

Danielle Figueiredo Accetta

**Efeito de dois adoçantes naturais (xilitol e estévia)
na formação do biofilme dental**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre. Área de concentração: Clínica Odontológica

Orientador: Professor Dr. Ricardo Carvalhaes Fraga

Universidade Federal Fluminense
Niterói
2010

A169

Accetta, Danielle Figueiredo

Efeito de dois adoçantes naturais (xilitol e estévia) na formação do biofilme dental /Danielle Figueiredo Accetta; orientador: Prof. Dr. Ricardo Carvalhaes Fraga - Niterói : [s.n], 2010.

41f:il; 30cm

Gráficos e tabelas

Dissertação (Mestrado em Clínica odontológica) - Universidade Federal Fluminense, 2010.

Bibliografia: f.36-40

1. Xilitol 2.Estévia 3.Placa bacteriana I. Fraga, Ricardo Carvalhaes (orien) II. TÍTULO

CDD 617.67

DANIELLE FIGUEIREDO ACCETTA

Efeito de dois adoçantes naturais (xilitol e estévia) na formação do biofilme dental

ORIENTADOR: Professor Dr. Ricardo Carvalhaes Fraga

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal Fluminense, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre. Área de Concentração: Clínica Odontológica

Aprovado em ____ de _____ de _____.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Ricardo Carvalhaes Fraga
Universidade Federal Fluminense – UFF / Niterói

Prof^a. Dr^a. Mônica Almeida Tostes
Universidade Federal Fluminense – UFF / Niterói

Prof. Dr. Armando Hayassy
Faculdade São José/ Rio de Janeiro

Niterói
2010

Dedicatória

Aos meus pais Italo e Rosel, irmãos André e Renata e ao meu noivo Luiz Rafael, pessoas que eu mais amo na vida.

Agradecimentos

A Deus pela vida que me proporciona, me permitir realizar mais esse sonho.

Aos meus pais Italo e Rosel pelo amor, carinho, dedicação e incentivo que sempre me deram.

Ao meu noivo Luiz Rafael por estar sempre ao meu lado, pelo amor, carinho, amizade, companheirismo e incentivo.

Aos meus irmãos André e Renata pela amizade, companheirismo e união.

Aos meus cunhados e amigos Meg e Arnaldo por me ajudarem sempre que preciso.

Ao professor Luiz Augusto da Costa Poubel pela amizade, ensinamento e ajuda na realização desse trabalho.

Aos professores da Universidade Federal Fluminense do pólo de Nova Friburgo (em especial, Ingride, Fábio, Aline, Helena, Roberto e Laila) por tornarem as minhas viagens muito mais divertidas.

Ao professor Ricardo Carvalhaes Fraga pelos ensinamentos que me passou, pela orientação, críticas, sugestões e ajuda na interpretação dos resultados da pesquisa.

A todos que me ajudaram de forma direta ou indireta a realizar esse trabalho.

Sumário

Lista de Tabelas	7
Lista de Figuras	8
Lista de Gráficos.....	9
Lista de abreviaturas, siglas e símbolos	10
Resumo	11
Abstract	12
1. Introdução	13
2. Objetivo	15
3. Revisão de literatura.....	16
3.1. XILITOL:.....	16
3.2. ESTEVIA:.....	21
4. Materiais e métodos	26
4.1. Seleção da amostra	26
4.2. Substâncias testadas	26
4.3. Coleta do biofilme.....	27
4.4. Pesagem do biofilme:.....	29
4.5. Avaliação do potencial acidogênico:.....	30
5. Resultados	32
6. Discussão.....	34
7. Conclusão	37
8. Referências bibliográficas.....	38

Lista de Tabelas

Tabela 1: Valores obtidos em teste de pesagem do biofilme coletado.....33

Tabela 2: Valores obtidos em teste de pH da água deionizada, após a imersão do biofilme coletado.....33

Lista de Figuras

Figura 1 – Em A: Fotografia digital do frasco de 150 ml de solução de xilitol. Em B: Fotografia digital do frasco de 150 ml de solução de estevia	27
Figura 2 – Fotografia digital mostrando a retirada da placa formada na superfície dentária do paciente após realização do bochecho com a substância testada	28
Figura 3 – Cunha de madeira após a retirada da placa formada na superfície dentária do paciente após realização do bochecho com a substância testada	28
Figura 4 – Fotografia digital do recipiente de armazenamento da placa para posterior pesagem	29
Figura 5 – Fotografia digital da balança analítica de precisão (APX-200 DENVER INSTRUMENT)	30
Figura 6 - Fotografia digital do pHmetro (µPA - 210 TecnoPON)	31

Lista de Gráficos

Gráfico 1 – Valores médios da pesagem (em mg) do biofilme colhido após bochecho por três dias.....	32
Gráfico 2 - Valores médios de potencial acidogênico do biofilme colhido após bochecho por três dias.....	33

Lista de abreviaturas, siglas e símbolos

g/dia- gramas por dia

g – grama

OMS- Organização Mundial de Saúde

FDA- Food and Drug administration

pH – Potencial Hidrogeniônico

% - Porcentagem

ml- mililitro

<- Menor

Resumo

A cárie dentária é um dos principais problemas de saúde bucal da população. Um dos fatores desencadeantes dessa doença é a ingestão freqüente de sacarose. O objetivo deste estudo foi analisar o efeito de dois adoçantes naturais (xilitol e estévia) sobre a formação do biofilme dental em relação ao seu aspecto quantitativo e seu potencial acidogênico. Foram selecionados quinze participantes que fizeram uso de enxaguatórios de xilitol e de estévia por três dias consecutivos e não realizaram a escovação da face vestibular dos dentes superiores posteriores durante este período. Após esta fase a placa formada nessa região foi coletada e analisada em seu aspecto quantitativo através da pesagem em uma balança de precisão e em relação ao potencial acidogênico através da leitura com pHmetro. A análise estatística foi feita utilizando-se o teste *T* de *Student* ($p < 0,01$), e concluiu-se que não houve diferença estatisticamente significativa entre as substancias testadas nos dois testes realizados. A quantidade de placa formada foi similar para o uso dos dois adoçantes. As amostras colhidas foram incapazes de acidificar a água deionizada utilizadas para diluição da placa, provocando um pH alcalino, próximo ao neutro.

Abstract

Dental caries is a major problem of oral health. One of the factors triggering the disease is the frequent ingestion of sucrose. The aim of this study was to analyze the effect of two natural sweeteners (stevia and xylitol) on the formation of biofilm in relation to their quantitative aspect and acidogenic potential. Fifteen participants were selected who used mouthwash xylitol and stevia for three consecutive days and are not brushing the buccal surface of upper posterior teeth during this period. After this stage the plaque formed in this region was collected and analyzed in its quantitative aspect by weighing on a precision scale and in relation to the acidogenic potential by reading with pH meter. Statistical analysis was performed using the Student t test ($p < 0.01$), and concluded that there was no statistically significant difference between the substances tested in both tests. The amount of plaque was similar to the use of both sweeteners. These samples were unable to acidify the deionized water used for dilution of the plate, causing an alkaline pH near neutral.

