Sua ação antimicrobiana é mediada por seu efeito no sequestro de ferro, que é essencial para o crescimento de muitos patógenos orais, como estreptococos do grupo mutans e *Porphyromonas gingivalis*, dois microrganismos associados às doenças cárie e periodontal. Ao reduzir a disponibilidade de ferro, a lactoferrina inibe o crescimento desses microrganismos e modula a resposta imunológica local, promovendo uma defesa adicional contra infecções orais (JENSSEN et al., 2009). Além disso, foi observado que ela pode auxiliar na redução da inflamação gengival e na prevenção de doenças periodontais, sendo uma excelente alternativa para o controle de infecções bucais em indivíduos mais predispostos a doenças dentárias (KRUPINSKA et al., 2021). Com isso, diversos produtos têm sido desenvolvidos para mimetizar os efeitos benéficos da lactoferrina na cavidade bucal, especialmente com sua inclusão em formulações de cremes dentais.

Os cremes dentais comerciais são formulações complexas que combinam diferentes tipos de ingredientes, como abrasivos, tensoativos, polióis, agentes oxidantes e compostos bioativos, que podem atuar de maneira complementar na modulação do biofilme e na dinâmica de desmineralização e remineralização do esmalte. Abrasivos como sílica e carbonato de cálcio influenciam a interação mecânica com a superfície do esmalte e a

disponibilidade de íons na interface entre esmalte e biofilme bacteriano (TSCHOPPE et al., 2011; GROHE et al., 2021). Além do xilitol, outros polióis amplamente utilizados em cremes dentais comerciais, como sorbitol e manitol, exercem papel importante na formulação, atuando principalmente como umectantes e adoçantes de baixa cariogenicidade. Esses compostos apresentam limitada fermentação por bactérias do biofilme, resultando em menor produção ácida quando comparados a açúcares fermentáveis tradicionais (CURY et al., 2000; WONG & SISSONS, 2001). Por sua vez, componentes bioativos, incluindo agentes oxidantes e proteínas antimicrobianas, têm sido associados à modulação da viabilidade e da virulência bacteriana, podendo interferir no desenvolvimento do biofilme cariogênico (AHN et al., 2007; JENSSEN et al., 2009; CUNHA et al., 2019).

Apesar destas interessantes descobertas, poucas evidências estão disponíveis na literatura sobre o efeito antibacteriano e anti-cárie destes novos cremes dentais. Assim, este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos anticariogênico e antimicrobiano de diferentes cremes dentais comerciais contendo substâncias alternativas ao flúor no desenvolvimento de lesões de cáries.

2 PROPOSIÇÃO

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito anticariogênico e antimicrobiano de cremes dentais comerciais contendo oxigênio ativo, hidroxiapatita, e hidroxiapatita com flúor em comparação a um creme dental fluoretado convencional (1450 ppm NaF) em um modelo dinâmico de biofilme de microcosmos.

2. 2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito do creme dental comercial contendo oxigênio ativo no desenvolvimento de lesões de cárie, na composição microbiana e bioquímica do biofilme dental.
- Avaliar o efeito do creme dental comercial contendo hidroxiapatita sem flúor no desenvolvimento de lesões de cárie e na composição microbiana e bioquímica do biofilme dental.

- Avaliar o efeito do creme dental comercial contendo hidroxiapatita em associação ao íon flúor no desenvolvimento de lesões de cárie e na composição microbiana e bioquímica do biofilme dental.

3 HIPÓTESE NULA

Não haverá diferença no efeito anticariogênico e antimicrobiano dos cremes dentais comerciais contendo oxigênio ativo e hidroxiapatita com flúor ou não em comparação ao creme dental convencional contendo fluoreto de sódio (1450 ppm NaF).

4 ARTIGO

Titulo: **AVALIAÇÃO IN VITRO DO POTENCIAL PREVENTIVO DE CREMES DENTAIS COMERCIAIS COM OXIGÊNIO ATIVO E HIDROXIAPATITA FRENTE AO CONVENCIONAL COM FLÚOR**

Damiani, G.[1], Henz, S.L*.[1] , Maltz, M.[1], Marques, G.[1] Hashizume, L. N[1]. Maske, T.T[1].

[1]Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil.

*Autor Correspondente:
Sandra Liana Henz
sandralianahenz@gmail.com
Rua Ramiro Barcelos, 2492
Bom Fim, 90035-003
Porto Alegre - RS Brasil

RESUMO

Este estudo *in vitro* avaliou os efeitos anticariogênicos e antimicrobianos de cremes dentais comerciais contendo oxigênio ativo, hidroxiapatita, e hidroxiapatita com flúor em comparação a um creme dental fluoretado convencional (1450 ppm NaF). Foram utilizadas 36 amostras de esmalte bovino, divididas em quatro grupos experimentais: creme dental convencional com flúor (NaF; 1450 ppmF), creme dental com hidroxiapatita e flúor (HaF; 950 ppmF), creme dental com hidroxiapatita sem flúor (HA) e creme dental contendo oxigênio ativo (OA). Biofilmes de microcosmos foram cultivados a partir de saliva humana por quatro dias em um modelo de biofilme dinâmico, com fluxo contínuo de saliva artificial (DMM) e desafio cariogênico intermitente de 5% sacarose. Foram analisadas a perda de microdureza superficial do esmalte (dureza inicial-DI, dureza final-DF e porcentagem de perda de dureza- %PDS), e a composição microbiológica (contagem de unidades formadoras de colônia de microorganismos totais-MT, estreptococos do grupo mutans-EGM e acidúricos totais-AT) e bioquímica do biofilme formado (concentrações de íons flúor [F], cálcio [Ca] e fósforo [Pi]). Os resultados mostraram que os dentifrícios testados não diferiram entre si quanto à %PDS ($p > 0,05$). Na análise microbiológica, o grupo HA exibiu maior contagem de MT que OA e NaF ($p < 0,05$), sem diferenças para EGM e AT. As análises iônicas mostraram [F] mais elevadas nos grupos com esse íon em sua composição ($p < 0,001$), enquanto [Ca] e [Pi] não diferiram entre os grupos ($p > 0,05$). Conclui-se que produtos com hidroxiapatita ou oxigênio ativo apresentam efeitos anticariogênicos semelhantes, não são superiores ao dentifrício convencional fluoretado (NaF).

Palavras- chaves: Flúor, Creme Dental, Cárie Dentária.

INTRODUÇÃO

A cárie dentária é uma doença crônica, multifatorial e dependente da interação entre biofilme bacteriano e açúcares, sendo uma das condições de saúde mais antigas que afetam a humanidade. Apesar dos avanços nas estratégias de prevenção e tratamento, a cárie permanece altamente prevalente, atingindo aproximadamente 2,3 bilhões de adultos em todo o mundo e gerando elevados custos para os sistemas de saúde pública (JAMES et al., 2018).

A introdução do flúor nos dentifrícios é amplamente reconhecida como um dos fatores mais importantes para o declínio histórico da prevalência da cárie dentária. Seu mecanismo de ação envolve a promoção da remineralização do esmalte, a inibição do metabolismo bacteriano e a interferência na formação do biofilme, o que consolidou o dentifrício fluoretado como a principal estratégia preventiva de uso cotidiano da população (MARINHO et al., 2003b; CURY et al., 2014).

Entretanto, a exposição excessiva ao flúor durante a formação dos dentes pode resultar em fluorose dentária, cuja manifestação depende da dose, da duração e do período de ingestão (JULLIEN, 2021; HUNG et al., 2023). Substâncias alternativas vêm sendo testadas, como a hidroxiapatita, que apresenta capacidade de restaurar o equilíbrio de cálcio e fosfato no esmalte, favorecendo a remineralização e combatendo a desmineralização (CLARK et al., 2020; KOENIGS, 2020; O'HAGAN-WONG et al., 2021). Evidências indicam ainda que nanopartículas de hidroxiapatita podem interagir diretamente com a superfície do esmalte, formando uma camada mineral biomimética que aumenta a resistência à desmineralização e dificulta o desenvolvimento de lesões de cárie (SCHÄFER et al., 2009). Diferentemente dos fluoretos, a ingestão de hidroxiapatita não tem sido associada a riscos sistêmicos relevantes (EPPLE et al., 2018).

Outra substância que tem ganhado destaque como alternativa ou adjuvante ao uso de fluoretos é o oxigênio ativo. Estudos in vitro demonstram que sua exposição exerce efeito inibidor sobre a formação de biofilme e altera a biogênese da superfície celular de estreptococos cariogênicos, impactando a composição dos biofilmes orais (AHN et al., 2007). Formulações que associam oxigênio ativo, lactoferrina e xilitol têm sido desenvolvidas com o objetivo de potencializar a saúde bucal, considerando as propriedades antimicrobianas da lactoferrina e a capacidade do xilitol de reduzir a adesão bacteriana à hidroxiapatita (WANG et al., 2017; SALLI et al., 2017).

Os cremes dentais comerciais consistem em formulações complexas que combinam abrasivos, tensoativos, polióis e agentes bioativos, os quais podem atuar de forma complementar na modulação do biofilme e nos processos de desmineralização e remineralização do esmalte. Abrasivos como sílica e carbonato de cálcio influenciam a interação mecânica com o esmalte e a disponibilidade iônica na interface esmalte–biofilme (TSCHOPPE et al., 2011; GROHE et al., 2021). Polióis como sorbitol e manitol, além do xilitol, apresentam baixa cariogenicidade devido à limitada fermentação bacteriana, resultando em menor produção ácida (CURY et al., 2000; WONG & SISSONS, 2001). Além disso, agentes bioativos, incluindo compostos oxidantes e proteínas antimicrobianas, podem interferir na viabilidade e na virulência bacteriana, contribuindo para a modulação do biofilme cariogênico (AHN et al., 2007; JENSSEN et al., 2009; CUNHA et al., 2019).

