UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE MATERIAIS DENTÁRIOS E PRÓTESE

AVALIAÇÃO CLÍNICA DO TEOR RESIDUAL DO PIROFOSFATO TETRASSÓDICO
LIBERADO POR DOIS FIOS DENTAIS PRODUZIDOS COM DIFERENTES MATERIAIS.

Leandro Pereira Corsi

Ribeirão Preto
2008

LEANDRO PEREIRA CORSI

AVALIAÇÃO CLÍNICA DO TEOR RESIDUAL DO PIROFOSFATO TETRASSÓDICO
LIBERADO POR DOIS FIOS DENTAIS PRODUZIDOS COM DIFERENTES MATERIAIS.

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Odontologia, junto ao Departamento de Materiais Dentários e Prótese.

Área de Concentração: Reabilitação Oral

Orientador: Prof. Dr. Vinícius Pedrazzi

Ribeirão Preto

2008

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO DO TEOR TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica elaborada pela Biblioteca Central do Campus Usp - Ribeirão Preto

Corsi, Leandro Pereira

Avaliação clínica do teor residual do pirofosfato tetrassódico liberado por dois fios dentais produzidos com diferentes materiais. Ribeirão Preto, 2008.

101 p. : il. ; 30cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP. Área de Concentração: Reabilitação Oral.

Orientador: Pedrazzi, Vinícius.

1. Fio dental. 2. Pirofosfato tetrassódico. 3. Cromatografia de íons. 4. Cálculo dental. 5. Teor residual. 6. Nylon texturizado. 7. Polipropileno entrelaçado.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Leandro Pereira Corsi

Avaliação clínica do teor residual do pirofosfato tetrassódico liberado por dois fios dentais produzidos com diferentes materiais.

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre.

Área de Concentração: Reabilitação Oral

Aprovado em: ____/____/____

Banca Examinadora:

1) Prof.(a). Dr.(a).: _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

2) Prof.(a). Dr.(a).: _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

3) Prof.(a). Dr.(a).: _____

Instituição: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

DEDICATÓRIA

DEDICO ESTE TRABALHO:

A DEUS,

Pai de todos nós, que em sua imensa bondade, me abençoou para alcançar e vencer mais esta etapa em minha vida. Agradeço ao Senhor por me fazer uma pessoa verdadeira, autêntica, honesta e que busca a cada segundo meus objetivos, sem necessitar me sobrepor aos outros para concretizar meus ideais. Tua proteção e guia divina sempre serão fontes inesgotáveis de inspiração, luta e, conseqüentemente, vitória.

Obrigado, meu senhor, por suas dádivas, antes de tudo, por cada dia em minha vida.

Aos meus pais Donizete e Ângela,

Exemplos de caráter, perseverança, amor incondicional e por me ensinarem o que é ser... humano.

Obrigado pela presença constante e única, presença esta que sempre me incentiva a superar os obstáculos e a lutar pela vida com muito trabalho, sabedoria, perseverança e amor. Fonte de estímulos, que me impulsionam a buscar vida nova a cada dia.

Obrigado por sempre estarem presentes em minha vida, me estimularem, me incentivarem e acreditarem em mim.

Obrigado pelo amor, carinho e dedicação e pelo simples fato de poder me chamar de filho e eu de chamá-los de pais.

Ao meu irmão William,

Por compartilhar de maravilhosos momentos, desde o nosso crescimento até o nosso amadurecimento como pessoas e homens e por ser fonte inundável de alegria e companheirismo. Pelos inúmeros momentos de descontração e por sempre me apoiar e incentivar nessa longa jornada que é a vida.

À minha noiva Gisleine,

Por me ensinar que amar não é algo complicado e que ficar juntos não necessariamente significa “criar problemas”.

Obrigado pelo amor, apoio, compreensão, paciência, carinho e respeito que tens por mim e por me ensinar que a vida a dois se torna uma fonte inesgotável de alegria, prazer, felicidade, conquistas, respeito e eternidade.

Aos meus avós: Maria, Alcino e Rosa,

Pelo incentivo, carinho, respeito e dedicação demonstrados por mim, não só durante a realização deste trabalho, mas em toda minha vida.

Obrigado por criarem seus filhos como eu quero criar os meus.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Agradecimentos especiais:

Ao Prof. Dr. Vinicius Pedrazzi,

Pela experiência e conhecimentos por mim adquiridos durante sua cuidadosa orientação em todas as etapas desta pesquisa e em todas as atividades que desenvolvi neste mestrado. O seu perfil profissional e ético de dedicação e compromisso com o ensino e a verdade científica mostrou-me também um exemplo a ser seguido na carreira docente.

Obrigado pelos conselhos, pela convivência cada dia mais alegre e satisfatória, pela ajuda na tomada de decisões, pelos momentos alegres que compartilhamos juntos, mas principalmente por nunca me deixar esquecer que o ser humano não consegue nada na vida sem respeito, amor, humildade, simplicidade, companheirismo e trabalho.

Obrigado por ser meu orientador e guia em minha vida.

À minha Família,

Minha querida cunhada Camila, todos os tios e tias, primos e primas, pelo amor, carinho e respeito, expressados durante toda minha vida e na realização deste e de outros projetos.

Agradeço também à família de minha noiva, Luis, Cleonice e Michele pelo apoio, compreensão e respeito destinados a mim.

Agradeço a todos os familiares, pois vocês estão em meu coração.

Agradecimentos

À Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo, seus professores e funcionários,

Agradeço a oportunidade de crescimento pessoal e profissional, por tornar o âmbito acadêmico agradável e por me ensinar que a Faculdade oferece sempre o que há de melhor, cabe a cada aluno se dedicar e escolher qual profissional deseja se tornar.

Ao Prof. Dr. Osvaldo Luiz Bezzon,

Diretor da FORP/USP, pela dedicação que demonstra em tornar o departamento e a FORP, lugares de alegria, respeito, trabalho e amizades.

À Dr^a. Sandra Sato,

Agradeço a valiosíssima colaboração na execução desta obra, que foi muito além do auxílio na interpretação dos dados e da análise estatística.

À Acadêmica Thayla Tessa Scarabel,

Membro da equipe, que apresentou um resumo de parte desta pesquisa na forma de painel científico, e nos brindou com o **Primeiro Lugar no Myaki Issao** na 24^a Reunião Anual da SBPq-O.

Ao Prof. Dr. Ricardo Faria Ribeiro, Prof. Dr. Raphael Freitas de Souza e Prof. Dr. José Paulo Ribas,

Pela contribuição na minha formação acadêmica.

À Prof^a. Dr^a. Alma Blásida Concepción Elizaur Benitez Catirse, Prof^a. Dr^a. Cláudia Helena Lovato da Silva e Prof^a. Dr^a. Helena de Freitas Oliveira Paranhos,

Pela contribuição na minha formação acadêmica e ética e pelos momentos alegres compartilhados, não só durante a graduação como na Pós-Graduação.

Aos funcionários do Departamento de Materiais Dentários e Prótese, da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo,

Pelo apoio, dedicação e pelos bons momentos compartilhados.

Aos amigos da Pós-Graduação, Antonio Malheiros, Fabiano Gamero Aguilar, Ingrid Machado, Patrícia Monteiro, Ana Carolina Rosa, Marina Xavier Pisani, Daniela Felipucci, Rodrigo Soares, Rander Macedo, Diogo Cruvinel, Jerônimo Manço de Oliveira Neto e Sandra Sato,

Pela amizade, aprendizado, vivências e experiências compartilhadas.

Aos amigos, Danilo Henrique Lattaro, Fabrício Mariano Mundim, Renato dos Santos Schiavoni, Tamer ScandiuZZi, Guilherme Monteiro, Vinicius Diniz Alves e Flávio Henrique Carriço,

Pela grande amizade iniciada ainda na Graduação.

À Johnson e Johnson do Brasil, em especial à pessoa do Cientista Emílson Ismael Netto,

Meus sinceros agradecimentos pelo fornecimento dos materiais odontológicos, que possibilitaram a realização deste trabalho.

À Capes (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior do Ministério da Educação – MEC),

Pela bolsa de estudo fornecida, que me auxiliou em muito neste momento tão importante de minha vida.

A todos que, de uma maneira direta ou indireta, colaboraram com a realização deste trabalho.

RESUMO

CORSI, LP. **Avaliação clínica do teor residual do pirofosfato tetrassódico liberado por dois fios dentais produzidos com diferentes materiais.** Dissertação (Mestrado em Reabilitação Oral). Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

RESUMO

O objetivo deste estudo clínico foi comparar a influência do tipo de material e da estrutura física de dois fios dentais em liberar pirofosfato tetrassódico, no espaço interdental. Este estudo *crossover* foi conduzido em uma população de 10 indivíduos (ambos os sexos) com faixa etária variando entre 18 e 30 anos. Os sujeitos da pesquisa foram alocados aleatoriamente em uma das seguintes seqüências de uso dos fios dentais: (AB ou BA), onde A = polipropileno entrelaçado e B = nylon texturizado de acordo com o material e a estrutura com que os fios dentais foram produzidos. Cada indivíduo usou uma única vez, perfazendo 6 passadas por área-alvo (sendo definido como área alvo as duas faces interproximais dos dentes contíguos selecionados, ou seja, 3 passadas em cada face) cada fio da seqüência a ele alocada. Antes do uso do primeiro fio dental, assim como entre a permuta de fios, foi realizado um *washout* de uma semana sem fazer uso de qualquer produto que contivesse o princípio ativo (sal anti-tártaro). O fluido gengival das áreas-alvo foi colhido no espaço interdental, com cones de papel absorventes esterilizados (calibre # 35), nos seguintes tempos: (00) antes, (0) logo após; 1, 2, 4, (1, 2 e 4) horas após o uso de cada fio dental. A presença de pirofosfato nas amostras foi verificada por meio de cromatógrafo de íons IC 2000 (coluna AS-11 e pré-coluna AG-11). Os teores de pirofosfato foram comparados entre os dois tipos de fios dentais e entre os tempos de colheita das amostras. O pirofosfato tetrassódico foi detectado no fluido gengival de ambos os grupos em 95% das amostras no tempo 0 – imediatamente após o uso, em 45% das amostras no tempo 1 – após uma hora do uso e em 10% das amostras após 2 horas do uso. Após 4 horas do uso, em nenhuma das amostras foi detectada a presença do princípio ativo em níveis terapêuticos. Conclui-se que a composição do material e a estrutura física dos fios dentais não exerceram influência na liberação e na permanência do agente anti-

tártaro, que permaneceu em níveis terapêuticos por um período de até 2 horas após o uso único.

Descritores: Fio dental; Pirofosfato tetrassódico; Cromatografia de íons; Cálculo dental, Teor residual; Polipropileno entrelaçado e Nylon texturizado.

ABSTRACT

CORSI, LP. Clinical evaluation of the tetrasodium pyrophosphate residual content released by two dental flosses produced with different materials.

Dissertação (Mestrado em Reabilitação Oral). Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2008.

ABSTRACT

The aim of this investigation was to compare the influence of the type of material and the physical structure of two antitartar dental flosses in releasing tetrasodium pyrophosphate in the interdental space. This crossover study involved 10 subjects (both genders) with ages ranging from 18-30 years old. The individuals were randomly assigned to one of the following sequences of use of the dental flosses (AB or BA), where A = tangled polypropylene and B = texturized nylon according to the structures and the materials what the dental flosses were made, forming two groups of five individuals each. Each individual used the floss 6 times in the target areas (defined as both interproximal surfaces of the selected teeth, 3 times in each surface). Before the use of the first dental floss and between the employments of the two flosses, a one week washout period was done without the use of products containing tetrasodium pyrophosphate. The gingival crevicular fluid of the target areas was sampled with sterile paper points (tapering # 35) in the following times: (00) before the use of the dental floss, (0) soon after the use; 1, 2, 4, (1, 2 and 4 hours after the use, respectively). The pyrophosphate contents in the samples were verified using an ion chromatograph IC 2000 (column AS-11 e pre-column AG-11). The contents of pyrophosphate were compared between the two flosses and among the sample collection times. Pyrophosphate was detected in the gingival crevicular fluid of both groups in 95% of the samples soon after their use, 45% after 1h and 10% after 2h of the use. After 4h, none of the samples had pyrophosphate at detectable levels. Both dental flosses released tetrasodium pyrophosphate at therapeutic levels for up to 2 hours after flossing. Based in the results it can be concluded that the material composition and the physical structure of the flosses had no influence in releasing the antitartar agent, which remained in therapeutic levels for a 2 hours period after the single use.