1. Introdução

A cárie dentária é a entidade patológica de maior prevalência na cavidade bucal e tem uma relação direta com a placa dental. Para realizar a prevenção dessa doença é fundamental o controle deste biofilme. Esse controle pode ser feito através medidas preventivas procurando interferir na sua formação. Uma forma de reduzir sua patogenicidade é através do controle da dieta, que por sua vez irá influenciar na presença de microorganismos.

O consumo da sacarose, açúcar mais amplamente utilizado, induz com alta frequência o estabelecimento do risco de cárie. Esse açúcar é fermentado pelas bactérias da placa, e o resultado é a liberação de ácidos que atuam desmineralizando os tecidos dentais.

A diminuição do consumo de açúcar e/ou a sua substituição por adoçantes não cariogênicos é uma tentativa de reduzir a incidência de cárie. Dentre os substitutos do açúcar se destacam o xilitol e a estevia. O xilitol é um carboidrato natural (não fermentável), classificado como um açúcar-alcóol, com doçura muito semelhante à da sacarose. É encontrado em vegetais que contêm xilano e também é produzido em pequenas quantidades pelo corpo humano (NABARRO, 2009). A estevia (*Stevia rebaudiana Bertoni*), menos pesquisada e por isto menos conhecida que o xilitol é um arbusto proveniente da fronteira do Brasil com o Paraguai (MEDEIROS, 1995). As folhas dessa planta apresentam 5% do seu peso seco compostos por esteviosídeo, um glicosídeo 300 vezes mais doce que a sacarose (ANDRADE e MOLITERNO, 1998). O esteviosídeo, a olho nu, tem aspecto de um pó muito fino, leve, de cor branco-marfim e inodoro.

A anticariogenicidade é uma das propriedades mais relevantes do xilitol. Ela é determinada pela sua não fermentabilidade por bactérias do gênero estreptococos, cuja produção na flora bucal se torna limitada. Com a redução da concentração de *S.mutans* diminui-se a quantidade de polissacarídeos

insolúveis, o que resulta em uma placa menos aderente e de fácil remoção pela escovação habitual dos dentes (KONIG,2000; GALES e NGUYEN, 2000).

O efeito anticariogênico da estevia foi estudado por Berry e Henry (1981), que realizaram um estudo *in vivo*, que compararam a metabolização do esteviosídeo, da sacarose, da glicose e da frutose por cinco linhagens de *S.mutans*. Os resultados mostraram que na presença de esteviosídeo houve uma redução significativa em relação aos outros açúcares, na produção de ácidos e no crescimento bacteriano.

Considerando as vantagens em utilizar produtos naturais no controle do biofilme, e conseqüentemente na redução do risco de cárie, foi desenvolvida essa pesquisa com o objetivo de comparar estes dois adoçantes (estevia e xilitol) na capacidade de diminuir a formação de biofilme e de reduzir o seu potencial acidogênico, levando a uma menor chance de ocorrência de cárie.

2. Objetivo

O objetivo desse estudo foi:

- Comparar o efeito de dois adoçantes naturais (xilitol e estevia) sobre a formação do biofilme dental, avaliando o seu aspecto quantitativo e o seu potencial acidogênico.

3. Revisão de literatura

A cárie constitui um importante problema sócio-econômico de saúde. A solução mais correta para esse problema é a prevenção, logo a preocupação primária deve ser com a causa dessa doença, que é multifatorial. Os principais fatores envolvidos na cárie dentária são: o dente (hospedeiro), a dieta, e os microorganismos. É necessário o envolvimento simultâneo de todos esses fatores para que ela ocorra (MAKINEN, 1983). O controle da dieta é um dos meios mais importantes na prevenção da cárie dental, pois irá influenciar na presença do biofilme.

A diminuição do consumo de açúcar e/ou a sua substituição por adoçantes não cariogênicos é uma tentativa prioritária no controle da incidência de cáries. Dentre os substitutos do açúcar se destacam o xilitol e a estevia pois, além de serem obtidos da natureza, não são metabolizadas pelas bactérias formadoras do biofilme. (NABARRO, 2009).

3.1. XILITOL:

Em setembro de 1890, o químico alemão, professor Emil Herman Fischer e seu assistente Rudolf Stahel separaram um novo composto com o nome de *xylit*, em alemão a palavra ficou *xylitol*. Quase simultaneamente com Fisher, o químico francês M.G. Bertrand conseguiu isolar o xarope de xilitol processando trigo e aveia (MAKINEN, 2000).

O xilitol é um poliálcool natural de cinco átomos de carbono, e é classificado como um açúcar-álcool. Pode ser encontrado na natureza sob a forma de xilano, polissacarídeo presente em fontes naturais como o sabugo e os talos de milho, o bagaço de cana-de-açúcar, a casca de nozes, cocos e amêndoas. É um carboidrato naturalmente encontrado em muitas frutas e cogumelos silvestres. Pode ser fabricado comercialmente a partir de espigas de milho, cana-de-açúcar ou madeiras duras como o videiro e o carvalho. O corpo

humano também produz xilitol regularmente durante o metabolismo normal, cerca de 5 a 15 gramas por dia (NABARRO, 2009).

O xilitol é um carboidrato não fermentável, fato que o diferencia da sacarose. É um produto seguro para diabéticos, pois é metabolizado independentemente da insulina. É comprovadamente eficaz na prevenção de cáries e na redução de biofilme. O xilitol é um adoçante que se destaca das demais substâncias do gênero, pelo fato de poder ser obtido por via biotecnológica e por possuir importantes propriedades físico-químicas e fisiológicas. Ele é eficaz no combate às cáries dentárias e no tratamento de outros males como diabetes, desordem no metabolismo de lipídeos, além de lesões renais e parenterais. Além disso, previne infecções pulmonares, otite e osteoporose (MUSSATO e ROBERTO, 2002).

Nardini (1983) constatou que o xilitol é um substituto de açúcar natural, pois além de ter gosto semelhante ao da sacarose, pode ser utilizado sob a forma cristalina. Ele também é indicado para pessoas obesas que necessitam de dieta hipocalórica, pois além de ter poucas calorias, reduz a formação e o nível de ácidos graxos no sangue. O xilitol tem doçura semelhante à sacarose e seu valor calórico é de aproximadamente 2,4Kcal/g (MAKINEN, 1983).

O xilitol produz um agradável efeito refrescante na boca, quando entra em contato com a saliva. Devido a essa propriedade organoléptica, ele realça o efeito refrescante dos produtos com sabor de menta, tais como balas e gomas de mascar (PEPPER e OLINGER, 1988).

Como a fermentação do xilitol é realizada pela microbiota intestinal, é importante salientar a possibilidade da ocorrência de diarreia osmótica e desconforto abdominal, quando ingeridas em grandes quantidades. É recomendável uma dosagem máxima de 20g/dia. (BASTOS, 2000).