Apesar destas interessantes descobertas, poucas evidências estão disponíveis na literatura sobre o efeito antibacteriano e anti-cárie destes novos cremes dentais. Diante disso, este estudo avaliou e comparou os efeitos anticariogênicos e antimicrobianos de três formulações de cremes dentais comerciais, contendo oxigênio ativo, hidroxiapatita sem flúor e hidroxiapatita com flúor em relação a um creme dental convencional com flúor, utilizando um modelo dinâmico de biofilme de microcosmos. As hipóteses testadas foram de que não haveria diferença significativa entre os produtos alternativos e o creme dental convencional quanto aos efeitos anticariogênicos (%PDS e microrganismos cariogênicos).

METODOLOGIA

DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Este foi um estudo *in vitro* em que cremes dentais comerciais alternativos aos dentifrícios fluoretados foram avaliados em relação ao seu efeito anticariogênico e antimicrobiano. Foram avaliados 4 grupos experimentais (n=9):

- creme dental à base de oxigênio ativo (OA);
- creme dental com hidroxiapatita (HA);
- creme dental com hidroxiapatita com 950 ppmF (HaF);
- creme dental convencional com 1450 ppmF (NaF).

Para isso utilizou-se um modelo de biofilme de microcosmos dinâmico. A saliva de um doador livre de cárie foi usada como inóculo e biofilmes foram crescidos por 4 dias em esmalte. Utilizou-se um regime intermitente de 5% sacarose (0,25 ml/ min, 6 minutos, aplicados 3x por dia, com intervalos de 2h) e contínuo de saliva artificial (0,06 ml/min). Os tratamentos foram aplicados na forma de pasta (1:3, p/v), 2x ao dia, a cada 12h (Figura 1). A variável de desfecho primária foi porcentagem de perda de dureza superficial (%PDS) e os desfechos secundários foram a contagem de unidades formadoras de colônia (UFC/mg biofilme) de microrganismos totais e de microrganismos cariogênicos (estreptococos do grupo mutans e acidúricos totais) e a análise bioquímica do biofilme, com a dosagem de íons flúor, fósforo e cálcio.

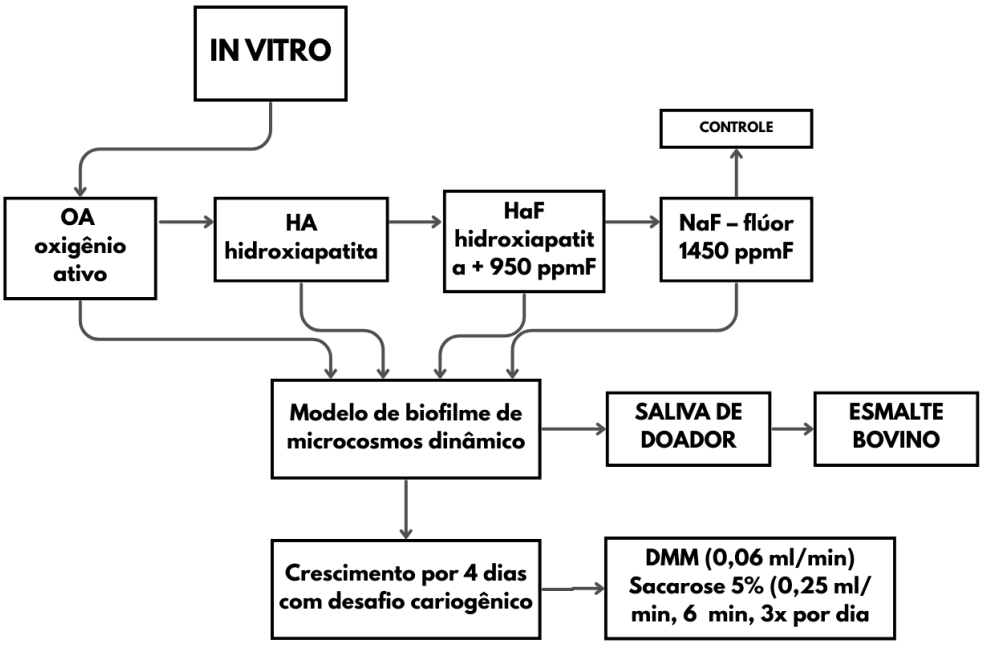


Figura 1- Desenho experimental

ASPECTOS ÉTICOS

A aprovação ética foi concedida pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos local (Universidade Federal do Rio Grande do Sul – CEP UFRGS) sob protocolo número CAAE 69918823.6.0000.5347. O presente estudo foi conduzido de acordo com os princípios éticos estabelecidos na Resolução nº 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde. O doador de saliva que participou do estudo, assinou o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

(TCLE), no qual foi devidamente informado sobre os objetivos, procedimentos, riscos e benefícios envolvidos na coleta da amostra.

CÁLCULO AMOSTRAL

O cálculo amostral (n) foi realizado no site Statulator (https://statulator.com/SampleSize/ss2M.html) considerando uma média de 45% de porcentagem de perda de dureza superficial (%PDS), baseado em estudos prévios (MASKE *et al.*, 2016), aos 4 dias de um modelo de biofilme de microcosmos contínuo com o mesmo protocolo que foi usado neste projeto e com um desvio padrão esperado de 33% (MASKE et al., 2018), 80% de poder e um nível de significância de 5%. Calculou-se a necessidade de 9 amostras por grupo de comparação, sendo no total 4 grupos, totalizando 36 amostras. As amostras foram aleatoriamente distribuídas nos grupos experimentais.

CONFECÇÃO DAS AMOSTRAS

As amostras foram obtidas de incisivos bovinos irrompidos e sem falhas. Para obtenção de discos de esmalte (6 mm de diâmetro e 2 mm de espessura), o terço médio vestibular de cada dente foi seccionado em furadeira industrial com broca de 8mm de núcleo de diamante (tipo trefina) em velocidade de 400 RPM. Subsequentemente, a superfície pulpar de cada disco foi planificada com lixas de granulação número 80 e 220, e a superfície vestibular foi planificada através de polimento com lixas de granulação crescente (600, 1200 e 2200) e disco de feltro, sob refrigeração de água em baixa velocidade (Politriz AROTEC, modelo APL-04). Após o processo de padronização das superfícies, a base e as laterais dos discos foram recobertos por uma camada de base para esmaltação de unhas, deixando apenas o esmalte dentário vestibular exposto. Por fim, as amostras foram esterilizadas com óxido de etileno (MIC Esteriliza, Porto Alegre, RS, Brasil) (MASKE et al., 2018; THOMAZ 2007).

DUREZA SUPERFICIAL- BASELINE

Foi realizado um teste de dureza superficial inicial (DI) das amostras de esmalte a fim de obter valores de referência e padronização das amostras. Para isso utilizou-se um microdurômetro (Struers® Duramin, Copenhague, Dinamarca) com indentador Knoop, avaliando as amostras com 3 indentações espaçadas em 100 µm cada uma e realizadas no centro do bloco, com as cargas de 50 gramas (g) por 5 segundos. Os valores coletados tiveram uma média de dureza de 296,12±43,00 (Dureza Knoop kgf/mm2) (ABOAYANA et al., 2024;

HENN-DONASSOLLO et al., 2016; DEHGHAN et al., 2020). Após coleta do biofilme, os discos de esmalte foram limpos com gaze e água destilada. Em seguida, as amostras foram novamente avaliadas para a dureza final (DF), também sendo realizadas três indentações, com espaçamento de 100 µm à esquerda ou direita das indentações iniciais, sob os mesmos parâmetros. Para o percentual de dureza superficial (%PDS) foi usada a fórmula: %PDS = 100 (SH2 – SH1) / SH1 (CURY et al., 2000), sendo SH1 os valores das leituras iniciais e SH2 às leituras pós crescimento do biofilme, desafio cariogênico e tratamentos.

MODELO DE BIOFILME DE FLUXO CONTÍNUO

Para o experimento, utilizou-se um modelo de microcosmos dinâmico em um simulador multifuncional de cavidade oral (MOCS) (MASKE et al., 2025). O modelo consistiu em três câmaras cilíndricas independentes em uma base de aquecimento (37±2ºC), cada uma com três tubulações individuais para o meio de cultura. Todas as câmaras eram ligadas entre si para circulação do gás e possuíam uma tubulação para escoamento dos resíduos. As unidades de suporte para os espécimes localizavam-se abaixo das entradas das tubulações em cada câmara cilíndrica (Figura 2). Cada unidade acomoda até três espécimes (MASKE et al., 2025). As amostras foram perfundidas com meio de cultura enriquecido de mucina (DDM) e sacarose (WONG e SISSIONS 2001), utilizando uma bomba peristáltica (FC 100, ChaoChuing, China) e um computador, que é acoplado às bombas peristálticas para controle do sistema de fluxo (Figura 3) (MASKE et al., 2025). Cada amostra recebeu um dos tratamentos com um creme dental, que foi inserido manualmente. Além disso, o dispositivo simulou o ambiente controlado de oxigênio através de uma tubulação com suplementação de gás de anaerobiose (10% CO_2, 10% H_2 e 80% N_2).