Key words: Dental floss; Tetrasodium pyrophosphate; Ion chromatography;
Dental calculus; Drug residue; Tangled polypropylene; Texturized nylon.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

LISTA DE FIGURAS

FIGURAS REFERENCIADAS NO TEXTO

Figura 1. Estrutura do fio dental composto por polipropileno entrelaçado.....	46
Figura 2. Estrutura do fio dental de nylon texturizado.	46
Figura 3. Embalagens contendo o mesmo fio a ser testado [Polipropileno entrelaçado com (P) e sem (S) o Princípio ativo, respectivamente].	47
Figura 4. Embalagem contendo o mesmo fio dental a ser testado [Nylon texturizado com (P) e sem (S) o Princípio ativo, respectivamente].	47
Figura 5. Escova dental de cabeça pequena, macia, com cerdas de aparagem plana (para não interferir com o biofilme interdental).	48
Figura 6. Creme Dental sem Pirofosfato Tetrassódico (controle) – Suavydent [Indústria e Comércio Floresta Ltda-Epp].	49
Figura 7. Áreas escolhidas para a colheita do fluido gengival.....	50
Figura 8. Cone de papel absorvente e tubo Eppendorf utilizado para colheita do fluido gengival.	52
Figura 9. Cromatógrafo de íons IC 2000.	55
Figura 10. Gradiente previsto pelo sistema cromatográfico.	56
Figura 11. Curva de calibração do cromatógrafo para detecção do pirofosfato tetrassódico.	56
Figura 12. Detecção de pirofosfato tetrassódico nas amostras, divididas por tratamento e tempo	66

LISTA DE TABELAS

LISTA DE TABELAS:

TABELAS REFERENCIADAS NO TEXTO

Tabela 1. Fios testados quanto à eficácia na liberação do princípio ativo para o controle de tártaro.....	51
Tabela 2. Efeitos dos fatores no modelo.....	60
Tabela 3. Porcentagens estimadas da ocorrência da detecção por amostra e tempo.....	61
Tabela 4. Identificação do princípio ativo no grupo A - pirofosfato solúvel.....	61
Tabela 5. Identificação do princípio ativo no grupo a após crossover - pirofosfato solúvel.....	62
Tabela 6. Identificação do princípio ativo no grupo B - pirofosfato solúvel.....	62
Tabela 7. Identificação do princípio ativo no grupo B após crossover - pirofosfato solúvel.....	63
Tabela 8. Efeitos dos fatores no modelo.....	63
Tabela 9. Identificação do princípio ativo no grupo A - pirofosfato tetrassódico...	64
Tabela 10. Identificação do princípio ativo no grupo A após crossover - pirofosfato tetrassódico.....	64
Tabela 11. Identificação do princípio ativo no grupo B - pirofosfato tetrassódico..	65
Tabela 12. Identificação do princípio ativo no grupo B após crossover - pirofosfato tetrassódico.....	65

SUMÁRIO

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	25
2. REVISTA DA LITERATURA.....	28
2.1. Histórico.....	29
2.2. Biofilme dental.....	30
2.3. Controle do biofilme dental	34
3. PROPOSIÇÃO	40
4. MATERIAL E MÉTODOS	42
4.1. Critérios de inclusão no estudo.....	43
4.2. Critérios de exclusão do estudo	43
4.3. Metodologia da pesquisa.....	44
4.4. Métodos para análise dos dados.....	57
5. RESULTADOS.....	59
5.1. - Detecção do Teor Residual do Pirofosfato	60
5.2. - Medida do Teor Residual do Pirofosfato Tetrassódico	63
6. DISCUSSÃO	67
7. CONCLUSÕES	79
REFERÊNCIAS.....	81
ANEXOS	90
APÊNDICES.....	94

1. Introdução

1. INTRODUÇÃO

Desde os tempos mais remotos da civilização humana, a estética sempre foi fator de socialização. Atualmente é imprescindível na conquista do sucesso de qualquer ser humano, entendendo-se sucesso nos níveis pessoal, profissional, econômico ou social. Em relação aos dentes, a estética se refere à brancura, dentes bem posicionados, limpos e harmônicos.

Entretanto alguns fatores como alimentação, hábitos, condições de higiene e traumatismos dentais podem ocasionar alterações na coloração dental e, conseqüentemente, afetar a beleza do sorriso.

A correta limpeza dos dentes é o meio mais eficiente disponível presentemente para a prevenção da gengivite, periodontite e cáries. Seqüencialmente, dever-se-ia promover:

- a) Ensino da higiene oral ao paciente;
- b) Remoção máxima da placa bacteriana (biofilme dental), mineralizada ou não, por meio da escovação com o auxílio de um dentífrico (NEWBRUN, 1988; THYLSTRUP, 1988).

Nesse sentido, surgem no mercado mundial, novos materiais dentários preventivos e correlatos, com a indústria acompanhando essa tendência, lançando produtos tradicionais com agentes inovadores (PEDRAZZI et al., 2004).

Com relação aos dentífricos dotados de agentes anti-cárie, anti-gengivite e anti-tártaro, é cada dia maior a gama de opções nas prateleiras, com

agentes físicos e químicos altamente eficientes. Cores, formas e sabores dão a tônica na busca e promessa de conquistar a estética ideal.

Paralelamente a esse inegável avanço alcançado pelos dentifrícios, escovas e fios dentais também têm sido desenvolvidos no sentido de conduzir os benefícios obtidos com os mesmos até aos espaços interdentais.

Não obstante, há que se ressaltar os riscos e benefícios da utilização desses produtos. Teriam mesmo a competência rotulada? Estariam ainda mantendo as características básicas para o controle da placa bacteriana (biofilme dental)? A ação anti-tártaro teria efeito duradouro?

Estas e outras indagações a respeito da efetividade destes agentes para a promoção da saúde oral, no contexto do bem estar físico, mental, social e espiritual, conduziram à necessidade de desenvolver este trabalho, a fim de verificar se as novas construções dos fios dentais, designados para conter agentes anti-tártaro, podem propiciar liberação e efeito duradouro do princípio ativo no sítio aplicado.

2. Revista da Literatura

2. REVISTA DA LITERATURA

2.1. Histórico

Alguns hábitos de higiene bucal faziam parte do costume de determinados povos desde a antiguidade. O antigo testamento cita que os Hebreus já se referiam à importância dos dentes limpos e sadios, cultuando a estética e principalmente a manutenção da saúde oral e sistêmica (RING, 1998).

Celso (25 a.C. – 50 d.C.), um escritor Romano, salientou em algumas de suas obras a necessidade da higienização bucal, explicitando que as superfícies dentárias que se apresentavam escurecidas, deveriam ser raspadas e esfregadas com uma mistura de pétalas de rosas trituradas, galhas e mirra, e em seguida realizar bochechos com vinho puro (RING, 1998).

Os Romanos de classe alta quando recebiam convidados para a ceia, colocavam na mesa, além dos talheres e taças, palitos de metal, com a finalidade de realizar a higienização dental interproximal (SILVA et al., 2003).

O fio dental, produto indispensável para a higienização dental regular, foi desenvolvido por um dentista de Nova Orleans, denominado Levi Spear Parmly (1790-1859), no ano de 1815. Ele recomendava aos indivíduos que o procuravam utilizarem o fio dental, confeccionado com seda, logo após as refeições. No entanto, Levi desenvolveu o fio dental em pequenas quantidades e

recomendava apenas a seus pacientes (CONSELHO FEDERAL DE ODONTOLOGIA, 2007).

A produção em escalas industriais dos fios dentais se iniciou com a empresa Codman & Shurtleff em 1888. No ano de 1898, a empresa Johnson & Johnson passou a ter a primeira patente do fio dental (CONSELHO FEDERAL DE ODONTOLOGIA, 2007).

Durante esse século mencionado, o fio dental produzido era confeccionado exclusivamente com seda, diferentemente dos fios que são utilizados em maiores escalas atualmente.

Após a Segunda Guerra Mundial, o uso do fio dental se disseminou. Foi nessa época que Charles C. Bass desenvolveu o fio de nylon, que apresentava uma qualidade maior, possuindo maior resistência ao desfibramento e flexibilidade em comparação ao fio de seda.

Segundo o Conselho Federal de Odontologia (2007), há atualmente no mercado uma grande variedade de tipos, marcas e sabores. No Brasil, o consumo do fio dental já passa de um milhão de metros por ano.

2.2. Biofilme dental

A placa bacteriana (biofilme dental) forma-se em dois estágios: no primeiro, as glicoproteínas dissolvidas na saliva aderem-se à superfície dental, auxiliadas pelas valências negativas do ácido siálico, e assim formam a película primária ou adquirida, visto que o ácido siálico polariza-se com a superfície dental eletricamente positiva (cristais de hidroxiapatita). No segundo estágio, denominado colonização, as bactérias, em especial o *S. mutans*, iniciam a

colonização da película primária (MENAKER, 1984; NEWBRUN, 1988; THYLSTRUP, 1988).

Estas bactérias iniciais sintetizam o dextrano, um hidrato de carbono de alto peso molecular (polímero extracelular) que, agindo como uma verdadeira "cola", fixa as bactérias na superfície do dente, formando, então, a placa bacteriana. Esta placa não sendo removida e, sob a ação dos sais minerais da saliva, mineraliza-se nas suas estruturas mais profundas, dando origem ao cálculo (MENAKER, 1984; NEWBRUN, 1988; THYLSTRUP, 1988).

Segundo Kleber et al. (1998) o cálculo dental é uma substância resistente e dura, resultante da mineralização da placa bacteriana, que se acumula nos dentes de muitos adultos, e é considerado desagradável pelo ponto de vista estético. Conseqüentemente, substanciais esforços estão sendo direcionados para sua remoção e prevenção.

Assim, na superfície de todo cálculo, existe sempre uma placa bacteriana em atividade e é por este motivo que na análise da etiologia da cárie e da doença periodontal fala-se somente na placa bacteriana (MENAKER, 1984; NEWBRUN, 1988; THYLSTRUP, 1988; PEDRAZZI et al., 1999).

Em condições normais, o dente se desmineraliza e remineraliza dinamicamente, trocando íons com a saliva, de acordo com a queda do pH bucal abaixo do limite crítico (4,5) e com o seu restabelecimento posterior devido aos tampões salivares.

A placa bacteriana representando uma barreira facilita a desmineralização, pois coloca os radicais ácidos diretamente em contato com a superfície do dente e, depois, impedindo o contato da saliva com a superfície dental, bloqueia a remineralização, criando condições para a instalação da cárie. Essa placa madura libera enzimas, endotoxinas e substâncias antigênicas, as

quais causarão inflamação, perda dos tecidos de sustentação e reações imunológicas nos tecidos periodontais de proteção e sustentação (NEWBRUN, 1988; ROSLING; LINDHE, 1988).

Até a primeira metade dos anos 60, havia uma preocupação com a placa bacteriana em si, sem atentar para um ou outro microrganismo. Hoje prevalece a "TEORIA DA PLACA ESPECÍFICA", visto que nem toda placa é potencialmente cariogênica e/ou periodontopatogênica (NEWBRUN, 1988).

A doença periodontal é uma reação inflamatória dos tecidos de sustentação dentais (ligamentos, osso e cimento) frente à placa bacteriana periodontopatogênica. As reações que ocorrem nos tecidos periodontais são complexas, envolvendo antígenos bacterianos (Ag) e uma gama de imunoglobulinas (Ig) específicas à doença periodontal. Já existem testes, como o BANA, com o qual, caracterizadas as enzimas presentes na inflamação, torna-se possível quantificar a intensidade do processo inflamatório periodontal (GRISI, 1990).

Assim, a doença periodontal apresenta estágios ou graus de comprometimento e o conhecimento destas fases da doença é fundamental para a sua prevenção e tratamento (GRISI, 1990).

A placa bacteriana é um dos numerosos biofilmes existentes no corpo humano, encontrado na cavidade oral e difícil de eliminar. É constituída de 400 a 1000 espécies bacterianas (SVOBODA et al., 2004).

