

INFLUÊNCIA DO PRÉ-TRATAMENTO COM FLUORETO ESTANOSO E FLUORETO DE SÓDIO, SOBRE O METABOLISMO DA PLACA DENTÁRIA HUMANA (ESTUDO "IN VITRO")*

INFLUENCE OF THE PRE-TREATMENT WITH STANNOUS
FLUORIDE AND SODIUM FLUORIDE, ON THE HUMAN
DENTAL PLAQUE METABOLISM ("IN VITRO"STUDY)

Verônica Velasco VILLAVICENCIO**

Maria Francisca Thereza Borro BIJELLA***

Salete Moura Bonifácio da SILVA****

José Eduardo de Oliveira LIMA****

Foi avaliada "in vitro", a influência do pré-tratamento com soluções de fluoreto estanoso e fluoreto de sódio sobre a fermentação e a síntese de polissacarídeos extracelulares insolúveis (PEI) da placa dentária de crianças entre 7 e 12 anos de idade. Todas as substâncias testadas inibiram tanto a fermentação como a síntese de PEI. As diferenças das porcentagens de inibição, tanto da fermentação, quanto da síntese de PEI, foram estatisticamente significantes e maiores para o fluoreto estanoso (SnF₂) em relação aos fluoretos de sódio (NaF I e NaF II), e para o NaF I em relação ao NaF II.

UNITERMOS: Placa dentária; Fluoreto de sódio; Fluoreto estanoso; Odontologia preventiva.

* Parte da Dissertação de Mestrado do Curso de Pós-Graduação em Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Bauru-USP

** Aluna do Curso de Pós-Graduação em Mestrado de Odontopediatria, da Faculdade de Odontologia de Bauru-USP

*** Professora Associada do Departamento de Odontopediatria e Ortodontia da Faculdade de Odontologia de Bauru-USP

**** Professores doutores do Departamento de Odontopediatria e Ortodontia da Faculdade de Odontologia de Bauru-USP

INTRODUÇÃO

A placa dentária não é uma entidade homogênea: sua composição varia entre indivíduos, em diferentes áreas da mesma boca e até do mesmo dente. Por este motivo, seu conteúdo microbiológico, composição bioquímica, metabolismo, sua relação com a cárie dentária e a doença periodontal e seu modo de formação têm sido discutidos por vários autores^{9,10,14,15,16,18,20,22,25} com a finalidade de identificá-la e caracterizá-la, descobrindo relações entre sua composição e sua virulência. Esses fatores são importantes ao desenvolvimento de métodos para prevenir e controlar a sua formação e, conseqüentemente, a prevenção da cárie dentária e das doenças periodontais.

As pesquisas odontológicas têm sido direcionadas na busca de substâncias químicas para prevenir e/ou inibir a formação de placa dentária, tais como antibióticos; antisépticos como a clorexidina e o cloreto de cetilpiridínio; enzimas e os fluoretos.

Dentre os fluoretos estudados como agentes de redução da cárie dentária destacam-se, o fluoreto de sódio neutro usado para bochechos diários e semanais; o flúor fosfato acidulado e o fluoreto estanoso usados para a aplicação tópica profissional, cujos trabalhos dão ênfase às suas propriedades antibacterianas^{2,11,23,30}.

As propriedades inibitórias dos fluoretos dependem do seu grau de concentração (TINANOFF et al.^{W031}, e BROWN et al.^{W05}), da frequência de aplicação (KILIAN et al.^{W017}), do tipo de fluoreto (ANDRES et al.^{W02}), do pH do fluoreto (JENKINS^{W013}, SVATUN; ATTRAMADAL^{W027}) e da forma como é administrado (SVANBERG; WESTERGREN^{W026}).

A literatura consultada sugere que as propriedades bactericidas do fluoreto estanoso estão mais relacionadas ao íon metálico do que ao íon flúor. Segundo ANDRES et al.^{W02}, SVATUN et al.^{W028}, SVATUN; ATTRAMADAL^{W027} e KILIAN et al.^{W017}, o fluoreto estanoso apresentaria melhor ação antiplaca devido ao íon estanoso, embora TINANOFF et al.^{W031} e GROSS; TINANOFF^{W011} acreditem que

o íon estanho sem o íon flúor não contribui significativamente para a atividade antiplaca observada.

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do pré-tratamento com soluções de fluoreto estanoso e fluoreto de sódio sobre o metabolismo da placa

Coleta de Placa

dentária humana, quanto à fermentação e à síntese de polissacarídeos extracelulares insolúveis.

MATERIAL E MÉTODOS

Participaram da pesquisa crianças, na faixa etária de 7 a 12 anos, semi-internas de uma entidade de atendimento a menores, "Casa do Garoto", de Bauru-SP.