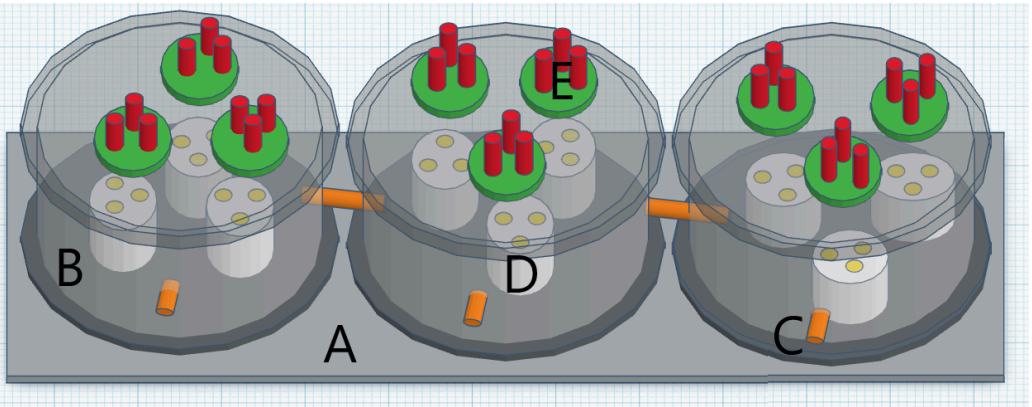


Figura 2- Modelo de microcosmos dinâmico, sistema de três câmaras. A- Base de aquecimento. B- Câmara cilíndrica. C- Tubulação para escoamento. D- Unidades de suporte/ unidades individuais de crescimento, com três amostras em cada. E- Tubulações individuais, sendo três para cada amostra.

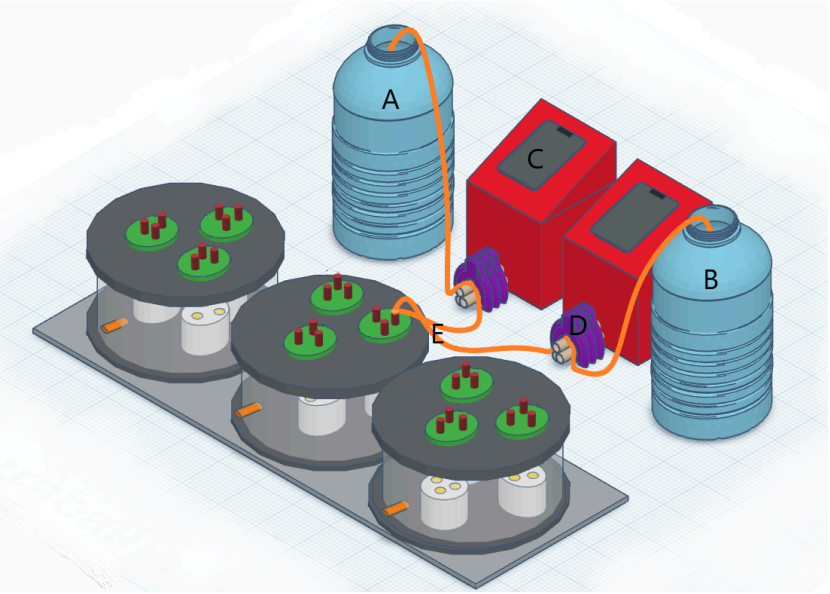


Figura 3- Modelo de microcosmos dinâmico completo. A- recipiente para DMM. B- recipiente para sacarose. C- Painel de controle das bombas peristálticas. D- bombas peristálticas. E- tubulação para as soluções (DMM e sacarose) chegando até cada amostra.

COLETA DE SALIVA, INOCULAÇÃO E CRESCIMENTO DO BIOFILME

A saliva utilizada foi recebida por meio de doação de um voluntário do sexo feminino, de 27 anos, que apresentou boa saúde geral, fluxo salivar normal (estimulada >1 ml/min e não estimulada >0,3 ml/min), sem presença de gengivite e periodontite e que não fez uso de antimicrobianos nos últimos 3 meses. A doadora ficou 24 horas sem realizar higiene bucal, mantendo a dieta habitual. Após esse período foi coletada 5 mL de saliva estimulada foi realizada por meio de um estímulo mastigatório com parafina (Parafilm "M", American National Can TM, Chicago, Ill., EUA).

A saliva obtida foi submetida a um processo de homogeneização por 30 segundos em um agitador vórtex. Cinco mL da saliva foi misturada com 100 mL de Meio Definido de Mucina estéril (DMM/saliva artificial) que havia sido previamente preparado (WONG; SISSONS, 2001). A mistura foi agitada e 3 mL da solução resultante foram adicionados diretamente sobre as amostras, pelas tubulações individuais localizadas sobre as unidades

individuais de crescimento. Após 1 hora para formação de película adquirida, o DMM foi perfundido a uma velocidade média de 0,06 mL/min. O desafio cariogênico foi simulado aplicando-se fluxo intermitente de sacarose (5%), 3x/dia, durante 6 minutos, com uma velocidade média de fluxo de 0,25 mL/min (MASKE et al., 2016, MASKE et al., 2025), a cada 2 horas durante 96h. Os biofilmes foram formados sobre as amostras em condições de anaerobiose, mantidas através de um fluxo médio de gás de anaerobiose (10% CO_2, 10% H_2 e 80% N_2) aplicados com 1 PSI de pressão durante 1 minuto, 2 vezes ao dia (SISSONS et al., 1991), durante um período experimental de 4 dias.

TRATAMENTOS

Após 24 h de crescimento do biofilme, os tratamentos foram aplicados na forma de slurry (1:3, p/v; uma parte de creme dental para três partes de solução salina estéril), simulando a diluição do creme dental na saliva. O slurry foi aplicado com o auxílio de uma seringa estéril diretamente nas tubulações individuais, sobre as unidades de suporte, cada uma contendo três amostras, de modo que as três amostras recebiam simultaneamente o mesmo tratamento. Os grupos experimentais foram alocados aleatoriamente para cada um dos tratamentos.Para cada aplicação do tratamento, foram utilizados 5 mL do slurry, os quais foram aplicados duas vezes ao dia, com intervalo de 12 h entre as aplicações. O nome e marca dos cremes dentais usados, assim como a composição e lote estão descritos na Tabela 1.

Tabela 1- Descrição dos cremes dentais utilizados no experimento.

Grupo Experimental	**Creme Dental**	**Ingredientes**	**Lote**
HaF (hidroxiapatita com flúor)	Creme Dental BE YOU - Curaprox® (60ml)	Água, glicerina, sílica hidratada, sorbitol, xilitol, pantenol, aroma, monofluorfosfato de sódio, goma xantana, cocamidopropil betaína, celulose microcristalina, decil glucosídeo, hidroxiapatita (nano), glucose oxidase, manitol, maltodextrina, mica, sucralose, d-limoneno, ácido cítrico, hidróxido de sódio, amido de milho, glicose, extrato de raiz de equinácea purpurea, dióxido de titânio, cloreto de sódio,	163MHD EXP 0526

		metabissulfito de sódio, carbonato de cálcio, l-mentol, extrato de centella asiática, extrato de fruto de laranja amarga, tiocianato de potássio, polilisina, álcool cetílico, sílica, cloreto de potássio, óxido de estanho, extrato de raiz de harpagophytum procumbens (garra-do-diabo), CI 77492.	
OA (oxigênio ativo)	Creme Dental BLUE M - Bluem® (75ml)	Glicerina, sílica hidratada, água, mel, PEG-32, aroma, cocamidopropil betaína, goma de celulose, sulfato de magnésio, citrato de sódio, sacarina sódica, xilitol, lactoferrina, salicilato de metila, perborato de sódio, metilparabeno de sódio, ácido cítrico, limonene, CL 42090, linalol.	1190823
HA (hidroxiapatita)	Gel Dental RESTORE - Jeunesse® (90g)	Glicerina, dióxido de silício, lauril sulfato de sódio, carboximetilcelulose de sódio xilitol, extrato de melaleuca, sacarina sódica, aroma, metil parabeno, propil parabeno, citrato de potássio, dióxido de silício/verde, hidroxiapatita, água .	0825 B2032
NaF (flúor)	Creme Dental ORAL- B 100% - Oral-B® (70g)	Água, sorbitol, dióxido de silício, laurilsulfato de sódio, aroma, carmelose sódica, citrato de zinco, carragenina, sacarina sódica di-hidratada, fluoreto de sódio, citrato de sódio di-hidratado, corante dióxido de titânio, sucralose dextrolimoneno	41023662CO 1

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DO BIOFILME

Após os 4 dias de período experimental, o biofilme formado sobre cada disco de esmalte foi coletado com hastes de coleta microbiológica previamente esterilizadas. O biofilme coletado foi transferido, em uma capela de fluxo laminar, para dois microtubos estéreis previamente pesados. De cada amostra, um dos microtubos foi destinado às análises microbiológicas e o outro às análises bioquímicas.

Posteriormente, estando o biofilme dentro dos tubos, foi realizada outra pesagem a fim de calcular o peso úmido do biofilme formado sobre cada amostra de esmalte. Subsequente à pesagem, cada microtubo recebeu 1 mL de solução salina estéril e foram agitados em vórtex e sonificados por 30s com 20W de potência com a finalidade de dispersar as bactérias do biofilme. Em seguida, as suspensões foram diluídas em solução salina de maneira seriada em concentrações de 1^0 - 10^{-6} e inoculadas em duplicata (20 µl) em Ágar Infusão Cérebro e Coração (BHI), Ágar Mitis Salivarius com 0,2 unidades de bacitracina/mL (MSB), e Infusão Cérebro e Coração (BHI) com pH ajustado a 4,8, para contagem de microrganismos totais, estreptococos do grupo mutans e acidúricos totais, respectivamente (GOLD et al., 1973). Na sequência, as placas foram incubadas em condições de anaerobiose (80% N2, 10% CO2 e 10% H2), a 37°C por 96 horas. Após esse período, um pesquisador treinado realizou a contagem das unidades formadoras de colônia (UFC), sendo os resultados expressos em log de UFC/mg de biofilme úmido.