O acúmulo do biofilme dental cria um nicho ecológico, onde cada espécie bacteriana pode crescer, desenvolver e se multiplicar e conseqüentemente promover o desenvolvimento de uma microbiota periodontal patogênica e consecutivamente afetar os tecidos de suporte de um ou mais elementos dentais (SVOBODA et al., 2004).

É sabido assim que o biofilme dental é o causador de diversas doenças bucais, tais como a doença cárie e a doença periodontal em suas fases iniciais e mais comprometedoras (SVOBODA et al., 2004).

As enfermidades bucais mediadas pela ação do biofilme dental estão entre aquelas que mais incomodam os seres humanos, afetando severamente o bem-estar e a qualidade de vida da população (MEZZOMO et al., 1997).

Um estudo recente de Thien-Fah Mah (2003) mostrou que alguns microrganismos como *Pseudomonas aeruginosa* desenvolvem uma resistência aos antibióticos muito mais complexos quando crescem sob a forma de biofilme que quando colocados em cultura única. Aplicado à cavidade oral, é possível comparar a placa dental com um verdadeiro "tecido bacteriano" cuja virulência é muito superior a uma simples associação de bactérias.

Somando a isso, estudos recentes vem demonstrando uma relação entre pessoas portadoras de doenças periodontais e o risco aumentado destas apresentarem um ataque cardíaco ou outras doenças cardíacas coronarianas, como a arteriosclerose (BECK et al., 1998 ; DANESH et al., 1997).

Ridker et al. (2000) e Choi et al. (2002) estudaram o papel do processo inflamatório na patogenia da arteriosclerose e conseqüentemente nas doenças cardíacas coronarianas. Alguns marcadores inflamatórios como a proteína C reativa, fibrinogênio e leucócitos são encontrados significativamente e em altos níveis em pessoas com gengivite severa ou peridontite. Somando-se a isso, foram encontrados em placas arteroscleróticas alguns anticorpos específicos para o microrganismo *P. gingivalis*, encontrados unicamente na cavidade bucal, o que nos sugere que as doenças periodontais podem contribuir para a formação de ateromas em alguns indivíduos.

2.3. Controle do biofilme dental

A prevenção contra a formação da placa bacteriana pode ser feita pela simples conscientização de uma higienização dental regular satisfatória com a finalidade de remover a placa antes de sua mineralização (KLEBER et al., 1998).

Em face dessa busca por soluções referentes às doenças bucais causadas pela presença da placa bacteriana, surgem no mercado mundial diversos agentes antibacterianos, sejam embutidos na formulação de fios/fitas dentais, dentifrícios, ou até mesmo em enxaguatórios bucais, sendo essenciais para o controle e conseqüente redução dessas doenças bucais.

Focalizando a placa bacteriana como o agente causador da cárie e da doença periodontal, fica evidenciada a importância que devem ter os dentifrícios nos dias atuais, e, dado que outras fontes de eliminação ou diminuição do agente "placa dental" são ainda incipientes, como a fluoretação das águas de abastecimento e a ação da Saúde Pública na Educação como um todo, é significativo que se explorem os hábitos e os costumes da nossa população na escovação dos seus dentes (PANZERI et al., 1995).

O controle da placa bacteriana envolve diversos mecanismos, como escovação dental, o uso de fio/fita dental, o uso de enxaguatórios bucais, entre outros. O controle químico do biofilme dental deve-se principalmente por causar uma desorganização na formação desse sistema, isso principalmente quando de produtos a base de fluoreto e pirofosfato, que quando associados apresentam, efeitos antibacterianos excelentes (BUSSHER et al., 2006).

Muitas vezes a escovação dental isolada é insuficiente, pois não remove a placa interdental por completo, sendo necessária a utilização de alguns dispositivos auxiliares, tais como: fios/fitas dentais, escovas dentais interproximais, enxaguatórios bucais, entre outros (SILVA et al., 2003).

Segundo a American Dental Association (1991), a escovação dental não é capaz de remover a placa bacteriana por completo, por isso há a recomendação da associação com o uso do fio/fita dental e enxaguatórios bucais diariamente.

O emprego do conjunto escova dental/dentifrício, quando desvinculado do uso do fio dental, mostra-se ineficaz na remoção do biofilme interdental. Isso pode ser comprovado pela simples observação da disposição dos dentes nos arcos maxilares (AMERICAN DENTAL ASSOCIATION, 1991; BERGENHOLTZ; OLSSON, 1984; CLARK et al, 1974; CONCIL ON DENTAL THERAPEUTICS, 1984; FINKELTEIN; GROSSMAN, 1979; GERMO; FLOTRA, 1970; HOROWITZ et al., 1977; PANZERI et al., 1995).

O fio dental, à semelhança dos dentifrícios e das escovas dentais, vem sofrendo, ao longo dos anos, sensíveis melhoras no seu desempenho e alterações das matérias-primas com que é preparado, para alcançar uma efetividade plena na remoção do biofilme da área interdental. (ABELSON et al., 1981; AMERICAN DENTAL ASSOCIATION, 1991; BERGENHOLTZ; OLSSON, 1984; PADER, 1988; PANZERI et al., 1995; THORNTON; STEWART, 1978; WONG; WADE, 1985; WRIGHT et al., 1977).

Com essa finalidade é que vem ocorrendo a adição de substâncias químicas, como o pirofosfato e o triclosan, para controle da placa bacteriana e conseqüentemente redução da formação de cálculo dental, além de contribuir para a prevenção de doenças gengivais.

O emprego regular de dentifrícios utilizados para a higienização oral, que possuem em sua formulação o sistema pirofosfato/triclosan, pode proporcionar uma redução na formação de placa bacteriana de até 15,4% (GROSSMAN et al., 2002).

O uso de dentifrícios que contêm em suas formulações agentes anti-tártaro, como o pirofosfato, é imprescindível na redução da formação do biofilme dental, podendo resultar numa diminuição de até 22-23% do aparecimento quando comparados com dentifrícios que não possuem agentes anti-tártaros em sua formulação (FAIRBROTHER et al., 1997).

Sowinski et al. (2000) comprovou em seus estudos a efetividade na inibição da formação de cálculos dentais supra-gengivais quando da utilização de dentifrícios contendo pirofosfato solúvel em sua composição, podendo chegar a 31% essa redução.

Segundo McClanahan et al. (2002), alguns dentifrícios que contêm em suas composições agentes anti-tártaro como pirofosfato e triclosan podem proporcionar uma redução na formação de inflamação gengival ou gengivite em até 15%, quando comparados a dentifrícios sem esse princípio ativo, ou seja, dentifrícios placebos.

Os benefícios clínicos dos dentifrícios no controle e na prevenção da formação de cálculo dental não incluem somente redução na formação destes, mas também proporcionam uma maior facilidade do Cirurgião-dentista na fase de remoção destes tecidos calcificados durante a profilaxia dental (WHITE et al., 1996).

Mesmo com a adição de agentes anti-tártaro na composição dos dentifrícios, há que se ressaltar que esse método por si só não é eficaz para remover o biofilme dental completamente, sendo necessária à associação com o

uso dos fios e escovas dentais para a remoção de uma quantidade elevada de placa bacteriana, sobretudo nas áreas interproximais dos dentes.

Segundo a literatura, nas dentições relativamente normais em que o espaço interdental é preenchido com a papila dental, o fio é efetivo na remoção de 80% do biofilme interdental. (ABELSON et al., 1981; AMERICAN DENTAL ASSOCIATION, 1991; COUNCIL ON DENTAL THERAPEUTICS, 1984; HILL et al., 1973; LAMBERT et al., 1982; PADER, 1988; REITMAN et al., 1980 ; SIDI, 1989).

Corretamente utilizado, o fio dental pode remover até 80% da placa bacteriana interdental, além de poder ser inserido subgengivalmente, 2 a 3 mm abaixo da papila gengival, levando a essa região produtos farmacológicos (SVOBODA et al., 2004).

Quanto à apresentação dos fios dentais, essa é variada, podendo ser encerada ou não, embora não haja na literatura, resultados evidentes que uma ou outra forma apresente eficácia maior (SVOBODA et al., 2004).

Segundo Pader (1988), o fio/fita dental é o melhor meio de higiene nos espaços interdentais, principalmente naqueles casos de espaços menores (Classe I de Carranza), e ainda pode conduzir e impregnar a superfície dental com fluoreto abaixo ou acima da papila gengival, incluindo toda a superfície interproximal dos dentes contactantes.

Dada sua natureza e frente às novas técnicas de construção, o fio e a fita dentais podem atuar como veículos ou meios potenciais para conduzir os princípios ativos comuns em dentifrícios e enxaguatórios bucais até ao espaço interdental, onde o conjunto escova/dentifrício tem pouca efetividade de atuação. (ABELSON et al., 1981; BERGENHOLTZ; OLSSON, 1984; BOHRER et al., 1983; CHAET; WEI, 1977; REITMAN et al., 1980; WONG; WADE, 1985).

O fio/fita dental impregnado com íons fluoreto pode servir como fonte deste na superfície interproximal dos dentes humanos, proporcionando um efeito anti-cárie essencial no combate a essa doença específica (BOHRER et al., 1983).

A ação do fio/fita dental, devido à sua capacidade de remover depósitos e de friccionar o agente terapêutico na região, pode ser autopotencializada, acrescentando-se a isso o fato de que a papila gengival pode proporcionar um meio de absorção e veiculação interna dos agentes terapêuticos (GERMO; FLOTRA, 1970; HILL et al., 1973; JORGENSEN et al., 1989; LAMBERT et al., 1982; PANZERI et al., 1995).

O fio dental composto por nylon texturizado contendo o pirofosfato tetrassódico embutido em sua composição reduz significativamente a formação de cálculo dental supra-gengival no espaço interdental em até 37% (KLEBER et al., 1998).

Há que se ressaltar que esses produtos, embora constituídos por excelentes materiais e contendo agentes terapêuticos em sua composição, só terão a eficácia desejada se os pacientes possuírem uma motivação inicial para realizar a higiene oral, e é nesse momento que deve iniciar o trabalho do Cirurgião-dentista (WHITE; GERLACH, 2000).

Há que se salientar a importância da prevenção no combate a certas doenças bucais que podem se instalar na cavidade oral de um indivíduo. Essa deve ser realizada através de um esforço diário e contínuo e direcionada ao contexto social e ao convívio do indivíduo com a sociedade (LOPEZ et al., 2007).

Essa prevenção deve ser feita de maneira adequada e seguindo alguns passos imprescindíveis: Escovação dental, dieta adequada e uso de dentifício que contenha agentes preventivos, ou seja, contendo fluoretos (LOPEZ et al.,

2007). Acrescente-se o uso do fio dental imediatamente antes de cada escovação.

A utilização dos fios dentais deve ser ensinada pelos Cirurgiões-dentistas com demonstrações de apoio e ser realizadas pelos pacientes sempre na frente de um espelho, e a explicação da importância de seu uso é imprescindível (SVOBODA et al., 2004).

O progresso recente na elaboração dos fios/fitas dentais e dos materiais que os compõem justifica a realização do presente trabalho, quanto à sua eficácia na liberação do princípio ativo para o controle de tártaro e na duração do efeito residual. Os dois fios dentais utilizados neste trabalho são fabricados, um com polipropileno entrelaçado e outro com nylon texturizado.

3. Proposição

3. PROPOSIÇÃO

O objetivo deste estudo clínico randomizado, desenvolvido como ensaio *crossover*, foi comparar a eficácia na liberação e na duração do teor residual do princípio ativo (pirofosfato tetrassódico), empregado para o controle de tártaro, de dois fios dentais com diferentes estruturas de fabricação: Reach® PE (com polipropileno entrelaçado) e Reach® NT (com nylon texturizado).

Especificamente, foram avaliados:

- Eficácia na liberação do princípio ativo no sulco gengival pelos dois tipos de fio;
- Tempo de permanência do princípio ativo pós o uso único, avaliada nos tempos:
 - 00 - antes do uso dos fios dentais;
 - 0 - imediatamente após o uso;
 - 1 - 1 hora após o uso;
 - 2 - 2 horas após o uso e
 - 4 - 4 horas após o uso.