O xilitol é uma substância atóxica, sendo sua incorporação nos alimentos legalmente permitida. De acordo com a literatura ele é bem tolerado quando

ingerido em doses espaçadas de no máximo 20g cada uma e desde que a quantidade consumida não ultrapasse a 60g, já que a ingestão de doses mais elevadas produz um efeito laxativo. No entanto, a Organização Mundial de Saúde (OMS) não estabeleceu limite para a ingestão diária aceitável deste edulcorante e a *Food and Drug Administration* (FDA) indica que o seu consumo é permitido na quantidade necessária para atingir o adoçamento desejado (MUSSATO e ROBERTO, 2002).

Conforme relatado por Parajó et al (1998), o custo de produção de xilitol por processo químico é cerca de 10 vezes maior que a da sacarose ou sorbitol. Devido a esse elevado custo de produção, vários centros de pesquisa no Brasil e no exterior vêm investigando a produção de xilitol por processo biotecnológico (MUSSATO e ROBERTO, 2002).

O uso do xilitol com finalidade odontológica começou por volta de 1970. O primeiro chiclete de xilitol foi lançado na Finlândia em 1975 e, posteriormente, no mesmo ano, nos Estados Unidos. Makinen e Scheinen (1975) demonstraram em seu estudo uma redução de 50% do peso da placa úmida em um ano de utilização do xilitol comparado à sacarose e à frutose. A pesquisa realizada por Harjola e Liesmaa (1979) também comprovou que o xilitol reduziu o nível de placa bacteriana em duas semanas.

Em comparação com outros edulcorantes, o xilitol acarreta maiores benefícios para a saúde bucal, prevenindo a incidência de cáries ou reduzindo a sua formação. Os efeitos da substituição da dieta usual de sacarose por xilitol foram testados em alguns voluntários na Finlândia, nos quais ao final de dois anos observou-se redução de 85% na incidência de cáries dentárias, o que comprovou a anticariogenicidade do xilitol (MAKINEN et al, 1998).

Em estudos posteriores, avaliou-se o efeito da goma de mascar contendo xilitol ou sorbitol em pacientes pertencentes a uma população de alto risco de desenvolvimento de cáries. Essas pessoas consumiram de três a cinco unidades de goma de mascar por dia, durante 40 meses. Os resultados

mostraram que as gomas de mascar que continham xilitol foram capazes de reduzir em até 63% as cáries desses pacientes, enquanto as que continham sorbitol reduziram as cáries em apenas 30% (GALES e NGUYEN, 2000).

Estudos realizados no sentido de avaliar a ação do xilitol sobre a estrutura do biofilme dental já vinham sendo realizados. Em 1997, Soderling et al mensuraram a placa formada e a quantidade de *S. mutans* em 37 estudantes de odontologia após o consumo de gomas de mascar contendo xilitol, xilitol-sorbitol e gomas de mascar sem açúcar, e verificaram que o xilitol e a mistura xilitol-sorbitol desempenharam igualmente bem a redução da quantidade de placa, mas não reduziram a concentração de *S. mutans* na composição do biofilme.

Os efeitos do consumo diário de 5,2g de estimulantes de saliva contendo xilitol ou eritrol sobre o controle da placa dentária e de *Streptococcus mutans* também foram objeto de um estudo, no qual ficou demonstrado que nos consumidores de xilitol, o peso da placa total (coletada durante um período de 3 minutos em toda a superfície dos dentes) e a quantidade de *S. mutans* presente na placa e na saliva sofreram uma redução significativa, ao passo que nos consumidores de eritrol nenhum efeito foi observado (MAKINEN et al, 2005).

Pesquisas que direcionaram o foco para a questão relativa à alteração do pH também foram desenvolvidas. Kandelman (1997) observou a lavagem bucal com solução de xilitol evitou a queda do pH na superfície dos dentes (causa do aparecimento de cáries) uma vez que, com o aumento do fluxo salivar eleva-se o pH da placa, o que neutraliza os ácidos produzidos por outros carboidratos fermentáveis que tenham sido ingeridos. Com isso elevam-se também os níveis de algumas enzimas, em particular o cálcio e o fosfato que promovem a remineralização das lesões de cárie, aumentando a capacidade tampão e a atividade bacteriostática da saliva. Dessa forma, o ambiente bucal torna-se pouco favorável ao desenvolvimento das bactérias. Já no estudo realizado por Lynch e Milgrom (2003), ficou demonstrado que os microorganismos não

metabolizam facilmente o xilitol, mas o seu consumo tem efeito mínimo sobre o pH da placa.

Poubel, Fraga e Braga, em 2006, mensuraram o pH salivar após o uso de gomas de mascar contendo xilitol, comparando-o com a clorexidina e com a sacarose, e concluíram que a ação do xilitol na elevação do pH salivar pode ser considerado um efeito anticariogênico, pois a condição de pH provocada pelo xilitol foi similar ao efeito obtido pelo uso da clorexidina.

Ainda dentro da linha de pesquisa que avalia o efeito do xilitol sobre a variação do pH, Splieth et al (2009) avaliaram o potencial do xilitol e do sorbitol em reduzir a acidogenicidade da placa, através de consumo de pastilhas de xilitol e sorbitol, e concluíram que houve redução significativa da acidogenicidade deste biofilme após o uso do xilitol, o que não ocorreu com a utilização do sorbitol.

A literatura pesquisada indica que a anticariogenicidade é uma das propriedades mais relevantes do xilitol. Ela é determinada principalmente pela sua não fermentabilidade por bactérias do gênero estreptococos, cuja proliferação na flora bucal se torna limitada. Com a redução da concentração de *S.mutans* diminui-se a quantidade de polissacarídeos insolúveis, o que resulta em uma placa menos aderente e de fácil remoção pela habitual escovação dos dentes (KONIG, 2000; GALES e NGUYEN, 2000). O estímulo do fluxo salivar desencadeado pelo uso do xilitol aumenta simultaneamente os níveis de todos os mecanismos naturais de defesa da saliva, favorece a formação de polissacarídeos extracelulares que se dissolvem facilmente e diminui a quantidade de polissacarídeos insolúveis, enfraquecendo a capacidade de adesão do biofilme (RAMIRES et al, 2004). Segundo Autio (2002), o xilitol reduz a quantidade, a adesividade, e a acidogenicidade da placa dentária.

3.2. ESTEVIA:

Foi conhecida na época da colonização da América do Sul onde todo o território Paraguai e regiões limítrofes do Brasil, Argentina e Bolívia eram habitados pelos índios tupi-guaranis. Esses índios utilizavam as folhas de uma pequena planta que denominaram *Kaá-Hê-ê*, que em guarani significa erva doce, para adoçar diversas preparações medicinais. Em 1887, pela primeira vez, o *Kaá-Hê-ê* teve uma abordagem científica dada pelo naturalista Moisés S. Bertoni, juntamente com o químico Dr. Ovídio Rebaudi. Em 1889, Bertoni denominou-a *Eupatoriun rebaudinun*, dedicando-a ao ilustre químico, entretanto somente em 1904, Bertoni comprovou que se tratava de uma Eupatorial porém do gênero *stevia* e como tal, publicou em 1905, denominando-a *Stevia rebaudiana* e, mais tarde, a sociedade botânica, em homenagem a Bertoni denominou-a *Stevia rebaudiana (Bert.) Bertoni* (LIMA FILHO, 1997).