ANÁLISE BIOQUÍMICA- DOSAGEM DE CÁLCIO, FÓSFORO E FLÚOR

O biofilme remanescente sobre as amostras foi coletado e armazenado em microtubos pré-pesados. Sequencialmente, os biofilmes foram desidratados em câmara a vácuo com pentóxido de fósforo por 24 horas. Após a secagem, foram transferidos para microtubos e pesados com uma balança analítica. Para a extração dos componentes, foi adicionada uma solução de HCl 0,5M (0,1 mL por 1 mg de biofilme seco) e as amostras foram agitadas por 3 horas. Em seguida, foi acrescentado TISAB II (pH 5, 20 g de NaOH/L) e as amostras foram agitadas e centrifugadas por 5 minutos. O sobrenadante foi transferido para microtubos e congelado para análise de flúor (F), cálcio (CA)e fósforo (P) (REZENDE et al., 2017).

A concentração de flúor foi medida com um eletrodo específico e analisador de íons. A curva de calibração teve padrões de flúor de: 0,1ppmF, 0,2ppmF, 0,4ppmF, 0,8ppmF, 1,6ppmF, 2ppmF, 4,0ppmF, 8ppmF e 16ppmF, e foi feita com HCl 1M e TISAB II. Após a calibração, a concentração de flúor nas amostras foi medida diretamente.

Para o cálcio, foi utilizado o método colorimétrico com Arsenazo III e leitura espectrofotométrica (650 nm). A análise de fósforo foi feita pelo método de fosfomolibdato, com leitura espectrofotométrica (660 nm) após a formação do complexo fosfomolibdato de amônia (REZENDE et al., 2017).

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram analisados no software estatístico JAMOVI® (v. 2.6.23), adotando-se nível de significância de 5%. Os dados de dureza superficial (valores iniciais e finais) foram transformados em raiz quadrada para atender aos pressupostos de normalidade e homogeneidade de variâncias e analisados por ANOVA de medidas repetidas, considerando como fator entre-sujeitos o tipo de dentifrício e como fator intra-sujeitos o tempo (antes e após o tratamento) e ANOVA de um fator para %PDS. Quando necessário, aplicou-se a correção de Greenhouse–Geisser para ajuste da esfericidade. Os dados microbiológicos, expressos em log, foram analisados pelo teste não paramétrico de Kruskal–Wallis, seguido do teste post hoc de Dwass–Steel–Critchlow–Fligner. Os dados bioquímicos foram analisados por ANOVA de um fator, seguido do teste post hoc de Tukey.

RESULTADOS

Os valores médios de dureza Knoop inicial (DI), final (DF), a diferença entre eles (DF-DI) e da porcentagem de perda de dureza superficial (%PDS) para cada grupo estão apresentados na Tabela 2. Não houve diferença significativa entre as médias de dureza inicial e final (DF-DI) e nos valores médios de %PDS nos dentifrícios testados ($p > 0,05$). Na análise intragrupo, os dentifrícios contendo oxigênio ativo (OA), hidroxiapatita (HA) e hidroxiapatita associada ao flúor (HaF) apresentaram valores finais de dureza estatisticamente semelhantes aos valores iniciais ($p > 0,05$), em contraste, o grupo tratado com fluoreto de sódio (NaF) apresentou valores finais de dureza estatisticamente diferentes dos valores iniciais ($p < 0,05$).

Tabela 2- Resultados das médias±desvio padrão dos valores de dureza inicial (DI), final (DF), da diferença de média (DF-DI) para cada um dos grupos

Grupos	Média Dureza Inicial Knoop (DI)	Média Dureza Final Knoop (DF)	Diferença de Média (DF-DI)	Média Perda de Dureza (%PDS)
OA	303.61 ± 30.48 ^{Aa}	251.17 ± 86.38 ^{Aa}	-50.62 ± 103.04 ^{A}	25.53 ± 38.7 ^{A}
HA	270.08 ± 27.17 ^{Aa}	227.37 ± 50.18 ^{Aa}	-42.46 ± 59.02 ^{A}	7.46 ± 29.9 ^{A}
HaF	318.89 ± 41.47 ^{Aa}	241.44 ± 86.36 ^{Aa}	-77.45 ± 78.68 ^{A}	24.44 ± 23.8 ^{A}
NaF	291.78 ± 34.21^{Aa}	201.67 ± 40.93^{Ab}	-90.11 ± 44.51 ^{A}	31.6 3 ± 13.7 ^{A}

Nota: Letras maiúsculas iguais nas colunas indicam ausência de diferença significativa entre os grupos de dentifrícios ($p > 0,05$). Letras minúsculas diferentes nas linhas indicam diferença significativa entre os valores de dureza inicial e final dentro do mesmo grupo ($p < 0,05$). Considerando o fator tempo (antes × depois), observou-se diferença significativa apenas para o grupo NaF. Para o fator dentifrício, não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos ($p > 0,05$).

Na análise microbiológica (Tabela 3), o grupo HA exibiu maior contagem de microrganismos totais do que OA e NaF ($p < 0,05$) e semelhante à HAF. Não foram observadas diferenças significativas nas contagens de estreptococos do grupo mutans e acidúricos totais ($p > 0,05$).

Tabela 3- Resultado das médias±desvio padrão da contagem microbiológica do biofilme formado em cada um dos grupos (Log UFC/mg biofilme).

Grupos	Microrganismos Totais	Estreptococos do Grupo Mutans	Microrganismos Acidúricos Totais
OA	5,28 ± 4,04^{A}	2,85 ± 3,41^{A}	0,00 ± 0,00^{A}
HA	9,15 ± 0,49^{B}	5,31 ± 4,08^{A}	3,42 ± 5,13^{A}
HaF	8,74 ± 1,35^{AB}	5,30 ± 4,58^{A}	3,41 ± 5,17^{A}
NaF	6,33 ± 3,92^{A}	3,96 ± 4,89^{A}	3,37 ± 4,66^{A}

Nota- Letras iguais indicam ausência de diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p > 0,05$). Teste de Kruskal-Wallis e *post hoc* de Dwass-Steel-Critchlow-Flig.

Não houve diferenças significativas entre os grupos testados considerando [Ca] e [Pi] ($p > 0.05$), mantendo valores semelhantes independentemente do tratamento empregado (Figura 4). Os grupos cuja formulação incluía o íon flúor (NaF e HaF) apresentaram níveis significativamente mais elevados desse íon, em comparação àqueles nos quais o flúor não estava presente em sua composição (OA e HA) ($p < 0,001$).

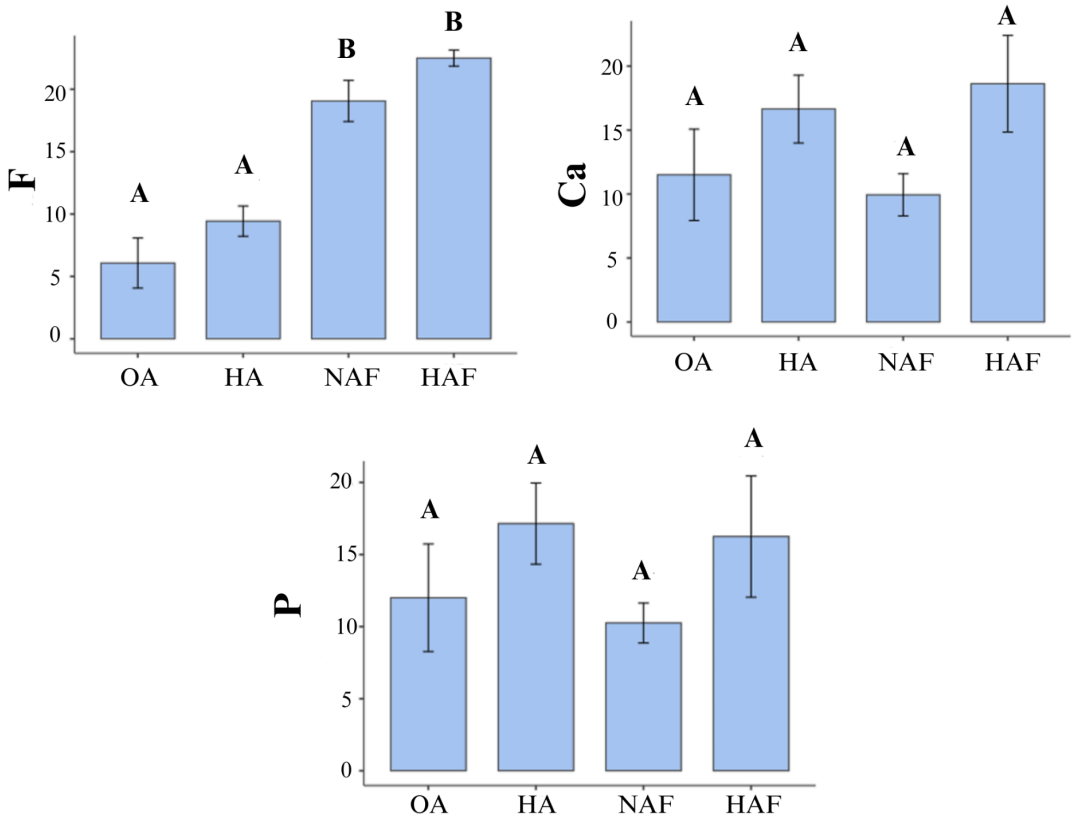


Figura 4- Resultados das análises bioquímicas dos biofilmes formados pelos diferentes cremes dentais: F- concentração de flúor, Ca- concentração de cálcio e P- concentração de fósforo. Letras maiúsculas semelhantes não apontam diferença estatística entre os grupos (ANOVA seguida de teste *Post-Hoc* de Tukey). OA: n= 7, HA: n= 7, NAF: n= 8 e HAF: n= 4