4. Material e Métodos

4. MATERIAL E MÉTODOS

Para o desenvolvimento deste trabalho, foi estabelecido um estudo duplo cego, randomizado e desenvolvido como ensaio *crossover*, de modo que nem os participantes nem os examinadores tinham o conhecimento da distribuição dos produtos testados. A seleção dos indivíduos para participar da pesquisa foi baseada em alguns critérios, entre eles:

4.1. Critérios de inclusão no estudo

- Homens e mulheres, com faixa etária entre dezoito e trinta anos;
- Boas condições de saúde sistêmica e oral;
- Possuir os dentes escolhidos para o estudo na cavidade bucal;
- Aquiescerem e assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido.

4.2. Critérios de exclusão do estudo

- Indivíduos com má higiene oral e portadores de cálculos dentais supra e sub-gengivais;
- Indivíduos possuidores de aparelhos ortodônticos fixos;

- Voluntários portadores de Próteses Parciais Fixas (PPF);
- Indivíduos portadores de Próteses Parciais Removíveis (PPR);
- Indivíduos possuidores restaurações interproximais;
- Voluntários que apresentavam o hábito de tabagismo;
- Indivíduos que possuíam o hábito de etilismo;
- Indivíduos com complicações sistêmicas, como Diabetes, Hipertensão arterial, Hepatite, AIDS e Tuberculose;
- Voluntários realizando tratamento de Quimioterapia e/ou Radioterapia, uma vez que nessas situações a quantidade de saliva e o sangramento provocado encontram-se alterados;
- Voluntários fazendo uso de antibióticos, antiinflamatórios, antidepressivos, anticoagulantes, anti-histamínicos, beta-bloqueadores, diuréticos e esteróides, inibidores das MAO (monoaminoxidases), pois a utilização desses medicamentos poderia interferir nos resultados do trabalho.

4.3. Metodologia da pesquisa

Este trabalho envolveu 10 voluntários, com faixa etária entre dezoito e trinta anos, os quais foram submetidos a um experimento *crossover* estruturado através de um quadrado latino 2x2 (duas seqüências de dois produtos, replicado quatro vezes), ou seja, duas seqüências de dois fios dentais que através da metodologia *crossover*, foram utilizados quatro vezes, tanto no grupo A (polipropileno entrelaçado) quanto no grupo B (nylon texturizado).

Duas diferentes seqüências de fios dentais foram alocadas aleatoriamente aos indivíduos incluídos no estudo, através de um programa gerado por computador, formando dois grupos de cinco indivíduos cada, de modo que todos participantes utilizaram os diferentes fios dentais em diferentes períodos de tempo. Cada indivíduo usou uma única vez, perfazendo 6 passadas por área-alvo (sendo definido como área alvo as duas faces interproximais dos dentes selecionados, ou seja, 3 passadas em cada face) cada fio da seqüência a ele alocada.

Os fios dentais testados apresentavam diferentes estruturas físicas (trama do tecido) e distintas formas de introdução do pirofosfato tetrassódico. No fio dental produzido com nylon texturizado, a introdução do princípio ativo é feita apenas por simples imersão do fio numa solução contendo o princípio ativo, diferentemente do fio dental fabricado com polipropileno entrelaçado, onde a inserção do princípio ativo é obtida com uma cera micro-cristalina que contém além do princípio ativo estudado, agentes de sabor de longa duração. As figuras 1 e 2 exibem a estrutura dos fios dentais testados, e as figuras 3 e 4 contêm as embalagens codificadas dos fios dentais.

Fig. 1. Estrutura do fio dental composto por polipropileno entrelaçado.

Fig. 2. Estrutura do fio dental de nylon texturizado.

Fig. 3. Embalagens contendo o mesmo fio a ser testado [Polipropileno entrelaçado com (P) e sem (S) o Princípio ativo, respectivamente].

Fig. 4. Embalagem contendo o mesmo fio dental a ser testado [Nylon texturizado com (P) e sem (S) o Princípio ativo, respectivamente].

O pirofosfato tetrassódico, cuja fórmula estrutural é $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$, é um sal inorgânico, de pH ligeiramente alcalino, constituído principalmente por pó ou grânulos brancos. É um sal levemente tóxico e medicamente irritante. Presente em alguns materiais dentários preventivos e correlatos atua como agente no controle da formação do cálculo dental (PERRY; PHILLIPS, 1995).

Antes de iniciar o uso do primeiro fio, assim como entre a troca de fios, foi realizado um *washout* de uma semana sem fazer uso de qualquer produto que contivesse o princípio ativo (pirofosfato tetrassódico). O objetivo desse período de

washout foi de eliminar qualquer resquício de princípio ativo que pudesse existir na cavidade bucal dos voluntários.

No momento da entrega dos produtos aos indivíduos, esses foram alocados de maneira aleatória, assim sendo, receberam um dos fios codificados e o conjunto escova dental/dentífrício de acordo com um estudo tipo *crossover* com 2 tipos de fio dental (ver, por exemplo: Cochran e Cox (1957), pp. 127 e seguintes, e Jones e Kenward (2003)). Cada uma das seqüências de fios dentais: 1. (A,B); 2. (B,A); foi alocada aleatoriamente a 5 indivíduos.

Os produtos alocados aos indivíduos neste período de *washout* foram: (Escova dental Johnson & Johnson cabeça pequena, macia, com cerdas de aparagem plana / Creme dental Suavident [Indústria e Comércio Floresta Ltda-Epp] – sem pirofosfato tetrassódico e o mesmo fio dental a ser usado, porém sem o princípio ativo incorporado), conforme demonstrado nas figuras 5 e 6.

Fig. 5. Escova dental de cabeça pequena, macia, com cerdas de aparagem plana (para não haver interferência com o biofilme interdental).

Fig. 6. Creme Dental sem Pirofosfato Tetrassódico (controle) – Suavydent [Indústria e Comércio Floresta Ltda-Epp].

Após esse período de *washout* realizou-se a primeira etapa da pesquisa, ou seja, a primeira colheita do fluido gengival interdental.

As respostas do experimento foram as médias dos valores dos teores de pirofosfato tetrassódico medidos em cada paciente, antes e depois da aplicação do fio dental, nos tempos 00 (antes), onde foi colhida amostra do fluido gengival antes do uso dos fios dentais, 0 (imediatamente após o uso), 1 (1 hora após), 2 (2 horas após) e 4 (4 horas após o uso).

Após a passagem do fio dental nos sítios específicos, o fluido gengival interdental foi colhido com cones de papéis absorventes esterilizados (calibre # 35), escolhidos após ensaio piloto pré-clínico, uma vez que pelo diâmetro do cone de papel, cones menores iriam se deformar e se contaminar com fluido gengival e cones maiores iriam ferir o tecido gengival e haveria a contaminação com sangue e outros fluidos bucais.

Para cada vinte cones de papel absorvente utilizados para colher o material do fluido gengival, 5 cones eram retirados das embalagens e levados diretamente a um tubo de Eppendorf (grupo controle negativo) para fins de calibração do cromatógrafo de íons.

Foi condição seletiva aos voluntários possuírem, pelo menos, os seguintes dentes em contato entre si: Incisivos Centrais, Incisivos laterais e

caninos e segundos pré-molares e primeiros molares, todos os dentes superiores, como demonstrados na figura 7.

Fig. 7. Áreas escolhidas para a colheita do fluido gengival.

O projeto de estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Humanos da FORP/USP, **Processo nº. 2005.1.657.58.8** (Anexo I). Todos os participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo II) antes do início da etapa clínica.

A Tabela 1 contém alguns dados concernentes à procedência dos fios (fabricante), e ao material que compõe os mesmos. Distingue, ainda, cada fio para um diferente grupo, os quais foram testados por todos os 10 sujeitos da pesquisa. Ambos os fios continham 11mg de pirofosfato tetrassódico por dezoito polegadas de fio, o que corresponde a aproximadamente 11mg do princípio ativo a cada quarenta e seis cm (45,72cm). Assim, em 3 cm, que corresponde ao

espaço utilizado por cada passada de fio no teste, teríamos 0,72 mg de pirofosfato tetrassódico.

Tabela 1 - Fios testados quanto à eficácia na liberação do princípio ativo para o controle de tártaro.

GRUPO	FIO TESTADO	FABRICANTE	COMPOSIÇÃO
A	Reach® PE	Johnson & Johnson	Polipropileno Entrelaçado
B	Reach® NT	Johnson & Johnson	Nylon Texturizado

Após uma semana de período de *washout* os voluntários receberam o mesmo fio dental que foi distribuído de maneira aleatória na semana anterior, onde foi realizada a etapa clínica do estudo.

Para possibilitar uma padronização da maneira em que era feita a passagem do fio dental nos sítios específicos, o mesmo examinador realizou as passagens dos fios dentais em todos voluntários, utilizando-se de EPI (Equipamento de Proteção Individual) com troca de luvas após examinar cada sujeito da pesquisa. Foi colhido o fluido gengival interdental por meio de cone de papel absorvente esterilizado de número 35 – Fig. 8 - nas 5 regiões selecionadas para o estudo (Fig. 7), e os cones contendo o fluido colhido foram inseridos em recipientes específicos, os tubos de Eppendorf – Fig. 8, e enviados ao laboratório específico para a realização da cromatografia iônica.

Os sujeitos da pesquisa foram submetidos à utilização do fio dental testado nos espaços interdentais selecionados, à razão de 6 passagens por

espaço interproximal. Após o uso do fio dental, foi colhido o fluido das áreas-teste nos seguintes intervalos de tempo:

Tempo 00 = antes do uso do fio dental

Tempo 0 = logo após o uso do fio dental;

Tempo 1 = 1 hora após o uso do fio dental;

Tempo 2 = 2 horas após o uso do fio dental e

Tempo 4 = 4 horas após o uso do fio dental.

Fig. 8. Cone de papel absorvente e tubo Eppendorf utilizado para colheita do fluido gengival.

Consecutivamente à primeira colheita do fluido gengival, os pacientes foram orientados ao uso diário e por um período de uma semana do conjunto escova/dentífrico e fios dentais placebos (polipropileno entrelaçado e nylon texturizado sem princípio ativo) fornecidos para cada ensaio do uso do fio dental

estabelecido para o trabalho, com os fios dentais testados alternadamente, pelo método *crossover* preconizado.

Após uma semana de uso desses produtos foi feita a segunda colheita do fluido gengival interdental e esses cones contendo o princípio ativo foram encaminhados ao laboratório para análise cromatográfica, a exemplo da primeira colheita.

Os tubos de Eppendorf foram enviados ao Laboratório Analytical Solutions, sob coordenação do Dr. Glauco Bauerfeldt - Químico, DSc. Coordenador de Laboratórios da Analytical Solutions S.A., sito à Rua Cubatão, 1088 - Vila Mariana – São Paulo – SP, onde os cones contendo o fluido gengival interdental de cada indivíduo foram analisados por meio de cromatografia de íons (Dionex IC 2000, Sunnyvale, Califórnia, EUA) usando gerador de eluente KOH EG40, supressora de condutividade ASRS ultra 4 mm a 174mA, coluna analítica AS-11 e pré-coluna AG-11, como demonstra a figura 9.

A cromatografia se origina do grego “Chroma” – cor e “Grafein” – escrita. É um método de separação de misturas e identificação de seus componentes. Esta separação depende da diferença entre o comportamento dos analitos entre a fase móvel e a fase estacionária. A interação dos componentes da mistura com estas duas fases é influenciada por diferentes forças intermoleculares, incluindo iônica, bipolar, apolar, e específicos efeitos de afinidade e solubilidade.

A cromatografia pode ser conceituada como um método físico-químico de separação, no qual os constituintes da amostra a serem separados são particionados entre duas fases, uma estacionária, geralmente de grande área, e a outra um fluido insolúvel na fase estacionária, que percola através da primeira (CIOLA, 1998).

Esta técnica compreende um conjunto de equipamentos especiais, que se caracterizam por terem os seguintes componentes:

- 1- Reservatório e sistema de bombeamento da fase móvel
- 2- Sistema de introdução da amostra – injetor
- 3- Sistema analítico – coluna cromatográfica e termostato das colunas
- 4- Sistema de detecção (nesse caso, um detector UV foi usado)
- 5- Sistema de registro e tratamento de dados - integrador.