Oito glicosídeos diterpênicos doces estão presentes nas folhas da estevia: esteviosídeo, esteviolbiosídeo, rebausídeo-A, rebausídeo-B, rebausídeo-C (dulcosídeo-B), rebausídeo-D, rebausídeo-E e dulcosídeo-A. Apenas o esteviosídeo e o rebausídeo-A estão presentes em quantidades apreciáveis (LIMA FILHO, 1997). Com relação as suas características físicas e químicas, o esteviosídeo é um glicosídeo de fórmula $C_{38}H_{60}O_{18}$ que a olho nu tem aspecto de pó muito fino, leve, de cor branco-marfim e inodoro, que é extremamente doce em quantidades mínimas, tendendo ao amargo quando provado em grandes quantidades (SCHMELING, 1977). No produto comercial, o esteviosídeo é o componente majoritário, mas não é o que tem melhores propriedades organolépticas. Ele possui um amargor residual característico (PACKER, 2006).

O poder adoçante relativo à sacarose é de 250 a 300 vezes para o esteviosídeo, dependendo da técnica sensorial empregada e concentração do adoçante (ALVAREZ, 1984; CRAMMER e IRAN, 1986; MATSUKUBO e TAKAZOE, 2006).

Trabalhos sobre valor energético, toxicidade e carcinogenicidade do esteviosídeo, administrado tanto de forma crônica quanto aguda, mostraram seu alto grau de atoxicidade em animais experimentais (SCHMELING, 1977; AGUIAR 1987; XILI et al., 1992). Aguiar (1987) afirmou que o esteviosídeo ingerido é rapidamente eliminado como tal, logo, não é hidrolisado no organismo. Sendo assim, não tem valor energético, ou seja, não tem calorias. Matsukubo e Takasoe (2006), chegaram a afirmar que o valor energético do esteviosídeo é de 0 Kcal/g. Geuns (2003) analisou a toxicologia e a segurança do esteviosídeo usado como adoçante e encontrou uma dose diária aceitável de 7,9mg/Kg. Outro estudo realizado por Andrade e Moliterno (1998) avaliou possíveis efeitos mutagênicos, carcinogênicos, tóxicos, teratogênicos e de alteração de fertilidade, concluiu que estevia e esteviosídeo são seguros quando usados como adoçante.

Nos últimos anos a *Stevia rebaudiana Bertoni* vem se tornando um importante adoçante não calórico no Brasil e no Japão. Ela é uma planta que também é conhecida por seus efeitos fisiológicos e terapêuticos (ANDRADE e MOLITERNO, 1998).

O esteviosídeo apresenta leve efeito sobre enzimas que decompõem açúcares (como uma discreta inativação da dextran-sucrase) e leve efeito estático sobre bactérias cariogênicas (YABU, 1977). Os efeitos cariogênicos do esteviosídeo e do rebausídeo-A também foram comparados com o da sacarose por Das, em 1992, em ratos. Os animais foram divididos em quatro grupos que receberam, através da dieta, sacarose-30%, esteviosídeo-0,5%, rebausídeo-A-0,5% e grupo controle que não recebeu nenhum tipo de açúcar. Após cinco semanas, os animais foram sacrificados e a quantidade de cárie avaliada. Foi observado que o grupo que recebeu esteviosídeo e rebausídeo-A apresentaram índices de cárie em esmalte e dentina significativamente menores. A partir disso, os autores consideraram tanto o esteviosídeo quanto o rebausídeo-A não cariogênicos.

Oliveira et al (1985) mostraram que a união de dois produtos naturais como o guaraná e o esteviosídeo a 0,5%, associada a dietas cariogênicas, reduz significativamente as cáries em esmalte e dentina em ratos. Eles concluíram que o consumo de produtos naturais que tenham propriedades anticariogênicas como o cacau, chá, guaraná e esteviosídeo pode ser um meio auxiliar na prevenção de cárie dentária, uma vez que esses produtos não apresentam nenhuma toxicidade e são apreciados pela população. Xili et al (1992) também afirmaram que o esteviosídeo é um adoçante natural seguro e de alta doçura que pode ser benéfico na prevenção de cárie dental, além de ser útil no tratamento da obesidade.

O esteviosídeo também tem sido estudado como agente anti-placa. A menor formação de placa pela estevia pode ser devido a seus diversos componentes como o tanino, xantinas (teobromina e cafeína) e flavonóides (IIO *et al*, 1984). O tanino atua na produção de polissacarídeos extracelulares, agindo na aderência das bactérias à superfície dentária (PINHEIRO, 1987; SLAVUTZKY, 1994).

Slavutzky e Scarpini (1994) estudaram o uso de bochechos de estevia durante cinco dias, quatro vezes ao dia, sem higiene oral, por um grupo de oito estudantes e demonstraram que a estevia formou em 100% dos casos, menos placa bacteriana comparada à sacarose. O tipo de placa que se formou após o uso da estevia, de aparência farinhenta também diferiu quanto ao volume e consistência em relação à placa formada quando dos bochechos de sacarose.

Zanela et al (2002) avaliaram o efeito de bochechos diários com digluconato de clorexidina a 0,2%, fluoreto de sódio a 0,05% e esteviosídeo a 0,1% sobre a inibição do acúmulo de placa dentária em crianças e concluíram que todas as substâncias testadas apresentaram inibição da placa bacteriana com redução de 52% para a clorexidina, 39% para o fluoreto de sódio e 30% para o esteviosídeo. O esteviosídeo, por ser uma substância natural é bastante promissor, inclusive provoca menos riscos se for eventualmente deglutido.

Dois estudos recentes avaliaram a ação antibacteriana da estevia dentro da condição periodontal. Em 2007, Bolanos e Aguilar analisaram a profundidade de bolsa periodontal de 18 cachorros que posteriormente foram tratados com raspagem e alisamento dentário. Esses cachorros foram divididos em 2 grupos, sendo que um grupo recebeu extrato de *Stevia rebaudiana bertonii* durante 3 semanas consecutivas e o outro grupo não. Eles concluíram que houve diminuição significativa da doença periodontal e que do índice de sangramento gengival nos cães que receberam o extrato, fato que não ocorreu nos cães que não receberam. Buitrago et al (2008) realizaram um estudo *in vitro* simulando a cavidade oral e avaliaram o crescimento de bactérias gram negativas e gram positivas associadas a doença periodontal. Essas bactérias foram colocadas em meios apropriados contendo extrato de *stevia rebaudiana*. Eles concluíram que houve inibição do crescimento de bactérias gram positivas, mas não houve inibição sobre as gram negativas.