DISCUSSÃO

Este estudo evidenciou que os cremes dentais que possuem oxigênio ativo e hidroxiapatita em sua formulação, apresentaram respostas minerais e microbiológicas semelhantes às do convencional, podendo ser alternativos viáveis. Os resultados principais

mostraram que não houve diferença no percentual de perda de dureza superficial entre HA, HaF, OA e NaF. Os grupos contendo oxigênio ativo (OA), hidroxiapatita (HA) e hidroxiapatita associada ao flúor (HaF) apresentarem valores finais de dureza estatisticamente semelhantes aos valores iniciais, enquanto o grupo tratado com fluoreto de sódio (NaF) apresentou redução nos valores finais de dureza. Na análise microbiológica, não foram observadas diferenças na contagem dos microrganismos acidogênicos e estreptococos mutans. Verificou-se, entretanto, que o grupo HA apresentou maior contagem de microrganismos totais quando comparado aos grupos OA e NaF, enquanto o grupo HaF não se diferenciou dos demais. Dessa forma, os resultados obtidos permitem a aceitação da hipótese nula, indicando a ausência de diferenças entre os dentifrícios quanto ao efeito anticariogênico.

Na análise da %PDS não houve diferença entre os cremes dentais testados, ou seja, não houve diferença em relação ao efeito anticárie. Em relação aos valores de dureza inicial e final (DI–DF), observou-se que apenas o grupo tratado com fluoreto de sódio (NaF) apresentou redução nos valores da dureza final, enquanto os grupos contendo oxigênio ativo (OA), hidroxiapatita (HA) e hidroxiapatita associada ao flúor (HaF) mantiveram valores de dureza estatisticamente semelhantes entre os dois tempos avaliados. Embora todos tenham promovido algum grau de remineralização do esmalte, o desempenho inferior do creme dental convencional (NaF) pode ser atribuído a fatores específicos relacionados à sua formulação, já que a biodisponibilidade do flúor, sua forma química e sua interação com outros componentes do creme dental podem limitar a efetividade do flúor na recuperação da dureza do esmalte (ARNOLD et al., 2006; GROHE et al., JABBARIFAR et al., 2011).

Corroborando com os achados deste estudo, outras pesquisas demonstraram que cremes dentais contendo diferentes ingredientes, incluindo oxigênio ativo, hidroxiapatita e formulações que associam hidroxiapatita com flúor, as quais mostraram efeito adicional na redução da atividade de lesões de cárie (COCCO et al., 2025), também podem contribuir para a remineralização do esmalte e prevenção da cárie, reforçando os achados referentes à recuperação de dureza superficial (%PDS) observados neste estudo (LIMEBACK et al., 2021; RIBEIRO et al., 2023; O'HAGAN-WONG et al., 2021; GEORGE et al., 2022; PASZYNSKA et al., 2023). Além disso, estudos laboratoriais sugerem que nanopartículas de hidroxiapatita presente em cremes dentais podem se depositar na superfície do esmalte e, em menor grau, interagir com a matriz do biofilme, contribuindo para a formação de uma camada mineral superficial biomimética e para a manutenção do equilíbrio entre o esmalte e o meio bucal (SCHÄFER et al., 2009; TSCHOPPE et al., 2011; EPPLE et al., 2018).

Adicionalmente, deve-se considerar que os cremes dentais comerciais avaliados apresentaram viscosidades distintas, decorrentes de suas formulações e das concentrações de espessantes e outros ingredientes, o que pode ter influenciado a dispersão do slurry, o tempo de contato com a superfície do esmalte e a liberação de íons e compostos. No modelo *in vitro* utilizado não é possível simular a escovação, nem as forças mecânicas associadas aos movimentos orais, essas diferenças podem impactar a disponibilidade local dos agentes ativos na interface entre o esmalte e o biofilme, interferindo indiretamente nos processos de desmineralização e remineralização (BUZALAF et al., 2011, WIEGAND *et al.*, 2011).

Na análise microbiológica, o grupo HA exibiu maior contagem de microrganismos totais, quando comparado aos grupos OA e NaF, enquanto o grupo HaF se mostrou intermediário, indicando que os cremes dentais com a presença de oxigênio ativo (OA), hidroxiapatita com 950 /ppm de flúor (HaF) ou o convencional com de 1450 ppm de flúor (NaF), apresentam semelhante carga de microrganismos totais. Estudos mostraram que formulações líquidas contendo hidroxiapatita, como soluções ou enxaguatórios bucais, foram capazes de reduzir a fixação de microrganismos ao esmalte sem afetar sua viabilidade (KENSCHE et al., 2017; NOBRE et al., 2021; MEYER et al., 2019). A divergência observada neste estudo, pode estar relacionada a fatores como, o tipo de formulação (pasta versus solução), a concentração e morfologia da hidroxiapatita, bem como ao tempo de exposição e o modelo experimental utilizado. Ressalta-se que diferentes veículos e formatos de aplicação podem influenciar a interação da hidroxiapatita com a superfície dentária e o biofilme (KENSCHE et al., 2017; NOBRE et al., 2021), o que reforça a necessidade de estudos adicionais com diferentes formatos de apresentação.

Não foram observadas diferenças entre os grupos nas contagens de estreptococos do grupo mutans e de microrganismos acidúricos totais, considerados marcadores para o desenvolvimento da cárie dentária. Achados semelhantes têm sido relatados em estudos prévios, que observaram redução na carga e na placa bacteriana associada ao uso de dentifrícios contendo flúor (NAUMOVA et al., 2019; GEORGE et al., 2022) oxigênio ativo (JINDAL et al., 2023; MURUGESAN et al., 2022; CUNHA et al., 2019; GEORGE et al., 2022). Esses resultados podem ser explicados pela atividade antimicrobiana do fluoreto de sódio, que é dependente da concentração, (concentrações de flúor de até 190 ppm têm sido mostradas como eficazes) com inibição expressiva do crescimento de microrganismos gram-positivos, gram-negativos e leveduras (BHAT et al., 2024). Esse efeito antimicrobiano está relacionado à sua capacidade de inibir enzimas metabólicas e comprometer a produção de

energia, afetando a homeostase celular (BHAT et al., 2024; EKENBÄCK et al., 2000). A ação antimicrobiana do creme dental de oxigênio ativo utilizado neste estudo, pode estar relacionada, também, aos efeitos do xilitol, que reduz o potencial acidogênico e a adesão microbiana (NAYAK et al., 2014; AHMED et al., 2017), e da lactoferrina, que apresenta atividade antibacteriana ao desestabilizar membranas celulares e interferir em mecanismos de virulência bacteriana (KRUPINSKA et al., 2021; JENSSEN et al., 2009).

Por outro lado, vale ressaltar que mesmo com uma maior contagem de microrganismos totais, o grupo HA não diferiu dos outros grupos na contagem dos principais microrganismos envolvidos na cárie dentária (estreptococos do grupo mutans e microrganismos acidúricos totais), o que corrobora com a literatura (RIFADA et al., 2020, IONESCU et al., 2020, CAMPUS et al., 2024) onde foi observado que a hidroxiapatita pode modular a adesão bacteriana e a formação de biofilme, mostrando ação anticariogênica e antibacteriana.

Nas análises bioquímicas, apenas as dosagens de flúor apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, o que era esperado, devido à presença de flúor nos grupos NaF e HaF. Esse resultado se mostra de acordo com relatos prévios que mostraram que cremes dentais fluoretados liberam e mantêm concentrações detectáveis de fluoreto na saliva e na placa dental, achado que também é compatível com evidências *in vitro*, onde foi observado que a liberação de fluoreto varia conforme a formulação e a disponibilidade do íon, enquanto pastas sem flúor não apresentaram níveis mensuráveis (NAUMOVA et al., 2012, NAUMOVA et al., 2016, REDDY et al., 2025).

Apesar de o creme dental utilizado no grupo NaF, conter 1450 ppm de fluoreto de sódio em sua concentração nominal, observou-se menor concentração de flúor ativo em comparação ao creme dental do grupo HaF, com 950 ppm, possivelmente em função da forma química do flúor, de interações com abrasivos e da estabilidade do íon ao longo do tempo de prateleira, fatores que podem reduzir a fração de flúor solúvel e sua biodisponibilidade (ARNOLD et al., 2006; NAUMOVA et al., 2012; NAUMOVA et al., 2016). A detecção de pequenas quantidades de flúor nos grupos HA e OA, embora ausente na composição declarada, pode estar relacionada à presença residual de flúor presentes no esmalte utilizado, assim como na saliva do inóculo, o que explica os baixos valores observados nesses grupos.