De maneira simplificada, o funcionamento do aparelho ocorre da seguinte forma: o solvente que se encontra no reservatório é bombeado com o auxílio da bomba através do sistema de introdução da amostra até a coluna cromatográfica. Nela, efetua-se a separação dos componentes da mistura de acordo com a natureza da fase móvel, fase estacionária e a natureza dos componentes analisados. A fase móvel sai da coluna e passa por um sistema de detecção, onde são detectadas alterações de alguma propriedade física específica. Esta variação é transformada em sinal elétrico, que é convenientemente registrado e tratado matematicamente por um processador. O gráfico obtido se chama cromatograma. O aparelho utilizado para a realização da cromatografia está representado na Figura 9.

Fig. 9. Cromatógrafo de íons IC 2000.

Após a realização da cromatografia de íons e da identificação do princípio ativo, foram obtidas as Figuras 10 e 11 que representam, respectivamente, o gradiente cromatográfico previsto no ensaio e a curva de calibração para a detecção do pirofosfato tetrassódico, gerados pelo cromatógrafo de íons.

Fig. 10. Gradiente previsto pelo sistema cromatográfico.

Na corrida cromatográfica, não foi utilizado aumento da temperatura do forno, mantendo-se esse parâmetro em 30 °C. Nestas condições, o pirofosfato tetrassódico apresenta tempo de retenção na faixa de 13.6 minutos (Fig. 11).

Fig. 11. Curva de calibração do cromatógrafo para detecção do pirofosfato tetrassódico.

Tendo como **LD** (limite de detecção) 10µg/L e **LQ** (limite de quantificação) 20µg/L.

Em relação à curva de calibração, temos que um padrão de 1000mg/L foi produzido a partir do produto comercial (VETEC) de pureza 99%. A curva de calibração foi preparada por diluições sucessivas dessa solução estoque, gerando os pontos de 0,01, 0,02, 0,05, 0,1, 0,5 e 1,0 mg/L.

Para o preparo das amostras, os cones foram transferidos para um balão volumétrico e avolumados para 10 mL com solução de KOH 50 mm. A solução permaneceu por 30 minutos em ultra-som e, após esse período, foi decantada e filtrada. Finalmente, o conteúdo foi transferido para um *vial* de 5mL e injetado no IC (cromatógrafo de íons).

A coluna utilizada foi Nova-Pak analítica AS-11 e pré-coluna AG-11, de 300mm de comprimento e 3,9mm de diâmetro interno, com partículas de tamanho igual a 4µm.

4.4. Métodos da análise dos dados

As respostas do experimento foram as médias dos valores dos teores de pirofosfato tetrassódico medidos em cada paciente, antes e depois da aplicação do fio dental, nos tempos 00 (antes), onde foi colhida amostra do fluido gengival antes do uso dos fios dentais, 0 (imediatamente após o uso), 1 (1 hora após), 2 (2 horas após) e 4 (4 horas após o uso). Para este estudo, empregou-se a variação relativa das médias dos índices, antes e depois do uso. Os cálculos foram feitos com o sistema SAS 9.1 (SAS Institute, Cary, NC, EUA), sob sistema operacional Linux.

Para a detecção do pirofosfato, o teste estatístico utilizado, máxima verossimilhança, comparou as distribuições das ocorrências por tratamento e

tempo; já para a medida do teor residual, os dados foram ajustados segundo um modelo longitudinal misto, no qual o efeito de voluntário foi considerado aleatório e produto e tempos foram tomados como efeitos fixos.

Os teores de pirofosfato solúvel e pirofosfato tetrassódico, em cada cone, foram avaliados para cada fio e tempo analisados.

Para isto, o teste estatístico comparou as distribuições das ocorrências por tratamento e tempo. A distribuição postulada foi a Binomial, e o nível de significância referiu-se à hipótese: *as distribuições nas populações sendo iguais* (as proporções de categorias correspondentes sendo iguais).

5. Resultados

5. RESULTADOS

Todos os voluntários que iniciaram o estudo em questão finalizaram todas as etapas clínicas da pesquisa, ou seja, não houve desistência alguma durante as duas fases do estudo. Quanto à segurança do estudo, também não foi detectada qualquer reação adversa pelo uso dos produtos higienizadores, reportada ou observada, em quaisquer das fases.

5.1. - Detecção do Teor Residual do Pirofosfato

O passo inicial para que pudéssemos fazer uma conclusão estatística foi a detecção do pirofosfato solúvel, para posteriormente realizarmos a avaliação da detecção do composto pirofosfato tetrassódico.

A tabela 2 contém os efeitos dos fatores nos modelos estatísticos. Foi encontrado efeito de tempo ($p < 0.0001$) (**fio A=PE ou B=NT**) ($p = 1.00$).

Tabela 2 - Efeitos dos fatores no modelo.

Fonte	GL	Quadrados médios	Valor de p
ordem	1	0,00	1,0000
tratamento	1	0,00	1,0000
tempo	5	86,49	<0,0001

A Tabela 3 contém a distribuição das percentagens estimadas da ocorrência da detecção por amostra e tempo.

Tabela 3 - Porcentagens estimadas da ocorrência da detecção por amostra e tempo.

Tratamento tempo		Ocorrência Pirofosfato	
		Não	Sim
		% estimada	% estimada
A	Controle	100	0
	Antes	100	0
	0	5	95
	1	55	45
	2	90	10
	4	100	0
B	Controle	100	0
	Antes	100	0
	0	5	95
	1	55	45
	2	90	10
	4	100	0

A tabela 4 contém a identificação do pirofosfato solúvel no grupo A (polipropileno entrelaçado), antes da realização da permuta dos fios dentais (*crossover*).

Tabela 4 - Identificação do princípio ativo no grupo A - Pirofosfato solúvel (mg/L).

	Grupo A1A	Grupo A2A	Grupo A3B	Grupo A4A	Grupo A5B
Controle	ND	ND	ND	ND	ND
Antes	ND	ND	ND	ND	ND
Tempo 0	0,19	0,14	0,05	0,05	0,15
Tempo 1	0,02	0,01	ND	0,01	ND
Tempo 2	ND	ND	ND	ND	ND
Tempo 4	ND	ND	ND	ND	ND

A tabela 5 demonstra a identificação do pirofosfato solúvel no grupo A, após a realização do *crossover*.

Tabela 5 - Identificação do princípio ativo no grupo A - Pirofosfato solúvel após *crossover* (mg/L).

	Grupo A1B	Grupo A2B	Grupo A3A	Grupo A4B	Grupo A5A
Controle	ND	ND	ND	ND	ND
Antes	ND	ND	ND	ND	ND
Tempo 0	0,42	0,16	0,06	0,11	0,20
Tempo 1	0,02	0,01	ND	0,02	0,01
Tempo 2	0,01	ND	ND	ND	ND
Tempo 4	ND	ND	ND	ND	ND

A tabela 6 contém a identificação do pirofosfato solúvel no grupo B (nylon texturizado), antes da permuta dos fios (*crossover*).

Tabela 6 - Identificação do princípio ativo no grupo B - Pirofosfato solúvel (mg/L).

	Grupo B1B	Grupo B2B	Grupo B3A	Grupo B4B	Grupo B5A
Controle	ND	ND	ND	ND	ND
Antes	ND	ND	ND	ND	ND
Tempo 0	0,18	ND	0,13	0,03	0,06
Tempo 1	0,02	ND	0,02	ND	ND
Tempo 2	0,01	ND	ND	ND	ND
Tempo 4	ND	ND	ND	ND	ND

A tabela 7 contém a identificação do pirofosfato solúvel no grupo B, após *crossover*.

Tabela 7 - Identificação do princípio ativo no grupo B - Pirofosfato solúvel após crossover (mg/L).

	Grupo B1A	Grupo B2A	Grupo B3B	Grupo B4A	Grupo B5B
Controle	ND	ND	ND	ND	ND
Antes	ND	ND	ND	ND	ND
Tempo 0	0,24	0,04	0,03	0,04	0,06
Tempo 1	ND	ND	ND	ND	ND
Tempo 2	ND	ND	ND	ND	ND
Tempo 4	ND	ND	ND	ND	ND

5.2. - Medida do Teor Residual do Pirofosfato Tetrassódico

Após a detecção da presença do pirofosfato solúvel, foi feita a detecção e avaliação da presença do produto pirofosfato tetrassódico.

Na tabela 8 estão demonstrados os efeitos dos fatores no modelo estatístico. Foi encontrado efeito de tempo ($p < 0.0001$). O tratamento não se mostrou significativo ($p = 1.00$).

Tabela 8 - Efeito dos fatores no modelo.

Source	DF	X ²	p-valor
Ordem	1	0,00	1,0000
Tratamento	1	0,00	1,0000
Tempo	5	86,49	<,0001

A tabela 9 contém a identificação do pirofosfato tetrassódico no grupo A (polipropileno entrelaçado), antes da realização da permuta dos fios (crossover).

Tabela 9 - Identificação do princípio ativo no grupo A - Pirofosfato tetrassódico (mg/L).

	Grupo A1A	Grupo A2A	Grupo A3B	Grupo A4A	Grupo A5B
Controle	ND	ND	ND	ND	ND
Antes	ND	ND	ND	ND	ND
Tempo 0	2,89	2,15	0,77	0,81	2,36
Tempo 1	0,31	0,21	ND	0,22	ND
Tempo 2	ND	ND	ND	ND	ND
Tempo 4	ND	ND	ND	ND	ND

A tabela 10 contém a identificação do pirofosfato tetrassódico no grupo A após a realização da permuta dos fios (*crossover*).

Tabela 10 - Identificação do princípio ativo no grupo A - Pirofosfato tetrassódico após *crossover* (mg/L).

	Grupo A1B	Grupo A2B	Grupo A3A	Grupo A4B	Grupo A5A
Controle	ND	ND	ND	ND	ND
Antes	ND	ND	ND	ND	ND
Tempo 0	6,47	2,43	0,88	1,72	3,02
Tempo 1	0,38	0,17	ND	0,33	0,15
Tempo 2	0,17	ND	ND	ND	ND
Tempo 4	ND	ND	ND	ND	ND

A tabela 11 contém a identificação do pirofosfato tetrassódico no grupo B (nylon texturizado), antes da realização da permuta dos fios (*crossover*).

Tabela 11 - Identificação do princípio ativo no grupo B - Pirofosfato tetrassódico (mg/L).

	Grupo B1B	Grupo B2B	Grupo B3A	Grupo B4B	Grupo B5A
Controle	ND	ND	ND	ND	ND
Antes	ND	ND	ND	ND	ND
Tempo 0	2,76	ND	2,06	0,46	0,92
Tempo 1	0,33	ND	0,29	ND	ND
Tempo 2	0,22	ND	ND	ND	ND
Tempo 4	ND	ND	ND	ND	ND

A tabela 12 contém a identificação do pirofosfato tetrassódico no grupo B após a realização da permuta dos fios (*crossover*).

Tabela 12 - Identificação do princípio ativo no grupo B após *crossover* - Pirofosfato tetrassódico (mg/L).

	Grupo B1A	Grupo B2A	Grupo B3B	Grupo B4A	Grupo B5B
Controle	ND	ND	ND	ND	ND
Antes	ND	ND	ND	ND	ND
Tempo 0	3,47	0,57	0,48	0,59	0,90
Tempo 1	ND	ND	ND	ND	ND
Tempo 2	ND	ND	ND	ND	ND
Tempo 4	ND	ND	ND	ND	ND

A figura 12 demonstra a distribuição das porcentagens estimadas da ocorrência de detecção de teor por amostra de tempo.

Fig. 12. Detecção de pirofosfato tetrassódico nas amostras, divididas por tratamento e tempo.

6. Discussão

6. DISCUSSÃO

Recentemente, alguns fios dentais contendo agentes anti-tártaro em sua composição foram lançados no mercado mundial. Entretanto, existem poucas informações científicas sobre a veracidade da presença do princípio ativo nos fios dentais e a comprovação da eficácia clínica desses produtos.

As pesquisas que visam estudar ou avaliar os materiais dentários preventivos e correlatos, têm ganho importância clínica tanto para o profissional quanto para o paciente, pois é necessário conjugar as necessidades destes às características dos materiais a serem utilizados.