Em 2010, Slavutzky realizou um estudo *in vivo* medindo o acúmulo de placa após o uso de enxaguatório de sacarose a 10% e enxaguatório de estevia a 10% durante 5 dias, realizado 4 vezes ao dia e concluiu que o acúmulo de placa após o uso de enxaguatório de estevia foi menor do que após o uso do enxaguatório de sacarose.

Pesquisas direcionadas no sentido de analisar o efeito da estevia sobre o pH do biofilme foram realizadas. Pinheiro et al (1987) que realizaram um estudo *in vitro*, onde foram utilizados extrato das folhas de Stevia a 1,5%, esteviosídeo a 0,25% e extrato de guaraná a 1,5%. Eles demonstraram que o extrato de folhas de estevia estimulou a fermentação da placa como o extrato de guaraná, entretanto, a produção de polissacarídeos extracelulares pela estevia quando comparada com o guaraná foi bem reduzida. Em relação ao esteviosídeo, os autores verificaram que, embora este tenha apresentado uma diminuição da fermentação da placa, esta não foi significativa. Apesar disso, foi visto que o esteviosídeo foi bastante eficaz na inibição da síntese de polissacarídeos extracelulares insolúveis.

Em 1990, Cheid analisou a capacidade de metabolização do esteviosídeo a 1% por cepas de *S.mutans* e pela placa *in vitro* e mostrou que tanto esse microorganismo quanto a placa dentária não metabolizam esse glicosídeo. Verificou-se, entretanto que, quando associado à sacarose, o esteviosídeo não interferiu na queda do pH e na produção de ácidos pelos microorganismos estudados e pela placa. O autor demonstrou também que o esteviosídeo avaliado inibiu em níveis significativos a síntese de polissacarídeos extracelulares pelo *S.mutans* e pela placa dentária, mesmo na presença de sacarose.

O esteviosídeo tem capacidade de sinergismo, o que pode ser explorado com o intuito de potencializar seus efeitos anticariogênicos e melhorar características como sabor, que ainda é deficiente (PURGER e FRAGA, 2008).

4. Materiais e métodos

Esse trabalho seguiu os princípios do Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal Fluminense (CEP CMM/HUAP nº 184/09).

4.1. Seleção da amostra

Quinze alunos do curso de graduação de Odontologia da Universidade Federal Fluminense – Polo Universitário de Nova Friburgo foram selecionados para essa pesquisa. Os alunos selecionados possuíam idade entre 18 e 24 anos. Eles foram informados sobre os objetivos do trabalho e assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido onde era explicado que a sua participação era voluntária e também todos os procedimentos que seriam realizados.

Os indivíduos que faziam uso de algum antimicrobiano (antibiótico) apresentavam periodontite severa (mobilidade dentária), possuíam uma dieta comumente aderente e usavam produtos contendo xilitol ou estévia foram excluídos da pesquisa.

4.2. Substâncias testadas

Quinze frascos de 150 ml de solução de xilitol a 5% (Figura 1 A) para bochecho e mais quinze frascos de 150 ml de solução de estévia a 5% (Figura 1 B) foram confeccionados e distribuídos para os participantes da pesquisa.



Figura 1 – Em A: Fotografia digital do frasco de 150 ml de solução de xilitol. Em B: Fotografia digital do frasco de 150 ml de solução de estevia

Primeiramente, todos os participantes selecionados realizaram os bochechos com solução de xilitol, dois bochechos de aproximadamente 5ml cada um (a quantidade foi padronizada como sendo a medida de uma tampa da solução por bochecho), por dia, um de manhã e outro à noite, antes de dormir. Esse bochecho foi realizado por 3 dias. Durante esses 3 dias os participantes não escovaram a superfície vestibular dos dentes posteriores superiores do lado direito e esquerdo para que se pudesse formar uma quantidade maior de biofilme, possibilitando uma posterior avaliação e análise. Após uma semana, esses mesmos participantes realizaram o bochecho com a solução de estevia, da mesma forma como feito anteriormente para a solução de xilitol.

4.3. Coleta do biofilme

A placa formada foi coletada através da remoção manual feita com uma cunha de madeira, na direção do segundo molar para o primeiro em um movimento de distal para mesial, sendo realizada de modo similar no lado direito e esquerdo do paciente (Figuras 2 e 3).



Figura 2 – Fotografia digital mostrando a retirada da placa formada na superfície dentária do paciente após realização do bochecho com a substância testada



Figura 3 – Cunha de madeira após a retirada da placa formada na superfície dentária do paciente após realização do bochecho com a substância testada

4.4. Pesagem do biofilme:

A placa formada na superfície vestibular do lado direito do paciente foi coletada com uma cunha de madeira e colocada juntamente com a cunha em frascos com tampa (Figura 4) para posteriormente ser pesada em uma balança analítica de precisão (modelo APX-200, marca Denver Instrument) (Figura 5) previamente calibrada. Cada frasco com sua respectiva cunha de madeira foram pesados previamente a retirada de placa da superfície dos dentes e o peso desse conjunto foi anotado para que após isso, esse peso fosse subtraído do peso total e apenas a pesagem da placa fosse registrado.

Este procedimento foi realizado após serem feitos os testes com os bochechos de xilitol e, posteriormente, após os realizados com a solução de estevia. A coleta de placa e a análise dos dados também foram realizadas da mesma forma como foi feita para os testes de xilitol.



Figura 4 – Fotografia digital do recipiente de armazenamento da placa para posterior pesagem

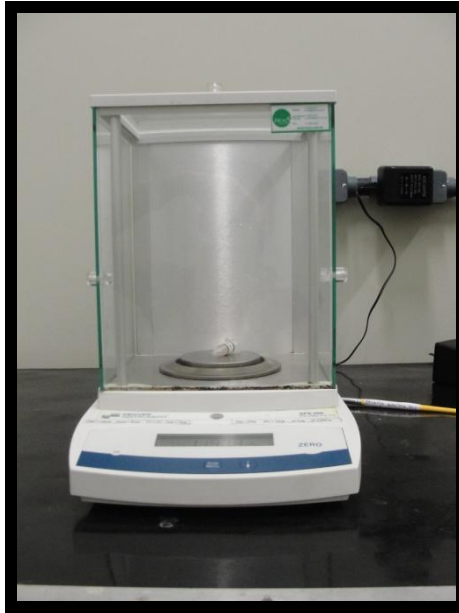


Figura 5 – Fotografia digital da balança analítica de precisão (APX-200 DENVER INSTRUMENT)

4.5. Avaliação do potencial acidogênico:

A placa coletada do lado esquerdo do paciente foi colocada em um frasco com tampa contendo 5ml de água deionizada e posteriormente foi agitada em um agitador de tubos (Arsec TS 200) com força e velocidade necessária para homogeneizar a solução. O pHmetro (μ PA-210) (Figura 6) foi previamente calibrado com solução tampão 7 e solução tampão 4 conforme recomendação do fabricante. O eletrodo do pHmetro foi colocado dentro do frasco para a mensuração do pH da solução. A quantidade de água deionizada colocada nos frascos foi de 5ml em todos os recipientes para que cobrisse a ponta do eletrodo e houvesse uma padronização para realizar a leitura do pH. Entre a leitura do pH de um frasco e outro, a ponta do eletrodo foi lavada com água deionizada e seca com papel absorvente, para que não houvesse contaminação entre os frascos medidos.