Os resultados deste estudo devem ser interpretados com cautela, considerando a complexidade e possíveis interações das formulações dos cremes dentais comerciais

avaliados, uma vez que essas interações podem influenciar os desfechos observados. A presença concomitante de abrasivos, tensoativos e agentes bioativos pode alterar a organização estrutural do biofilme e a difusão de metabólitos e íons, afetando indiretamente os processos de desmineralização e remineralização do esmalte (WONG & SISSONS, 2001; MASKE et al., 2016). Componentes com ação antimicrobiana, agentes oxidantes e proteínas bioativas, podem interferir no metabolismo e na viabilidade bacteriana, impactando a formação e a atividade do biofilme cariogênico (MARQUIS et al., 1995; EKENBÄCK et al., 2000; CUNHA et al., 2019; JINDAL et al., 2023). Dessa forma, os efeitos observados não podem ser atribuídos a um único ingrediente isoladamente, mas sim ao conjunto da formulação e às interações entre seus componentes, reforçando a necessidade de estudos que avaliem produtos isolando seus princípios ativos, refletindo de maneira mais fiel os resultados de cada ingrediente.

Como limitações deste estudo, cabe destacar, que o grupo HaF teve limitações metodológicas, em razão da formação reduzida de biofilme, que acabou exigindo o agrupamento dessas amostras, resultando em um grupo amostral menor. Isso pode ter reduzido a potência estatística levando à subestimação dos resultados (SERDAR et al., 2021, ZAURA et al., 2020), portanto, estes dados devem ser interpretados com cautela. Além disso, destaca-se que o biofilme foi formado somente por 4 dias, com 3 aplicações diárias de sacarose, e a partir de um único doador. Assim, estes achados refletem o protocolo do modelo utilizado, o que pode ter influenciado a composição do biofilme e a perda mineral. Assim, mais estudos são necessários para que se possa extrapolar os presentes resultados para a clínica.

CONCLUSÃO

Diante dos achados deste estudo *in vitro,* podemos observar que os cremes dentais contendo o oxigênio ativo (OA), hidroxiapatita (HA), hidroxiapatita associada ao flúor (HaF) e o convencional com flúor (NaF) apresentaram comportamentos semelhante quanto ao efeito anticariogênico, uma vez que não houve diferença na porcentagem de perda de dureza e na contagem de microrganismos acidúricos totais e estreptococos do grupo mutans. Assim, conclui-se que as formulações contendo oxigênio ativos ou hidroxiapatita se mostraram semelhantes ao creme dental convencional.

RELEVÂNCIA CLÍNICA

O flúor permanece como o principal agente com eficácia comprovada na prevenção da cárie dentária, constituindo o padrão-ouro nas recomendações clínicas. Novas substâncias como oxigênio ativo e hidroxiapatita, associadas à modulação do biofilme e aos processos de desmineralização e remineralização do esmalte, têm sido adicionadas aos cremes dentais com o intuito de potencializar esses efeitos. Nesse contexto, a relevância clínica deste estudo reside em fornecer evidências comparativas sobre o desempenho dessas formulações disponíveis no mercado, principalmente em relação à cárie, contribuindo para uma indicação clínica crítica, individualizada e fundamentada em evidências, sem substituir as recomendações consolidadas para o controle da cárie dentária.

CONFLITO DE INTERESSES

Todos os cremes dentais utilizados neste estudo foram adquiridos pelas próprias pesquisadoras, e não houve doação ou financiamento por parte de nenhuma empresa fabricante dos produtos. Portanto, não há conflitos de interesse relacionados aos materiais utilizados na pesquisa.

REFERÊNCIAS

ABOAYANA, Mariam *et al*. Silver nanoparticles versus chitosan nanoparticles effects on demineralized enamel. Bmc Oral Health, [S.L.], v. 24, n. 1, 24 out. 2024. Springer Science and Business Media LLC. http://dx.doi.org/10.1186/s12903-024-04982-4.

AHMED, Mohamed et al. Anti-Cariogenic Effect of Five-Carbon Sugar: Xylitol. Journal of Dental and Oral Health, v. 3, n. 6, p. 081, 2017.

AHN, Sang-Joon *et al*. Effects of Oxygen on Virulence Traits of Streptococcus mutans. Journal Of Bacteriology, [S.L.], v. 189, n. 23, p. 8519-8527, dez. 2007. American Society for Microbiology. http://dx.doi.org/10.1128/jb.01180-07

AMAECHI, Bennett T. *et al*. Comparative efficacy of a hydroxyapatite and a fluoride toothpaste for prevention and remineralization of dental caries in children. Bdj Open, [S.L.], v. 5, n. 1, 9 dez. 2019. Springer Science and Business Media LLC. http://dx.doi.org/10.1038/s41405-019-0026-8.

ARNOLD, Wolfgang H *et al*. Effect of fluoride toothpastes on enamel demineralization. Bmc Oral Health, [S.L.], v. 6, n. 1, 15 jun. 2006. Springer Science and Business Media LLC. http://dx.doi.org/10.1186/1472-6831-6-8.

BHAT, Ramesa Shafi *et al*. Anti-Biofilm and Antimicrobial Activity of Sodium Fluoride Against Various Pathogenic Microbes. Fluoride Quarterly Reports, Riyadh, Saudi Arabia, n. 238, p. 1-9, 2024.

BUZALAF, Marília Afonso Rabelo *et al*. Saliva and dental erosion. Journal Of Applied Oral Science, [S.L.], v. 20, n. 5, p. 493-502, out. 2012. FapUNIFESP (SciELO). http://dx.doi.org/10.1590/s1678-77572012000500001.

CAMPUS, Guglielmo *et al*. Effects of Hydroxyapatite-Containing Toothpastes on Some Caries-Related Variables: a randomised clinical trial. International Dental Journal, [S.L.], v. 74, n. 4, p. 754-761, ago. 2024. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.identj.2024.01.028.

CASCAES, Andreia Morales *et al*. Gastos privados com saúde bucal no Brasil: análise dos dados da pesquisa de orçamentos familiares, 2008-2009. Cadernos de Saúde Pública, [S.L.], v. 33, n. 1, p. 0-1, 2017. FapUNIFESP (SciELO). http://dx.doi.org/10.1590/0102-311x00148915.

CHEN, Lijie *et al*. Hydroxyapatite in Oral Care Products—A Review. Materials, [S.L.], v. 14, n. 17, p. 4865, 27 ago. 2021. MDPI AG. http://dx.doi.org/10.3390/ma14174865.

CLARK, Melinda B., *et al.* Fluoride Use in Caries Prevention in the Primary Care Setting. Pediatrics, [S.L.], v. 146, n. 6, p. 626-633, 1 dez. 2020. American Academy of Pediatrics (AAP). http://dx.doi.org/10.1542/peds.2020-034637.

COCCO, Fabio *et al*. Hydroxyapatite-Fluoride Toothpastes on Caries Activity: a triple-blind randomized clinical trial. International Dental Journal, [S.L.], v. 75, n. 2, p. 632-642, abr. 2025. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.identj.2024.09.037.

CRESCENTE, Luiza Gasparotto *et al*. Mudanças da prevalência de dentes permanentes cariados no Brasil e em países de renda média-alta nos anos 1990 e 2017. Ciência & Saúde Coletiva, [S.L.], v. 27, n. 3, p. 1181-1190, mar. 2022. FapUNIFESP (SciELO). http://dx.doi.org/10.1590/1413-81232022273.46812020

CUNHA, Emanuelle Juliana *et al*. Effects of Active Oxygen Toothpaste in Supragingival Biofilm Reduction: a randomized controlled clinical trial. International Journal Of Dentistry, [S.L.], v. 2019, p. 1-7, 1 jul. 2019. Hindawi Limited. http://dx.doi.org/10.1155/2019/3938214.

CURY, J.A. *et al*. Biochemical Composition and Cariogenicity of Dental Plaque Formed in the Presence of Sucrose or Glucose and Fructose. Caries Research, [S.L.], v. 34, n. 6, p. 491-497, 2000. S. Karger AG. http://dx.doi.org/10.1159/000016629.

CURY, J.A. *et al*. Evidence-based recommendation on toothpaste use. Brazilian Oral Research, [S.L.], v. 28, n. , p. 1-7, 24 jan. 2014. FapUNIFESP (SciELO). http://dx.doi.org/10.1590/s1806-83242014.50000001.

DEHGHAN, Hajar *et al*. The Effect of CO2 Laser Irradiation Combined with TiF4 and NaF Varnishes on Enamel Hardness: an in vitro study. Oral Health And Preventive Dentistry, [S.L.], v. 18, n. 1, p. 543-548, 12 fev. 2020. Quintessenz Verlags-GmbH. http://dx.doi.org/10.3290/j.ohpd.a44690.

EKENBÄCK, S. B. et al. The effect of fluoride on carbohydrate metabolism of Streptococcus mutans: Inhibition by fluoride at different concentrations. *Caries Research*, v. 34, n. 6, p. 471-477, 2000. https://doi.org/10.1034/j.1600-0722.2001.00005.x.

EPPLE, Matthias *et al*. Review of potential health risks associated with nanoscopic calcium phosphate. Acta Biomaterialia, [S.L.], v. 77, p. 1-14, set. 2018. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.actbio.2018.07.036.

GEORGE, Jaymi Anna *et al*. The effect of active oxygen-containing toothpaste on Streptococcus mutans and white spot lesions: an in-vivo randomized controlled trial. American Journal Of Orthodontics And Dentofacial Orthopedics, [S.L.], v. 162, n. 5, p. 594-600, nov. 2022. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.ajodo.2022.06.022

GOLD, Olga G. *et al*. A selective medium for Streptococcus mutans. Archives Of Oral Biology, [S.L.], v. 18, n. 11, p. 1357-1364, nov. 1973. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/0003-9969(73)90109-x.

GROHE, Bernd *et al*. Advanced non-fluoride approaches to dental enamel remineralization: the next level in enamel repair management. Biomaterials And Biosystems, [S.L.], v. 4, p. 100029, dez. 2021. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.bbiosy.2021.100029.