Essa dinâmica faz com que o Cirurgião-dentista analise diversos materiais a fim de verificar se as propriedades exibidas por eles seriam suficientes para atender ao ambiente que se estabelecerá e às funções que irão cumprir.

Em relação aos fios/fitas dentais, essa postura não é diferente, sendo necessária e extremamente válida a realização de pesquisas que realmente comprovem a competência rotulada.

Segundo o Conselho Federal de Odontologia (2007), há atualmente no Brasil um consumo de fio dental que já ultrapassa um milhão de metros por ano, o que evidencia que a população está começando a compreender a importância de uma higienização bucal satisfatória, não só para a manutenção da saúde bucal, como também para a saúde sistêmica.

A batalha contra as doenças que podem se instalar na cavidade oral de um indivíduo deve ser feita por meio de um esforço diário e contínuo, do nascimento à adolescência, e essa idéia de prevenção de doenças bucais deve ser encaminhada ao contexto da família e ao convívio social de cada indivíduo (LOPEZ et al., 2007).

Essa prevenção deve ser feita de maneira adequada e seguindo três passos imprescindíveis: Escovação dental, dieta adequada e uso de dentífricos com produtos preventivos, ou seja, contendo fluoretos (LOPEZ et al., 2007). Acrescente-se o uso do fio dental imediatamente antes de cada escovação, o uso dos enxaguatórios bucais e dos higienizadores de língua, com a função de remover a placa bacteriana completamente, sobretudo nos espaços interproximais.

De acordo com Kleber et al. (1998), a prevenção contra a formação da placa bacteriana pode ser feita pela simples conscientização de uma higienização dental regular satisfatória, com a finalidade de remover a placa antes de sua mineralização. Entretanto, falhas na passagem do fio dental e uma escovação deficiente podem conduzir as pessoas ao acúmulo da placa bacteriana e conseqüentemente à formação de cálculo dental.

Segundo Mezzomo et al. (1997), a falta do uso rotineiro do fio dental omite a limpeza dos espaços interproximais, e torna-se necessária a utilização de algum artifício extra para essa complementação da higienização.

O controle químico do biofilme dental deve-se principalmente por causar uma desorganização na formação deste, principalmente quando do uso de produtos à base de fluoretos e pirofosfatos solúveis, que quando associados apresentam efeitos antibacterianos excelentes, no combate a diversas patogenias bucais (BUSSCHER et al., 2006).

Essa associação de métodos é eficaz e deve sempre ser seguida; entretanto, alguns métodos adicionais devem ser utilizados para se conseguir uma limpeza e prevenção adequadas de algumas doenças bucais, como a cárie dental, a gengivite e a periodontite.

O desenvolvimento das doenças periodontais está relacionado à presença ou à ausência de biofilme dental. O cálculo dental forma um nicho ecológico onde os microrganismos se alojam, desenvolvem e se proliferam, causando danos às estruturas de suporte dentais (SVOBODA et al., 2004).

O acúmulo e a proliferação bacteriana sobre todo cálculo se devem principalmente por ser esta uma região repleta de fissuras e anfractuosidades, onde os meios de higiene bucal conhecidos não obtêm êxito por completo.

Uma vez instalado, o cálculo dental necessita ser removido, seja por meio cirúrgico ou mecânico, mas é essencial o Cirurgião-dentista demonstrar aos pacientes os procedimentos de higiene oral. Esta informação deve ser adaptada à natureza do material disponível, de sua utilização, e da adequação ao seu uso, conforme a situação clínica específica do paciente.

Associados com as intervenções profissionais regulares de profilaxia dental, os procedimentos individuais de higiene oral devem proporcionar controle e prevenção na evolução das doenças periodontais e é necessário que se torne ação continuada permanentemente pelo paciente (SVOBODA et al., 2004).

Uma vez que o indivíduo não consiga remover a placa bacteriana completamente, ocorrerá a formação de cálculo dental, e a probabilidade deste apresentar uma reação inflamatória gengival aumentará consideravelmente. Somando-se a isso, está claramente evidenciada a associação dos processos inflamatórios, presentes tanto na gengivite severa como na periodontite, com o

risco aumentado de um indivíduo apresentar doença cardíaca coronariana (BECK et al., 1998 ; DANESH et al., 1997).

Esse mecanismo se deve sobremaneira pelo fato de algumas bactérias adentrarem a corrente circulatória e atingirem órgãos maiores, dando início a um novo processo infeccioso, e conseqüentemente aumentando o risco do indivíduo desenvolver algumas doenças cardíacas.

É claro que um indivíduo não pode mudar a sua história familiar ou genética de risco cardíaco, mas pode perfeitamente modificar seu estilo de vida, visando diminuir fatores de risco como hipertensão arterial, hipercolesterolemia, obesidade e controle da dieta, inatividade física ou sedentarismo, diabetes e prevenção ou controle da doença periodontal (SERRANO; SOUZA, 2006).

É neste ponto que o uso dos fios dentais torna-se essencial, para propiciar uma limpeza adequada das superfícies interproximais dos dentes. E se nesse produto coexistir a ação profilática e a adição de princípios ativos como o pirofosfato tetrassódico, que é um agente anti-tártaro, a prevenção de certas doenças bucais será otimizada, proporcionando à população um efeito preventivo ideal.

A estrutura do fio dental é de suma importância, posto que o biofilme da placa dentária necessita de ação física do agente limpador para ser efetivamente removido. Assim, quanto mais superfície de arraste presente o fio/fita dental, melhor a ação higienizadora propiciada pelo mesmo (PEDRAZZI et al., 2004).

Fica evidenciada, com isso, a importância de se realizar um estudo clínico onde se possa analisar tanto a qualidade da estrutura de um determinado fio dental, quanto a capacidade de retenção em sua estrutura do agente

terapêutico, como o pirofosfato tetrassódico, para uma efetiva melhora na higienização bucal de um indivíduo.

O princípio ativo, aqui estudado, só estava presente em um fio dental produzido com nylon texturizado, e esse trabalho foi desenvolvido com o objetivo de inserir o pirofosfato tetrassódico em outro fio dental de melhor qualidade, que apresenta maior resistência ao desfibramento e causa menos trauma na papila interdental dos indivíduos, no caso o polipropileno entrelaçado (PEDRAZZI et al., 2004), e verificar se haveria ou não uma semelhança na liberação do pirofosfato tetrassódico em comparação à liberação que ocorre no fio de nylon texturizado.

Kleber et al. (1998) concluíram que o fio dental composto por nylon texturizado com o pirofosfato tetrassódico embutido em sua composição reduz significativamente (37%) a formação de cálculo dental supra-gengival no espaço interdental quando comparado ao grupo controle, onde foi utilizado fio dental sem o princípio ativo, ou seja, fio dental placebo.

O pirofosfato tetrassódico está presente na composição de alguns materiais dentários preventivos e correlatos, e atua como agente no controle da formação de cálculo dental. Este princípio ativo, cuja fórmula estrutural é $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$, é um sal inorgânico, de pH ligeiramente alcalino, constituído principalmente por pó ou grânulos brancos. A principal função desse princípio ativo é inibir os depósitos de cálcio nas superfícies dentais, ou seja, ocorre a sua união ao fosfato de cálcio presente na saliva, e impede a formação de novos cristais de fosfato de cálcio (PERRY; PHILLIPS, 1995).

O primeiro passo buscado no estudo foi selecionar os voluntários que adentrariam ou seriam excluídos no estudo. E esta seleção foi baseada não somente nos critérios de inclusão e exclusão ao estudo, descritos na seção de material e métodos, mas também foi observado a disponibilidade e o interesse

destes em serem coadjuvantes no desenvolvimento de um novo material dentário preventivo.

Antes de iniciar o uso do primeiro fio, assim como entre a troca de fios, foi realizado um *washout* de uma semana onde os voluntários não fizeram uso de qualquer produto que contivesse o princípio ativo (pirofosfato tetrassódico). O objetivo desse período de *washout* foi de eliminar qualquer resquício de princípio ativo que pudesse existir na cavidade bucal dos voluntários, e a eficácia desta medida foi comprovada pelos resultados (Figura 12, tempo 00 - A).

Após a passagem do fio dental nos sítios específicos, realizada pelo examinador como forma de padronizar a maneira como era feita a passagem do fio dental, o fluido gengival interdental foi colhido com cones de papéis absorventes esterilizados calibre (# 35), conforme descrito no item material e métodos, definido por um teste piloto.

Após a realização da colheita do fluido gengival, os cones de papéis absorventes esterilizados eram levados aos tubos de Eppendorf, todos rotulados com o grupo e o tempo em que foram colhidas as amostras, e posteriormente enviados ao Laboratório Analytical Solutions, conforme descrito previamente, onde os cones contendo o fluido de cada indivíduo foram analisados por meio de cromatografia de íons. A análise foi conduzida em Cromatógrafo de íons (IC 2000, Sunnyvale, Califórnia, EUA) usando gerador de eluente KOH EG40, supressora de condutividade ASRS ultra 4 mm à 174mA, coluna analítica AS-11 e pré-coluna AG-11.

O método pelo qual o princípio ativo foi identificado baseou-se em uma reação química denominada dissociação iônica. As amostras contendo o fluido gengival interdental extraído dos cones foram transferidas para um recipiente próprio denominado coluna cromatográfica. A este recipiente foi injetado um

solvente, o Hidróxido de Potássio, e nesta fase se iniciou a separação dos componentes da mistura devido à reação química ocorrida. Essa variação foi transformada em sinal elétrico, que foi convenientemente registrado e tratado matematicamente por um processador.

O primeiro passo realizado para a obtenção dos resultados foi a detecção da presença do pirofosfato solúvel, uma vez que se este não houvesse sido detectado, não haveria a necessidade de se buscar o composto pirofosfato tetrassódico.

Neste sentido, pelos achados das Tabelas 3, 4, 5, 6 e 7 podemos concluir que houve a detecção de pirofosfato solúvel em todas as amostras analisadas, porém somente até o período de 2 horas após a passada dos fios dentais pelas áreas-alvos.

O próximo passo foi a detecção do pirofosfato tetrassódico, com a mesma metodologia empregada anteriormente, igualmente detectado até o período de 2 horas após a utilização do fio dental específico nas áreas-alvos, em níveis significantes, como demonstrado na Figura 12 e nas tabelas 9, 10, 11 e 12.

Estudos prévios salientam que o fio/fita dental é o meio mais eficaz para a higienização dos espaços dentais interproximais, além de poder agir conduzindo agentes terapêuticos às papilas interdentais, maximizando seu efeito preventivo, ou seja, atuando como um verdadeiro veículo para a entrega de princípios ativos (WRIGHT et al., 1977; PANZERI et al., 1995; PEDRAZZI et al., 2004).

A gengiva quando saudável, por meio de sua rica vascularização presente também no ligamento periodontal, age como um reservatório de princípio ativo, fazendo com que a ação do produto testado tenha um efeito

duradouro e atue eficazmente na homeostase do meio bucal (PEDRAZZI et al., 2004).

Quando esse princípio ativo está presente nos dentífricos, ele reduz a formação de biofilme dental em níveis elevados, e se pudermos associar outros métodos de conduzir esse princípio ativo aos espaços interproximais, como fios dentais ou enxaguatórios bucais, a prevenção contra algumas doenças periodontais será otimizada.

Estudos demonstram a efetividade na inibição da formação de cálculos dentais supra-gengivais com dentífricos contendo pirofosfato solúvel em sua composição, podendo essa redução chegar a 31% (SOWINSKI et al., 2000).

No estudo de Fairbrother et al. (1997), essa redução na formação de cálculos dentais foi menor, porém significativa, em 23%, quando comparados ao grupo placebo, que não continha o princípio ativo na sua composição.

Segundo Grossman et al. (2002), alguns dentífricos que contêm em suas composições agentes anti-tártaros, como pirofosfatos solúveis associados ao anti-séptico triclosan, podem proporcionar uma redução na formação de inflamação gengival ou gengivite em até 15%, quando comparados a dentífricos sem esses princípios ativos (McCLANAHAN et al., 2002).