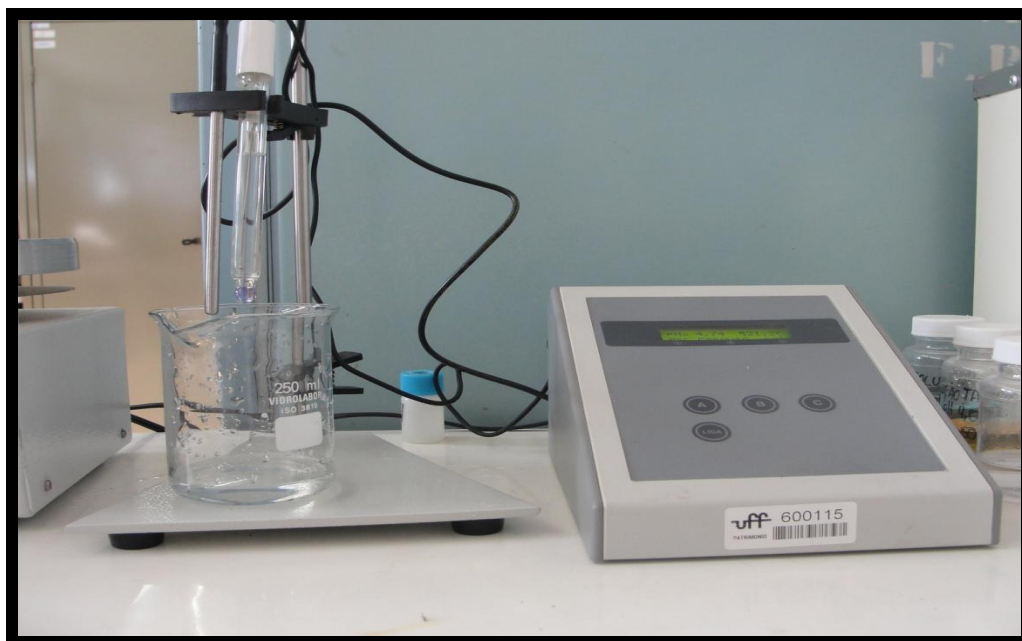


Figura 6 - Fotografia digital do pHmetro (μ PA - 210 Tecnopon)

5. Resultados

O peso da placa coletada após o uso do bochecho com solução de xilitol apresentou valores de 0,5 mg a 6,9 mg, e com solução de estévia variou de 0,1 mg a 5,1 mg. Em relação à acidogenicidade, todas as placas coletadas determinaram na água deionizada um pH próximo ao neutro. Para o grupo xilitol o valor de pH variou de 7,78 a 8,07. Já para o grupo estévia variou de 7,33 a 8,08.

Os resultados da média da quantificação da placa pesada e do pH da água deionizada após a imersão do biofilme estão expressos nos gráficos 1 e 2. A análise estatística foi realizada utilizando-se o teste *T* de *Student*, com intervalo de confiança de 99% (tabelas 1 e 2), ficando demonstrado que os valores obtidos não apresentaram-se com diferença estatisticamente significativa, tanto para o teste de pesagem quanto para o referente a acidogenicidade.

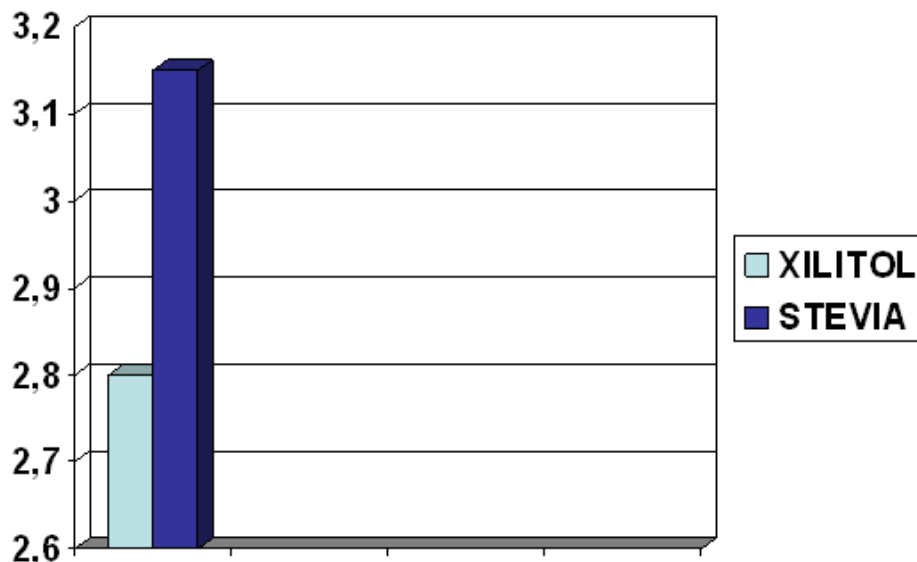


Gráfico 1 – Valores médios da pesagem (em mg) do biofilme colhido após bochecho por três dias.

Tabela 1: Valores obtidos em teste de pesagem do biofilme coletado.

GRUPO	Média (em mg)	Desvio Padrão
Xilitol	2,80 (a)	0,9
Estevia	3,15 (a)	1,02

Valor de T : 0,012 $p < 0,01$

Letras iguais indicam diferença estatisticamente insignificante.

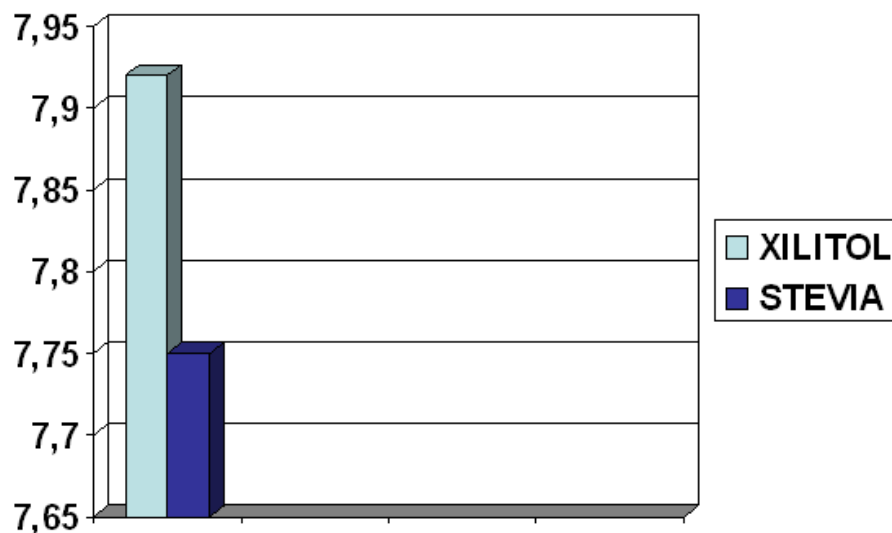


Gráfico 2 - Valores médios de potencial acidogênico do biofilme colhido após bochecho por três dias.