HADIDI, Fateme *et al*. Evaluation of Remineralizing Effects of CPP-ACP and Nanohydroxyapatite on Erosive Lesions of Enamel in Deciduous Teeth After Exposure to Acetaminophen Syrup: an in vitro study. The Open Dentistry Journal, [S.L.], v. 16, n. 1, p.

0-0, 21 set. 2022. Bentham Science Publishers Ltd.. http://dx.doi.org/10.2174/18742106-v16-e2206272.

HENN-DONASSOLLO, Sandrina *et al*. In Situ and In Vitro Effects of Two Bleaching Treatments on Human Enamel Hardness. Brazilian Dental Journal, [S.L.], v. 27, n. 1, p. 56-59, fev. 2016. FapUNIFESP (SciELO). http://dx.doi.org/10.1590/0103-6440201600385.

HUNG, Man *et al*. A National Study Exploring the Association Between Fluoride Levels and Dental Fluorosis. Jama Network Open, [S.L.], v. 6, n. 6, 23 jun. 2023. American Medical Association (AMA). http://dx.doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2023.18406.

IONESCU, Andrei C. *et al*. Substituted Nano-Hydroxyapatite Toothpastes Reduce Biofilm Formation on Enamel and Resin-Based Composite Surfaces. Journal Of Functional Biomaterials, [S.L.], v. 11, n. 2, p. 36, 1 jun. 2020. MDPI AG. http://dx.doi.org/10.3390/jfb11020036.

JABBARIFAR, S. E. *et al*. Effect of Fluoridated Dentifrices on Surface Microhardness of the Enamel of Deciduous Teeth. Dent Res J (Isfahan), Summer, v. 3, n. 8, p. 113-117, 2011.

JAMES, Spencer L *et al*. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the global burden of disease study 2017. The Lancet, [S.L.], v. 392, n. 10159, p. 1789-1858, nov. 2018. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/s0140-6736(18)32279-7.

JENSSEN, H *et al*. Antimicrobial properties of lactoferrin. Biochimie, [S.L.], v. 91, n. 1, p. 19-29, jan. 2009. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.biochi.2008.05.015.

JINDAL, Tanvi *et al*. Comparative evaluation of antibacterial efficacy of active oxygen containing versus other dentifrices against Streptococcus mutans count in children with early childhood caries: a clinico-microbiological study. Journal Of Indian Society Of Pedodontics And Preventive Dentistry, [S.L.], v. 41, n. 1, p. 57-62, jan. 2023. Medknow. http://dx.doi.org/10.4103/jisppd.jisppd_135_23.

LIMEBACK, Hardy; ENAX, Joachim; MEYER, Frederic. Biomimetic hydroxyapatite and caries prevention: a systematic review and meta-analysis. Can J Dent Hyg, [S.L], v. 3, n. 55, p. 148-159, 01 out. 2021.

JULLIEN, Sophie. Prophylaxis of caries with fluoride for children under five years. Bmc Pediatrics, [S.L.], v. 21, n. 1, set. 2021. Springer Science and Business Media LLC. http://dx.doi.org/10.1186/s12887-021-02702-3.

KENSCHE, A. *et al*. Efficacy of a mouthrinse based on hydroxyapatite to reduce initial bacterial colonisation in situ. Archives Of Oral Biology, [S.L.], v. 80, p. 18-26, ago. 2017. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.archoralbio.2017.03.013.

KOENIGS PM. FR: Fundamentals of Dentifrice: Oral Health Benefts in a Tube. 2020. https://www.dentalcare.com/en-us/ professional-education/ce-courses/ce410/fluoride-s-mechanism-of-action.

KRUPINSKA, Anna M. *et al*. Clinical aspects of the use of lactoferrin in dentistry. Journal Of Oral Biosciences, [S.L.], v. 63, n. 2, p. 129-133, jun. 2021. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.job.2021.02.005.

LIMEBACK, Hardy *et al*. Biomimetic hydroxyapatite and caries prevention: a systematic review and meta-analysis. Canadian Dental Hygienists Association, Toronto, v. 3, n. 55, p. 148-159, 2021.

MARINHO, Valeria Cc et al. Topical fluoride (toothpastes, mouthrinses, gels or varnishes) for preventing dental caries in children and adolescents. Cochrane Database Of Systematic Reviews, [S.L.], v. 2010, n. 1, 20 out. 2003a. Wiley. http://dx.doi.org/10.1002/14651858.cd002782.

MARINHO, Valeria Cc *et al*. Fluoride toothpastes for preventing dental caries in children and adolescents. Cochrane Database Of Systematic Reviews, [S.L.], v. 2016, n. 11, 20 jan. 2003b. Wiley. http://dx.doi.org/10.1002/14651858.cd002278.

MARQUIS, Robert E. *et al*. Antimicrobial actions of fluoride for oral bacteria. Canadian Journal Of Microbiology, [S.L.], v. 41, n. 11, p. 955-964, 1 nov. 1995. Canadian Science Publishing. http://dx.doi.org/10.1139/m95-133.

MASKE, T.T. *et al*. Anin vitrodynamic microcosm biofilm model for caries lesion development and antimicrobial dose-response studies. Biofouling, [S.L.], v. 32, n. 3, p. 339-348, 24 fev. 2016. Informa UK Limited. http://dx.doi.org/10.1080/08927014.2015.1130824.

MASKE TT. *et al*. Secondary caries development and the role of a matrix metalloproteinase inhibitor: A clinical in situ study. J Dent. 2018 Apr;71:49-53. doi: 10.1016/j.jdent.2018.01.011. Epub 2018 Jan 31. PMID: 29391181.

MASKE, T.T. *et al*. Presentation of a new multifunctional oral cavity simulator: the ⁝mocs⁝. Brazilian Oral Research, [S.L.], v. 39, 2025. FapUNIFESP (SciELO). http://dx.doi.org/10.1590/1807-3107bor-2025.vol39.022.

MEYER, Frederic *et al*. Hydroxyapatite in Oral Biofilm Management. European Journal Of Dentistry, [S.L.], v. 13, n. 02, p. 287-290, maio 2019. Georg Thieme Verlag KG. http://dx.doi.org/10.1055/s-0039-1695657.

MURUGESAN, Dharshana *et al*. Comparative Evaluation on Clinical Efficacy of Active Oxygen Toothpaste with Herbal Toothpaste in Supragingival Plaque Reduction among Gingivitis Patients. Journal Of Interdisciplinary Dentistry, [S.L.], v. 12, n. 3, p. 90-94, set. 2022. Medknow. http://dx.doi.org/10.4103/jid.jid_45_21.

NAUMOVA, E.A et al. Fluoride bioavailability in saliva and plaque. Bmc Oral Health, [S.L.], v. 12, n. 1, 9 jan. 2012. Springer Science and Business Media LLC. http://dx.doi.org/10.1186/1472-6831-12-3.

NAUMOVA, E. A. et al. Dynamics of Fluoride Bioavailability in the Biofilms of Different Oral Surfaces after Amine Fluoride and Sodium Fluoride Application. Scientific Reports, [S.L.], v. 6, n. 1, p. 0, 5 jan. 2016. Springer Science and Business Media LLC. http://dx.doi.org/10.1038/srep18729.

NAUMOVA, E.A. *et al*. Bacterial viability in oral biofilm after tooth brushing with amine fluoride or sodium fluoride. Archives Of Oral Biology, [S.L.], v. 97, p. 91-96, jan. 2019. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.archoralbio.2018.10.013.

NAYAK, Prathibha Anand *et al*. The effect of xylitol on dental caries and oral flora. Clinical, Cosmetic And Investigational Dentistry, [S.L.], p. 89, nov. 2014. Informa UK Limited. http://dx.doi.org/10.2147/ccide.s55761.

NOBRE, Cíntia M. G. *et al*. Hydroxyapatite-Based Solution as Adjunct Treatment for Biofilm Management: an in situ study. Nanomaterials, [S.L.], v. 11, n. 9, p. 2452, 21 set. 2021. MDPI AG. http://dx.doi.org/10.3390/nano11092452.

TRAHAN, L et al. “Intracellular xylitol-phosphate hydrolysis and efflux of xylitol in Streptococcus sobrinus.” *Oral microbiology and immunology* vol. 6,1 (1991): 41-50. doi:10.1111/j.1399-302x.1991.tb00450.x

O’HAGAN-WONG, Kelsey *et al*. The use of hydroxyapatite toothpaste to prevent dental caries. Odontology, [S.L.], v. 110, n. 2, p. 223-230, 22 nov. 2021. Springer Science and Business Media LLC. http://dx.doi.org/10.1007/s10266-021-00675-4.

PASZYNSKA, Elzbieta *et al*. Caries-preventing effect of a hydroxyapatite-toothpaste in adults: a 18-month double-blinded randomized clinical trial. Frontiers In Public Health, [S.L.], v. 11, 18 jul. 2023. Frontiers Media SA. http://dx.doi.org/10.3389/fpubh.2023.1199728.

REDDY, M. Vinay Chand et al. In Vitro Analysis of Fluoride Release from Toothpastes Used in Public Health Caries Prevention Programs. Journal Of Pharmacy And Bioallied Sciences, [S.L.], v. 17, n. 3, p. 2180-2182, set. 2025. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). http://dx.doi.org/10.4103/jpbs.jpbs_866_25.

REZENDE, Gabriela *et al*. Cariogenic Potential of Sucrose Associated with Maltodextrin on Dental Enamel. Caries Research, [S.L.], v. 51, n. 2, p. 129-135, 2017. S. Karger AG. http://dx.doi.org/10.1159/000453623.