Essa redução na formação de biofilme dental, cálculos dentais e inflamação gengival obtida pelos estudos com dentífricos contendo pirofosfato solúvel na composição, e a possibilidade de o produto testado nesse trabalho conduzir o princípio ativo ao espaço interdental atuando como um ótimo veículo, evidenciam sua importância no combate às doenças periodontais.

De acordo com Kleber et al. (1998), a quantidade de pirofosfato tetrassódico que foi adicionada à estrutura dos fios dentais testados (11mg do princípio ativo a cada 46 cm do fio dental) é eficaz em reduzir a formação do

cálculo dental em até 37% quando comparados com fios dentais sem o princípio ativo.

Entretanto, o fio dental estudado por esses autores, produzido com nylon texturizado, apresenta uma qualidade inferior ao fio de polipropileno entrelaçado, objetivo da hipótese apresentada nesta pesquisa, pois ele danifica as estruturas de suporte dentais, além de ser um fio que apresenta altos índices de desfibramento e que incomoda os indivíduos durante o ato de higienização dental (PEDRAZZI et al., 2004).

E foi nesse sentido que esse trabalho foi desenvolvido, com a possibilidade de adicionar o princípio ativo aqui estudado, em um fio dental de qualidade maior e avaliar se a liberação do pirofosfato tetrassódico ocorreria em níveis terapêuticos.

De acordo com as Tabelas 2 e 8, pôde-se concluir que não houve diferença significativa entre os fios dentais testados, **(fio A ou B)** para um $p=1,00$, ou seja, ambos os fios dentais testados foram eficientes em liberar o princípio ativo em níveis terapêuticos pelo mesmo período de tempo e a diferença foi significativa apenas entre diferentes tempos pesquisados ($p<0,0001$).

Posteriormente à detecção e análise estatística realizada, pôde-se concluir que houve a liberação do pirofosfato tetrassódico em níveis terapêuticos até 2 horas após o emprego de ambos os fios dentais, sem diferenças entre eles, como demonstrado na tabela 3 e na figura 12.

Pelos dados obtidos no presente estudo, verifica-se que as estruturas físicas dos fios dentais não influenciaram na liberação do pirofosfato solúvel nem sequer no tempo de permanência do mesmo no sítio onde foi aplicado, ou seja, os resultados obtidos tanto para a liberação do teor residual de pirofosfato solúvel quanto do pirofosfato tetrassódico foram estatisticamente semelhantes.

É óbvio que não é o fio dental unicamente que proporcionará a redução na formação de biofilme e cálculos dentais, pois nada deve substituir a higienização oral completa e bem conduzida. Estudos têm demonstrado que a associação da escovação dental com o dentífrício após o uso do fio dental regularmente, proporciona uma melhora significativa da saúde bucal como um todo (MEZZOMO et al., 1997; PEDRAZZI et al., 2004).

Não obstante este fato, o desenvolvimento de um material dentário preventivo de alta qualidade pode e deve contribuir para a melhora dos níveis de saúde bucal da população (SILVA et al., 2003; PEDRAZZI et al., 2004).

Há que se ressaltar também a importância de os indivíduos utilizarem o fio dental de maneira correta, que deve ser ensinada pelos Cirurgiões-dentistas com demonstrações de apoio, e ser realizadas pelos pacientes sempre defronte um espelho, e a explicação da importância de seu uso é imprescindível para que ocorra esse esperado efeito de redução na formação de cálculo dental (SVOBODA et al., 2004).

CONTRIBUIÇÃO CLÍNICA DO ESTUDO

=====

O desenvolvimento de estudos clínicos controlados e aleatorizados, conduzidos adicionalmente como ensaios *crossover*, garante evidência clínica com ausência ou um mínimo de vieses, uma vez que os sujeitos da pesquisa tomam parte em diferentes tempos do estudo, no teste de todos os produtos a serem avaliados. Também há uma racionalização com o número diminuído de participantes, conferindo respeito à ética em pesquisa com seres humanos. O presente estudo comprovou que os Cirurgiões-dentistas, quando munidos de idéias baseadas em experiência clínica própria, podem contribuir substancialmente com a indústria de OTC (produtos de venda livre), com efetivo ganho para o consumidor final. O fio dental constituído de polipropileno entrelaçado, mais eficiente na remoção do biofilme interdental e mais seguro/confortável ao uso que o de nylon texturizado (PEDRAZZI et al., 2004), foi igualmente eficiente em conter e liberar pelo mesmo período de tempo o agente anti-tártaro quando comparado ao fio dental originalmente vendido no comércio. Com as limitações do presente estudo, evidencia-se a necessidade de desenvolvimento de novas tecnologias visando melhorias em relação ao tempo de duração do princípio ativo no fluido, para que haja a produção de um efeito anti-tártaro duradouro, além de um estudo clínico aleatorizado para verificar a eficácia do novo fio na prevenção da formação do tártaro interdental.

7. Conclusões

7. CONCLUSÕES

Após a análise estatística dos resultados obtidos dentro das condições experimentais e metodológicas empregadas no presente trabalho, é lícito concluir que:

1. Ambos os fios dentais foram eficientes em liberar o pirofosfato tetrassódico em níveis terapêuticos no fluido gengival interdental;
2. O princípio ativo pôde ser detectado por um período de até 2 horas após o uso único dos ambos os produtos;
3. A estrutura física dos fios dentais não influenciou na liberação do pirofosfato solúvel nem sequer no tempo de permanência do mesmo no sítio onde foi aplicado.

Referências

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS¹

ABELSON, D.C. et al. Evaluation of interproximal cleaning by types of dental floss. **Clinical Preventive Dentistry**, Philadelphia, v.3, n.4, p.19-21, Jul/Ago, 1981.

AMERICAN DENTAL ASSOCIATION – Acceptance Program Guidelines for Dental Floss or other inter dental cleaners. **Council on Dental Materials Instruments and Equipments**, A.D.A., Chicago, dec, 1991.

BECK, J.D.; OFFENBACHER, S.; WILLIAMS, R. Periodontitis: A risk factor for coronary hearth disease? **Annals of Periodontology**, Chicago, v.3, p.127-141, 1998.

BERGENHOLTZ, A.; OLSSON, A. Efficacy of plaque removal using interdental brushes and waxed dental floss. **Scandinavian Journal of Dental Research**, Copenhagen. v.92, n.3, p.198-203, Jun, 1984.

BOHRER, D.; HIRSHFELD, Z.; GEDALIA, I. Fluoride uptake *in vitro* by interproximal enamel from dental floss impregnated with amine fluoride gel. **Journal of Dentistry**, Bristol, v.11, p.271-273, 1983.

¹De acordo com: Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023: Informação e Documentação: Referencias: Elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

BUSSCHER, H.J. et al. efficacy and mechanisms of non bacterial, chemical plaque control by dentifrices an in vitro study. **Journal of Dentistry**, Bristol, 2006.

CHAET, R.; WEI, S. The effect of fluoride impregnated dental floss on enamel fluoride uptake *in vitro* and *Streptococcus mutans* colonization *in vivo*. **ASDC Journal of Dentistry for Children**, Chicago, v.44, p.34-38, 1977.

CHOI, J.; CHUNG, S.; KANG, H. Establishment of Porphyromonas gingivalis heat shock protein specific T cell line from atherosclerosis patients. **Journal of Dental Research**, Chicago, v.81, p.344-348, 2002.

CÍOLA, R. **Fundamentos da cromatografia a líquido de alto desempenho – HPLC**, São Paulo: Edgard Blücher, 1998. 179p.

CLARK, C.; FINTZ, J.; TAYLOR, R. Effects of the control of plaque on the progression of dental caries: results after 19 months. **Journal of Dental Research**, Chicago, v.42, p.1468-1474, 1974.

COCHRAN, W.G.; COX, G.M. **Experimental Designs**, J. Wiley and Sons, 1957.

CFO - **Conselho Federal de Odontologia**. Saúde bucal por um fio. Nov/Dez 2007. Acessado em 26 de março de 2008. Disponível em: http://www.cfo.org.br/jornal/n81/fio_dental.asp.

COUNCIL ON DENTAL THERAPEUTICS, American Dental Association, Accepted Dental Therapeutics, 40th ed., 1984, Section III.

DANESH, J.; COLLINS, R.; PETO, R. Chronic infections and coronary hearth disease: is there a link? **Lancet**, London, v.350, p.430-436, 1997.

FAIRBROTHER, K.J. et al. The comparative clinical efficacy of pyrophosphate/triclosan, copolymer/triclosan and zinc citrate/triclosan dentifrices for the reduction of supragengival calculus formation. **The Journal of Clinical Dentistry**, Yardley, v.8, n.2, p. 62-66, 1997.

FINKELSTEIN, P.; GROSSMAN, E. The effectiveness of dental floss in the reducing gingival inflammation. **Journal of Dental Research**, Chicago, v.58, p.1034-1039, 1979.

GERMO, P.; FLOTRA, L. The effect of different methods in interdental cleaning. **Journal of Periodontal Research**, Copenhagen, v.5, p.230-36, 1970.

GRISI, M.F.M. Avaliações clínicas e microbiológicas, por meio do teste bana, de pacientes periodontalmente envolvidos. Ribeirão Preto, 1990. 118p. **Tese (Doutorado)** - Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo.

GROSSMAN, E. et al. Triclosan/pyrophosphate dentifrice: dental plaque and gingivitis effects in a 6-month randomized controlled clinical study. **The Journal of Clinical Dentistry**, Yardley, v.13 n.4, p.149-57, 2002.

HILL, C. H.; LEVI, P. A., GLICKMAN, I. The effects of waxed and unwaxed dental floss on interdental plaque accumulation and interdental gingival health. **Journal of Periodontology**, Chicago, v.44, n.7, p.411-413, Jul, 1973.

HOROWITZ, A. et al. Effect of supervised daily dental plaque removal by children: results after third and final year. **Journal of Dental Research**, Chicago, v.56, Feb, 1977.

JONES, B.; KENWARD, M. G. **Design and Analysis of Cross-Over Trials**, 2003.

JORGENSEN, J. et al. Fluoride uptake into demineralized primary enamel from fluoride impregnated dental floss *in vitro*. **Pediatric Dentistry**, Chicago, v.11, n.1, p.17-20, Mar, 1989.

KLEBER, C.J. et al. Evaluation of a dental floss containing soluble pyrophosphate on calculus formation using a short-term clinical model. **The Journal of Clinical Dentistry**, Yardley, v.9, p.89-93, 1998.

LAMBERT, D.M.; WUNDERLICH, R.G.; CAFESSE, R.G. The effect of waxed and unwaxed dental floss on gingival health. Part I – Plaque removal and gingival response. **Journal of Periodontology**, Chicago, v.53, n.6, p.393-6, Jun 1982.

LOPEZ, I. et al. Practical advises in child oral preventive education. **Journal de Pediatrie et de Puericulture**, New York, v.20, n.2, p.63-69, 2007.

McCLANAHAN, S.F.; BARTIZEK, R.D. Effects of triclosan/copolymer dentifrice on dental plaque and gingivitis in a 3-month randomized controlled clinical trial: influence of baseline gingivitis on observed efficacy. **The Journal of Clinical Dentistry**, Yardley, v.13, n.4, p.167-178, 2002.

MAH, T.F, et al. A genetic basis for *Pseudomonas aeruginosa* biofilm antibiotic resistance. **Nature**, London, v.426, p.306–310, 2003.

MENAKER, L. **Cáries dentárias Bases biológicas**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. Cap.8, p.186-187, 1984.

MEZZOMO, H. et al. **Reabilitação oral para o clínico**. São Paulo: Livraria Editora Santos, 1997.

NEWBRUN, E. **Cariologia**. São Paulo: Livraria Editora Santos, 1988.

PADER, M. **Oral hygiene products and practice**. New York, 1988.

PANZERI, H. et al. Liberación de Fluoruro *in vivo* en el espacio interproximal a partir del hilo/cinta dental encerado conteniendo Fluoruro de Sodio. **Revista Fola Oral**, São Paulo, ano I, n.3, p.114-118, Sep/Oct, 1995.

PEDRAZZI, V.; LARA, E.H.G.; PANZERI, H. Sílica em Dentifrícios – aspectos físicos e físico-químicos. **Cosmetic & Toiletries**, São Paulo, v.11; p.66-69; Nov/Dez, 1999.