Tabela 2: Valores obtidos em teste de pH da água deionizada, após a imersão do biofilme coletado.

GRUPO	Média (em mg)	Desvio Padrão
Xilitol	7,92 (a)	0,3
Estevia	7,72 (a)	0,8

Valor de T : 0,007 $p < 0,01$

Letras iguais indicam diferença estatisticamente insignificante

6. Discussão

A busca por substitutos para a sacarose tem sido uma constante. O adoçante ideal seria aquele que fosse atóxico, e neste aspecto tanto xilitol (MAKINEN, 1983; MUSSATO e ROBERTO, 2002) como estevia (AGUIAR 1987; XILI et al 1992, ANDRADE E MOLITERNO, 1998; MATSUKUBO e TAKASOE, 2006), têm se apresentado como seguros para a saúde. Ambos apresentam baixo ou nenhum potencial calórico (MAKINEN, 1983; MATSUKUBO e TAKASOE, 2006), e com relação ao sabor, o xilitol tem maior aceitação por este ser mais semelhante ao da sacarose, diferentemente ao da estevia que provoca um amargor residual (SCHMELING, 1977; NARDINI, 1983; PEPPER e OLINGER, 1988, PACKER, 2006; PURGER e FRAGA, 2008). Apesar destes aspectos positivos, fatores relacionados à viabilidade econômica ainda precisam ser pesquisados para que seja estabelecida a relação custo/benefício (PARAJÓ et al 1998; MUSSATO e ROBERTO, 2002).

Ambos os adoçantes são considerados incapazes de produzir uma placa capaz de provocar o acometimento por cárie (DAS, 1977; OLIVEIRA et al, 1985; MAKINEN et AL, 1998; GALES e NGUYEN, 2000), e isto, além de outros fatores, tem relação com a ação destes adoçantes sobre a estrutura microbológica da placa (YABU, 1977; SODERLING et al, 1997; KONIG, 2000; MAKINEN et al, 2001; BUITRAGO et al, 2008).

Foi observado no presente estudo uma facilidade muito grande de remover o biofilme formado após o uso dos enxaguatórios, tanto de xilitol como de estevia, pois o mesmo apresentou-se fracamente aderido à estrutura dental. Este fato está de acordo com a literatura pesquisada (PINHEIRO, 1987; SLAVUTZKY E SCARPINI, 1994; SLAVUTZKY, 1994; KONIG, 2000; GALES e NGUYEN, 2000; RAMIRES et al, 2004).

Os estudos também indicam que tanto xilitol como estevia reduzem a quantidade de biofilme formado (SLAVUTZKY e SCARPINI, 1994; MAKINEN et al, 2001; ZANELA et al 2002), e outras pesquisas confirmaram que o uso do

xilitol interfere no pH da placa (KANDELMAN, 1997; SPLIETH et al, 2009). Entretanto, a literatura não apresenta estudos referentes a esta característica por parte da estevia. Este fato foi um dos fatores que motivou a realização da presente pesquisa.

O presente estudo foi realizado com estudantes de Odontologia da Universidade Federal Fluminense do primeiro ao terceiro período, pois se acredita que esses indivíduos tenham um cuidado maior com a higiene oral. A idade dos participantes variou de 18 a 24 anos, pois nessa faixa etária, os indivíduos costumam ser saudáveis, possuem uma vida social ativa e não apresentam nenhum tipo de restrição alimentaria.

No presente estudo foram utilizados enxaguatórios a base de xilitol durante 3 dias consecutivos, sem a higienização da superfície onde posteriormente seria coletada a placa, e verificou-se através da análise do pH da solução onde foi imerso o biofilme, que não ocorreu o efeito acidogênico. A solução manteve-se alcalina, próxima ao neutro.

A quantidade de biofilme formado após o uso dos enxaguatórios com as duas soluções testadas foi baixa para os padrões normais, e além deste biofilme encontrar-se pouco aderido ao dente, o potencial acidogênico não foi observado.

Os dois adoçantes apresentaram similaridade de comportamento nos dois testes realizados, indicando que opção por um deles como substituto da sacarose deve estar baseada em fatores relacionados a custo de produção e aceitação comercial.

Tendo em vista a acessibilidade e as características benéficas, está justificada a continuidade de investigação a cerca destes dois adoçantes e seus derivados principais principalmente no que diz respeito ao mecanismo de ação sobre a placa. A partir do desenvolvimento de novas pesquisas nesse sentido e na busca por soluções que facilitam a produção e reduzam os custos,

estes produtos terão grande possibilidade de utilização industrial não só em produtos alimentícios, mas também em produtos de higiene oral, como bochechos e dentifrícios.

7. Conclusão

- O estudo experimental *in vivo*, utilizando enxaguatórios de xilitol e estevia permitiu a formação de uma quantidade de placa similar para o uso das duas substâncias utilizadas, sem diferença estatisticamente significativa.
- O potencial acidogênico dos dois adoçantes testados não foi observado. O pH da água deionizada se manteve alcalino próximo ao neutro após a imersão das duas substâncias utilizadas, não havendo diferença estatisticamente significativa entre elas.

8. Referências bibliográficas

Aguiar, E. et al Steviosídeo: uma alternativa dietética *Saúde em debate* 1987 set/out;19:96-100.

Alvarez M, Stevia rebaudiana (Betr.) Bertoni: estado atual do conhecimento Maringá: Universidade Estadual de Maringá 1984, 118p.

Andrade JP, Moliterno LFM Conhecendo a “Stevia”: sintética ou natural *RBO- Rio de Janeiro* 1998; 55(2): 104-7.

Autio, JT Effect of xylitol chewing gum on salivary streptococcus mutans in preschool children *Journal of dentistry for children* 2002 apr; 69(1):81-6.

Bastos JRM, Heintze SD, Prado SU Contribuição ao estudo de toxicologia do xilitol e do flúor *UFES Rev Odontol* 2000; 2(2): 78-84.

Berry CW, Henry CA, Effect of stevioside on the growth and acid production of *Streptococcus mutans* *J.Dent Res* 1981; 60:430.

Bolanos JAE, Aguilar JJR Efectos del extracto de *Stevia rebaudiana bertonii* em La enfermedad periodontal [disponível em: <http://www.congressoacco.com/articulos/articulos/2007>] [acessado em setembro de 2010]

Buitrago C, Londono J, Neira M et al. Actividad antimicrobiana Del extracto em metanol de Stevia rebaudiana sobre bacterias gram negativas (*Escherichia coli* – *Enterobacter cloacae*) y gram positivas (*Streptococcus mutans* – *Staphylococcus aureus*) contaminantes de cavidad oral e importantes em enfermedad periodontal *Rev FOC* 2008 may/jun; 223:24-34.