RIBEIRO, Caroline Fernanda da Silva *et al*. Effect of experimental toothpaste containing hydroxyapatite nanoparticles and propolis, with and without fluoride, on the microcosm

biofilm and enamel demineralization. Biofouling, [S.L.], v. 39, n. 3, p. 339-348, 16 mar. 2023. Informa UK Limited. http://dx.doi.org/10.1080/08927014.2023.2217689.

RIFADA, Aulia *et al*. Effect of Nano Hydroxyapatite in Toothpaste on Controlling Oral Microbial Viability. Iop Conference Series: Materials Science and Engineering, [S.L.], v. 924, n. 1, p. 012010, 1 set. 2020. IOP Publishing. http://dx.doi.org/10.1088/1757-899x/924/1/012010.

SALLI, Krista M. *et al*. Effects of Xylitol and Sucrose Mint Products on Streptococcus mutans Colonization in a Dental Simulator Model. Current Microbiology, [S.L.], v. 74, n. 10, p. 1153-1159, 17 jul. 2017. Springer Science and Business Media LLC. http://dx.doi.org/10.1007/s00284-017-1299-6.

SARMADI, Maryam Hosseinpour *et al*. The association between cariogenic diet and dental caries in the Azar cohort population: a cross-sectional study. Bmc Public Health, [S.L.], v. 25, n. 1, p. 0-0, 3 jul. 2025. Springer Science and Business Media LLC. http://dx.doi.org/10.1186/s12889-025-23581-8.

SERDAR, Ceyhan Ceran *et al*. Sample size, power and effect size revisited: simplified and practical approaches in pre-clinical, clinical and laboratory studies. Biochemia Medica, [S.L.], v. 31, n. 1, p. 27-53, 15 fev. 2021. Croatian Society for Medical Biochemistry and Laboratory Medicine. http://dx.doi.org/10.11613/bm.2021.010502.

SCHAFER, F *et al*. In vivo delivery of fluoride and calcium from toothpaste containing 2% hydroxyapatite. International Dental Journal, [S.L.], v. 59, n. 6, p. 321-324, dez. 2009. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1002/idj.2009.59.6s1.321.

SISSONS, C.H. *et al*. A Multi-station Dental Plaque Microcosm (Artificial Mouth) for the Study of Plaque Growth, Metabolism, pH, and Mineralization. Journal Of Dental Research, [S.L.], v. 70, n. 11, p. 1409-1416, nov. 1991. SAGE Publications. http://dx.doi.org/10.1177/00220345910700110301.

THOMAS RZ. *et al*. (2007). Efeito da esterilização com óxido de etileno na desmineralização do esmalte e da dentina in vitro . J Dent 35 :547-551.

TSCHOPPE, Peter *et al*. Enamel and dentine remineralization by nano-hydroxyapatite toothpastes. Journal Of Dentistry, [S.L.], v. 39, n. 6, p. 430-437, jun. 2011. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/j.jdent.2011.03.008.

ULLAH, Rizwan; ZAFAR, Muhammad Sohail. Oral and dental delivery of fluoride: A review. Fluoride: Quarterly Journal of the International Society for Fluoride Research Inc. (ISFR), Saudi Arabia, v. 3, n. 48, p. 195-204, jul./set. 2015.

WANG, Bo *et al*. Lactoferrin: structure, function, denaturation and digestion. Critical Reviews In Food Science And Nutrition, [S.L.], v. 59, n. 4, p. 580-596, 17 out. 2017. Informa UK Limited. http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2017.1381583.

WIEGAND, Annette *et al*. Design of Erosion/Abrasion Studies – Insights and Rational Concepts. Caries Research, [S.L.], v. 45, n. 1, p. 53-59, 2011. S. Karger AG. http://dx.doi.org/10.1159/000325946.

WONG, L.; SISSIONS, C.H.. A comparison of human dental plaque microcosm biofilms grown in an undefined medium and a chemically defined artificial saliva. Archives Of Oral Biology, [S.L.], v. 46, n. 6, p. 477-486, jun. 2001. Elsevier BV. http://dx.doi.org/10.1016/s0003-9969(01)00016-4.

ZAURA, Egija *et al*. Optimizing the quality of clinical studies on oral microbiome: a practical guide for planning, performing, and reporting. Periodontology 2000, [S.L.], v. 85, n. 1, p. 210-236, 23 nov. 2020. Wiley. http://dx.doi.org/10.1111/prd.12359.

ANEXO 1

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE)

Título do projeto: AVALIAÇÃO DE CREME DENTAIS COM OXIGÊNIO ATIVO, HIDROXIAPATITA E FLÚOR NA FORMAÇÃO DE LESÕES DE CÁRIE- ESTUDO IN VITRO

Pesquisadora Responsável: Profa. Dra. Sandra Liana Henz

Prezado(a) Sr(a)

Estamos desenvolvendo uma pesquisa para avaliar os efeitos de diferentes cremes dentais na formação de cárie, coordenado pela professoras Sandra Liana Henz, Marisa Maltz e Tamires Timm Mask e a mestranda Giovanna Damiani. Você está sendo convidado(a) a participar deste estudo. A seguir, esclarecemos e descrevemos as condições e objetivos do estudo:

NATUREZA DA PESQUISA: Esta é uma pesquisa que tem como finalidade avaliar os efeitos de cremes dentais sem flúor no desenvolvimento de lesões de cárie e na composição do biofilme dental.

O procedimento consiste em coletar uma amostra de saliva, que você deverá doar, que será usada para estudar como os microrganismos interagem com o esmalte dos dentes, utilizando dentes de boi como modelo. Você só precisará fornecer a saliva e não precisará fazer mais nada. A pesquisa será feita com respeito à sua privacidade e seguirão todas as normas de segurança. Se for necessário coletar outra amostra, o pesquisador entrará em contato para combinar a coleta. Para a coleta das amostras você precisará ficar 24 horas sem escovar os dentes e evitar comer por 2 horas antes da coleta. Durante o procedimento, será solicitado que você mastigue uma goma sem açúcar por 10 minutos, e toda a saliva gerada será coletada em um tubo. A coleta será realizada no Laboratório de Bioquímica e Microbiologia Bucais da UFRGS (LABIM), em um dia e horário agendados conforme sua disponibilidade.

Este projeto foi aprovado pela Comissão de Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

RISCOS: Os procedimentos utilizados obedecem aos critérios da ética na pesquisa, conforme a Resolução 466/2012 e a Resolução 510/2016, do Conselho Nacional de Saúde. Há um pequeno risco de perda de sigilo e confidencialidade dos seus dados pessoais. Para minimizar esse risco, suas amostras serão codificadas, o que impedirá sua identificação. O sigilo de todas as informações coletadas será garantido, e o acesso será restrito exclusivamente aos pesquisadores responsáveis. A identidade dos participantes será mantida em total confidencialidade. Os procedimentos de coleta de saliva apresentam um risco mínimo à sua saúde, já que você ficará 24 horas sem escovar os dentes, o que pode causar uma leve gengivite temporária. No entanto, esse risco será compensado pela limpeza dentária realizada pelo pesquisador e pelos cuidados posteriores que você tomará em casa. Caso seja necessário algum tratamento odontológico, ele será feito gratuitamente no Consultório Odontológico da UFRGS, sem custo para você, e todas as etapas da pesquisa serão gratuitas.

BENEFÍCIOS: Os benefícios de participar desta pesquisa são indiretos. Sua participação ajudará no entendimento dos dos cremes dentais sem flúor no controle da cárie dentária. Dessa forma, os benefícios estão ligados ao avanço do conhecimento sobre cáries, o que poderá melhorar a prevenção e o manejo clínico dessa condição na população. Indiretamente, isso também pode beneficiar sua própria saúde bucal.

PAGAMENTO: Você não terá nenhum tipo de despesa para participar deste estudo, bem como não receberá nenhum tipo de pagamento por sua participação. Após estes esclarecimentos, solicitamos o seu consentimento de forma livre para que participe desta pesquisa.

Caso tenha qualquer dúvida durante o estudo, você pode entrar em contato com a pesquisadora responsável, Prof. Dra. Sandra Liana Henz, pelo telefone (51) 3308-5092 ou no Departamento de Odontologia Preventiva e Social da Faculdade de Odontologia da UFRGS, localizado na Rua Ramiro Barcelos, 2492, Porto Alegre - RS, CEP: 90035-003. Se necessário, problemas também podem ser reportados diretamente ao Comitê de Ética em Pesquisa da UFRGS pelo telefone (51) 3308-3787 ou pelo e-mail etica@propesq.ufrgs.br.

Os pesquisadores se comprometem a manter a confidencialidade dos dados pessoais dos participantes, e os resultados serão divulgados de forma agregada, sem identificar os indivíduos que participaram do estudo. Você poderá solicitar informações sobre os resultados da pesquisa a qualquer momento. Ao concordar em participar e assinar este termo, você mantém o direito de buscar indenização em caso de danos relacionados à sua participação no estudo. Uma cópia deste documento será entregue a você.

Para tanto, preencha os itens que se seguem:

Desde já, agradecemos a atenção e a participação.

CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Eu,_____, entendi os objetivos desta pesquisa, bem como, a forma de participação. Eu li e compreendi este Termo de Consentimento, portanto concordo em participar.
Local e data:_____

_____

(Assinatura do participante)

Eu, _____, membro da equipe da pesquisa, obtive de forma apropriada e voluntária o consentimento Livre e Esclarecido do sujeito da pesquisa ou representante legal para a participação na pesquisa.

_____

(Assinatura do pesquisador responsável)