PEDRAZZI, V.; MATTOS, M.G.C.; PANZERI, H. Avaliação clínica da eficácia de um fio dental com nova estrutura na remoção do biofilme interdentário. **Revista da Associação Brasileira de Odontologia**, São Paulo, v.12, n.3, p.154 - 159, 2004.

PERRY, D.L.; PHILIPS, S.L. **Handbook of inorganic compounds**. London, 1995.

REITMAN, W.R.; WHITELEY, R.T.; ROBERTSON, P.B. Proximal surface cleaning by dental floss. **Clinical Preventive Dentistry**, Philadelphia, v.2, n.3, p.7-10, May/Jun, 1980.

RIDKER, P.M.; HENNEKENS C.H.; BURING, J.E. C reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. **The New England Journal of Medicine**, Boston, v. 342, p.836-843, 2000.

RING, M. E. **História ilustrada da odontologia**, São Paulo: Manole, p.29 –74, 1998.

ROSLING, B.; LINDHE, J. A Eficácia de dois dentífrícios anticálcio disponíveis no comércio. Resultados de testes clínicos sobre a natureza e prevenção do tártaro supra gengival. **Colgate-Palmolive**, p.46-50, 1988.

SERRANO, C.V.; SOUZA, J.A. Doença periodontal como fator de risco para síndromes cardíacas coronarianas. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, Rio de Janeiro, v.87, p. 562-563, 2006.

SIDI, A.D. Effect of brushing with fluoride toothpastes on the fluoride, calcium and inorganic phosphorus concentration in approximal plaque of young adults. **Caries Research**, New York, v.23, p.268-71, 1989.

SILVA, E.M.; FILHO, C.E.; NEPOMUCENO, V.C. Uma grande descoberta: O prazer que a higienização bucal correta e bem orientada pode proporcionar. **Revista Odontológica de Araçatuba**, São Paulo, v.24, n.2, p.39-42, 2003.

SOWINSKI, J. et al. A calculus clinical study comparing the efficacy of two commercially available dentifrices. **The Journal of Clinical Dentistry**, Yardley, v.11, n.3, p.68-71, 2000.

SVOBODA, J.M.; Periodontal disease: prophylaxis and oral hygiene procedures. **EMC Dentisterie**, Amsterdam, v.1, p. 349-360, Nov, 2004.

THORNTON, C.; STEWART, G. Effect of waxed versus unwaxed floss on fluoride uptake by enamel. **Journal of Dentistry for Children**, Fulton, v.45, n.3, p.203-206, May-June, 1978.

THYLSTRUP, A.; FEJESKOV, O. **Tratado de cariologia**, Rio de Janeiro: Editora Cultura Médica Ltda., 1988.

WHITE, D.J.; GERLACH, R.W. Anticalculus effects of a novel, dual phase polypyrophosphate dentifrice: chemical basis, mechanism, and clinical response. **Journal of Contemporary Dental Practice**, Cincinnati, v.1, n.4. p.1-19, Nov, 2000.

WHITE, D.J. et al. Quanticalc assessment of the clinical scaling benefits provided by pyrophosphate dentifrices with and without triclosan. **The Journal of Clinical Dentistry**, Yardley, v.7, p.46-49, 1996.

WONG, C.H.; WADE, A.B. A comparative study of effectiveness in plaque removal by Super Floss and waxed dental floss. **Journal of Clinical Periodontology**, Copenhagen, v.12, n.9, p.788-95, Nov, 1985.

WRIGHT, G. Z.; BANTING, D. W.; FEASBY, W. H. Effect of interdental flossing on the incidence of proximal caries in children. **Journal of Dental Research**, Chicago, v.56, n.6, p.574-578, Jun, 1977.

Anexos

ANEXO-A

APROVAÇÃO DO PROJETO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA

Avenida do Café, s/nº - Telefone: (016) 3602-3963
14040-904 - Ribeirão Preto - SP - Brasil
Fax: (016) 3633-0999

OF.CEP/476/FORP/13122006

Prezado(a) Professor(a),

Ref.: Processo nº 2005.1.657.58.8

De ordem da Senhora Coordenadora do Comitê de Ética em Pesquisa desta Faculdade, informamos que o referido Comitê, em sua 74ª Sessão realizada no dia 13 de dezembro de 2006, analisou e **aprovou o Relatório Final** do Projeto de Pesquisa envolvendo seres humanos intitulado: **"Avaliação do teor residual do pirofosfato tetrassódico liberado por dois fios dentais antitártaro, sendo um produzido com polipropileno entrelaçado e o outro com nylon texturizado"**.

Solicitamos que quando da publicação do trabalho em forma de artigo, seja entregue uma fotocópia na Secretaria do Comitê.

Atenciosamente,

Glaucia Della Rosa
Secretária do Comitê de Ética em Pesquisa

Ilmo. Sr.

Prof. Dr. VINÍCIUS PEDRAZZI

Professor Associado do Departamento de Materiais Dentários e Prótese e Fisiologia – FORP/USP

ANEXO-B

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO

TERMO DE CONSENTIMENTO

Eu,.....,

RG....., assino este Termo de consentimento com a finalidade de autorizar minha participação como sujeito na pesquisa "AVALIAÇÃO CLÍNICA DO TEOR RESIDUAL DO PIROFOSFATO TETRASSÓDICO LIBERADO POR DOIS FIOS DENTAIS ANTITÁRTARO", sob a responsabilidade do PROF. DR. VINÍCIUS PEDRAZZI, e afirmo que foram dadas todas as explicações necessárias para eu tomar essa decisão de livre e espontânea vontade.

Tenho conhecimento que:

1. O estudo "crossover" totalmente aleatorizado tem por objetivo verificar se o uso de um fio dental é eficaz na liberação de agente antitártaro, e por quanto tempo. Serão formados 2 grupos de 05 pessoas, que receberão aleatoriamente os dois fios dentro de cada grupo. Será fornecida uma escova dental para cada paciente (Johnson & Johnson® regular macia), e um dentífrico sem o agente antitártaro, e cada paciente participará de um dos 2 grupos citados, sem saber qual será o grupo. Antes de cada uso (ou troca) de fio dental, os pacientes deverão escovar os dentes por uma semana com a escova e o dentífrico fornecidos. Para a avaliação do efeito residual do agente antitártaro (pirofosfato tetrassódico), deverão usar o fio dental fornecido à razão de 5 passadas por espaço indicado no teste. Imediatamente antes do uso do fio-teste, tempo 00, no tempo mediato (após o uso = 0), 1 hora = 1, 2 horas = 2, e 4 horas = 4 após o uso, será colhido fluido dos espaços interdentais com cone de papel absorvente esterilizado e que será enviado para a quantificação do teor de pirofosfato residual.
2. Não está prevista a ocorrência de qualquer tipo de desconforto com o uso dos fios dentais.
3. Com o uso dos fios dentais, espera-se a não-formação de tártaro interdental.
4. Nenhum tipo de risco à minha saúde ou segurança é esperado, já que os 2 fios dentais são produtos do mercado, aprovados como seguros à saúde.
5. Os pesquisadores se comprometem a prestar assistência integral no decorrer da pesquisa.
6. Caso ocorra algum dano à minha saúde, em razão da participação na pesquisa, os pesquisadores serão responsáveis por quaisquer despesas.
7. Os pesquisadores manterão sigilo sobre minha participação na pesquisa.
8. Como minha participação é voluntária, tenho direito de interrompê-la em qualquer momento, sem sofrer penalizações.
9. Receberei uma cópia desse Termo de Consentimento.

Ribeirão Preto,.....de.....de 2005.

Paciente (ou responsável legal)

Prof. Dr. Vinícius Pedrazzi

Telefones para contato (16) 3602-4008
(16) 3610-5524

ANEXO-C

CERTIFICADO DE PREMIAÇÃO MYAKI ISSAO – 2007, PELA APRESENTAÇÃO
DOS RESULTADOS DESTE ESTUDO NA 24^a SBPQO

Apêndices

APÊNDICE A – IDENTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS – PRIMEIRA COLHEITA – GRUPO A

001	Branco A1A
002	A1A
003	A1A-0
004	A1A-1
005	A1A-2
006	A1A-4
007	Branco A2A
008	A2A
009	A2A-0
010	A2A-1
011	A2A-2
012	A2A-4
013	Branco A3B
014	A3B
015	A3B-0
016	A3B-1
017	A3B-2
018	A3B-4
019	Branco A4A
020	A4A
021	A4A-0
022	A4A-1
023	A4A-2
024	A4A-4
025	Branco A5B
026	A5B
027	A5B-0
028	A5B-1
029	A5B-2
030	A5B-4

Apêndice B – IDENTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS – PRIMEIRA COLHEITA – GRUPO B

031	Branco B1B
032	B1B
033	B1B-0
034	B1B-1
035	B1B-2
036	B1B-4
037	Branco B2B
038	B2B
039	B2B-0
040	B2B-1
041	B2B-2
042	B2B-4
043	Branco B3A
044	B3A
045	B3A-0
046	B3A-1
047	B3A-2
048	B3A-4
049	Branco B4B
050	B4B
051	B4B-0
052	B4B-1
053	B4B-2
054	B4B-4
055	Branco B5A
056	B5A
057	B5A-0
058	B5A-1
059	B5A-2
060	B5A-4

APÊNDICE C – IDENTIFICAÇÃO DAS AMOSTRAS – SEGUNDA COLHEITA – GRUPO A CROSSOVER

061	Branco A1B
062	A1B
063	A1B-0
064	A1B-1
065	A1B-2
066	A1B-4
067	Branco A2B
068	A2B
069	A2B-0
070	A2B-1
071	A2B-2
072	A2B-4
073	Branco A3A
074	A3A
075	A3A-0
076	A3A-1
077	A3A-2
078	A3A-4
079	Branco A4B
080	A4B
081	A4B-0
082	A4B-1
083	A4B-2
084	A4B-4
085	Branco A5A
086	A5A
087	A5A-0
088	A5A-1
089	A5A-2
090	A5A-4

Apêndice D – Identificação das amostras – Segunda colheita – Grupo B Crossover

091	Branco B1A
092	B1A
093	B1A-0
094	B1A-1
095	B1A-2
096	B1A-4
097	Branco B2A
098	B2A
099	B2A-0
100	B2A-1
101	B2A-2
102	B2A-4
103	Branco B3B
104	B3B
105	B3B-0
106	B3B-1
107	B3B-2
108	B3B-4
109	Branco B4A
100	B4A
111	B4A-0
112	B4A-1
113	B4A-2
114	B4A-4
115	Branco B5B
116	B5B
117	B5B-0
118	B5B-1
119	B5B-2
120	B5B-4

Apêndice E - Contrastes de interesse do tempo – Pirofosfato Solúvel

Contrastes	Nível de significância corrigido
Controle vs Antes	1,00
Controle vs 0	<0,0001
Controle vs 1	<0,0001
Controle vs 2	0,112
Controle vs 4	1,00
Antes vs 0	<0,0001
Antes vs 1	<0,0001
Antes vs 2	0,112
Antes vs 4	1,00
0 vs 1	<0,0001
0 vs 2	<0,0001
0 vs 4	<0,0001
1 vs 2	0,018
1 vs 4	<0,0001
2 vs 4	0,112

Apêndice F - Contrastes de interesse do tempo – Pirofosfato Tetrassódico

Contrastes	Nível de significância corrigido
Controle vs Antes	1,00
Controle vs 0	<0,0001
Controle vs 1	<0,001
Controle vs 2	0,11225
Controle vs 4	1,00
Antes vs 0	<0,0001
Antes vs 1	<0,001
Antes vs 2	0,112
Antes vs 4	1,00
0 vs 1	0,005
0 vs 2	<0,0001
0 vs 4	<0,0001
1 vs 2	0,018
1 vs 4	<0,001
2 vs 4	0,112

Apêndice G - Efeito dos fatores nos modelos de fios dentais testados

Fonte	GL	Valor de F	Valor de p
Ordem	1	1,13	0,2945
Tratamento	1	0,09	0,7648
Tempo	2	26,57	<,0001
Tratamento*tempo	2	0,02	0,9843

Apêndice H - Comparações entre os tempos significantes

tempo	Tempo	Nível de significância corrigido
0	1	<,0001
0	2	<,0001
1	2	0,9284