Chedid, S.J. Efeito dos adoçantes: steviosideo, aspartame, xilitol e sacarina sobre a fermentação e síntese de polissacarídeos extracelulares insolúveis pelo *Streptococcus mutans* G55 e LM7 e pela placa dentária in vitro Tese (dissertação de mestrado): Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, 1990.

Crammer B, Iran R Sweet glycosides from the stevia plant *Chemistry in Britain* 1986; 22(1):915-918.

Das S, Das AK, Murphy RA et al . Evaluation of the cariogenic potential of the intense natural sweeteners stevioside and rebauside A *Caries Research* 1992; 26(5):363-6.

Gales MA Nguyent T Sorbitol compared with xylitol in prevention of dental caries *Ann. Pharmacother*, 2000; 34:98-100.

Geuns JMC Stevioside *Phytochemistry* 2003; 64(5):913-021.

Harjola U, Liesmaa, H. Effects of polyol and sucrose candies on plaque, gingivitis and lactobacillus score *Acta Odontol Sand* 1979;36:237-42.

lio M, Uyeda H, Iwamani T, Nakagawa Y Flavonoids as possible preventive of dental caries *Agric Biol Chem* 1984; 48: 2143-5.

Kandelman D Sugar, alternative sweeteners and meal frequency in relation to caries prevention: new perspectives *Brit. J. Nutr* 1997; 77:121-8.

Konig KG Diet and oral hesth *Int Dent J* 2000; 50:162-74.

Lima Filho, OF, Malavolta E Sintomas de desordens nutricionais em estévia *Stevia rebaudiana* (Bert.) Bertoni *Sci.agric.*1997 jan/aug; 54(1-2):53-61

Lynch H, Milgrom P Xylitol and dental caries: Na overview for clinicans *CDA Journal* 2003; 31(3):205-9

Makinen KK Xilitol um método de profilaxia das cáries para as novas gerações *RBO* 1983; 40(2): 20-33.

Makinen KK The rocky road of xylitol to its clinical application *J Dent Res* 2000; 79(6):1352-5

Makinen KK History, safety and dental properties of xylitol *Xlear* 2005 [disponível em <http://www.xlear.com/xylitol/makinen.aspx>]

Makinen KK, Scheinin A Turku sugar studies VII principal biochemical findings onj whole saliva and plaque *Acta Odontol Scand* 1975; 34(5): 241-83.

Makinen KK, Olak J, Russak S et al Polyol-combinant saliva simulants: a 4 month pilot study in uoung *Acta Odontol Scand* 1998 April;56(2):90-4.

Matsukubo T, Takazoe I. Sucrose substitutes and their role in caries prevention *Int Dent J* 2006 jun; 56(3):119-30.

Medeiros UV, Spyrides Gm, Ferreira NA Prevenção da cárie através da dieta *Rev Bras Odontol* 1995; 2(2):42-5.

Mussato SI, Roberto IC.Xilitol: Edulcorante com efeitos benéficos para a saúde humana *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas* 2002 out/dez;38(4):401-13.

Nabarro H. Adoçantes X cárie [acessado em abril de 2009][Disponível em: <http://www.humbertonabarro.com.br>]

Nardini AD Xilitol- O primeiro açúcar natural não cariogênico *Rev Bras Odontol* 1983 Nov; 49(4): 35-39.

Oliveira SS Influência do guaraná, da Stevia rebaudiana Bertoni e do esteviosídeo na incidência de cárie em ratos *Estomatologia e Cultura* 1985; 15(3): 16-19.

Packer JF Modificação enzimática de glicosídeos de Stevia rebaudiana por *Gibbrella fijiensis* tese 89fl. (dissertação de mestrado) Programa de pós graduação em Ciências Farmacêuticas setor de ciências em saúde Universidade Federal do Paraná, 2006.

Parajó JC, Domingues H, Domingues JM Biothechnological production of xylitol Part 1: Interest of xylitol and fundamentals of its biosyntheses *Bioresource Technol* 1998; 65:91-01.

Pepper T, Olinger PM Xylitol in sugar-free confections *Food technol.* 1988; 42(10):98-106.

Pinheiro CE, Oliveira SS, Silva SMB et al Efeito dos extratos de guaraná e de Stevia rebaudiana Bertoni (folhas) e do esteviosídeo sobre a fermentação e a síntese de polissacarídeos extracelulares insolúveis da placa dentária *Rev Odontol Univ São Paulo* 1987;1(4):9-13.

Pinheiro CE, Vono AZ, Poletto MI, Pinheiro CF Avaliação quantitativa da placa dentária por métodos químicos *Rev gaucha Odont* 1987 set/out; 35(5): 357-60.

Poubel LAC.; Fraga RC, Braga MG. Avaliação da variação de pH salivar através da utilização de goma de mascar contendo xilitol *RBO* 2006;63(3):267-70.

Purger FPC, Fraga RC. Aspectos de interesse odontológico quanto a utilização de Stevia na substituição da sacarose *ABOMI* 2008 jul/dez; 25 (1):67-72.

Ramires I, Bastos JRM, Peres SHCS et al Xilitol- perspectivas de uso em odontologia *Rev Assoc Paul Cir Dent* 2004;58(1):53-8.

Schmelting GA, Carvalho FV, Espinosa AD Stevia rebaudiana Bertoni, avaliação do efeito hipoglicemiante em mcoelhos aloxanizados *Ciência e Cultura* 1977; 29(5): 599-601.

Slavutzky SMB, Scarpini C. Ação anticariogênica dos bochechos com “stevia” *RGO* 1994 set/out; 42(5): 251-253.

Slavutzky SMB Stevia and sucrose effect on plaque formation *J verbr Lebensm* 2010; 5(2):213-16.

Soderling E, Trahan L, Tammiala-Salonen T, Hakinen L Effects of xylitol, xylitol-sorbitol, and placebo chewing guns on the plaque of habitual xylitol consumers *Eur J Oral Sci* 1997 apr; 105(2):170-7.

Splieth CH, Alkilzy M, Schmitt, J, Berndt C, Welk A. Effect of xylitol and sorbitol on plaque acidogenesis Quintenssence Internacional 2009 april,40(4):279-85.

Stalfors A. Effect on hamster caries by purina derivatives vanillin and somme tannin-containing materials *Arch Oral* 1967; 12:321-32.

Xili L, Chengjiany, X, Eryi S. et al Chronic oral toxicity carcinogenicity study of stevioside in rats *Food and Chemical Toxicology* 1992 november;30(11): 957-65,.

Yabu M, Takase M, Toda K et al Studies on stevioside , a natural sweetener: effect on the growth of some oral microorganisms *J.Hiroshima Univ Dent School* 1977;9:12-17 .

Zanela NLM, Bijella MFTB, Rosa OPS. The influence of mouthrinses with antimicrobial solutions on the inhibition of dental plaque ando n the levels of mutans streptococci in children *Pesqui Odontol Bras* 2002; 16(2):101-6.