As amostras de placa foram coletadas pela manhã, duas vezes por semana, das faces vestibular e lingual de todos os dentes, usando uma espátula Holleback nº 3S, espelho bucal e pinça clínica.

A desinfecção do instrumental foi realizada a frio, com álcool a 77% v/v.

A placa coletada e acondicionada em meio refrigerado

Preparo da Suspensão de Placa

por gelo era transportada ao Laboratório de Bioquímica da Faculdade de Odontologia de Bauru, da Universidade de São Paulo, onde era pesada em uma balança Mettler*.

A placa e a água destilada numa concentração de 25mg/ml foram homogeneizadas através de movimentos de vaivém do homogeneizador elétrico

Tratamento Prévio

por meio de um pistilo de teflon; em seguida, a suspensão foi transferida para um copo graduado de 50 ml e mantida em agitação por meio de uma barra magnética movimentada por agitador elétrico**.

Foi colocado 7ml de suspensão de placa em 4 frascos graduados inclusive no frasco 1 (controle), sendo que

* Balança Mettler H 15 cap. 160g. - E. Mettler - Zurich

** Phoenix Mod. AT: 56.

no frasco 2 foi adicionado 0,37ml de SnF₂ a 1,86% e nos frascos 3 e 4 foram adicionados 0,37ml de NaF a 1%.

Realizada a leitura do pH da solução contida no frasco 2, cujo valor encontrado foi 3,4; os frascos 1 (controle) e 3 (NaF 1%) tiveram seu pH ajustado para aquele mesmo valor, através do emprego da solução de ácido clorídrico (HCl) a 1%; o frasco 4 (NaF 1%) foi mantido com seu pH natural (pH 7) e todos eles foram deixados em agitação por dois minutos. Assim, com exceção do frasco 4 (NaF 1% com pH 7,0), todos os outros frascos (grupos) foram ajustados no pH 3,4, sendo o grupo 3 denominado NaF I e o grupo 4, NaF II.

Fermentação da Placa Dentária

Em seguida o conteúdo dos frascos foi transferido para tubos de centrífuga, conservando-se a mesma identificação anterior e centrifugados a 10.000 rpm durante dez minutos. Após a centrifugação, os sobrenadantes foram desprezados e os precipitados obtidos foram suspensos em 7 ml de tampão fosfato 0,01M, pH 6,8.

No sistema de incubação para a fermentação de placa dentária em presença das substâncias inibidoras foram preparados tubos testes (dois para cada substância), incubados a 37°C durante cento e vinte minutos e ainda, tubos controles (tempo zero - dois para cada substância), que foram titulados imediatamente após a adição da suspensão de placa.

Cada tubo continha 1,0ml de tampão fosfato; 0,5ml de glicose a 2,5%; 2,5 ml de água destilada e 1,0ml de suspensão de placa pré-tratada.

Síntese de Polissacarídeos Extracelulares Insolúveis (PEI) pela Placa Dentária

A neutralização dos ácidos de fermentação da placa dentária foi feita com solução de NaOH no titulador automático, usando vermelho cresol a 0,1% como indicador.

Os valores de NaOH 0,01N consumidos em cada titulação foram anotados em fichas controle para cálculos posteriores.

Para avaliar "in vitro" a síntese de polissacarídeos extracelulares insolúveis pela placa dentária, cada tubo

continha 0,5ml de suspensão da placa pré-tratada com inibidor; 0,2ml de sacarose 1M; 0,05ml de tampão fosfato 0,5M pH 6,5 e 0,25ml de água destilada.

Essa mistura foi feita em tubo plástico de centrífuga, com capacidade de 1,2ml. Os tubos testes foram tampados e levados à estufa a 37°C por dezoito horas; enquanto que os tubos controles (tempo zero) foram colocados no congelador e mantidos à temperatura de 20°C, por dezoito horas.

Após o período experimental, os tubos testes foram centrifugados a 10.000 rpm durante doze minutos em centrífuga tipo Spin I. Os sobrenadantes foram desprezados e os precipitados foram suspensos em 1ml de água destilada e centrifugados novamente.

Finalmente, os precipitados foram suspensos em 0,5ml de KOH 1N. Os tubos controle (tempo zero) após o descongelamento, foram processados de maneira idêntica.

Alíquotas de 0,1ml foram coletados de todos os tubos para a determinação de carboidratos totais pelo método de DUBOIS et al⁶.

Os testes estatísticos empregados foram a análise de variância a um critério de classificação, e o teste de Tukey - Kramer, para as comparações individuais²⁴. Todos foram realizados a um nível de significância de 5%.

RESULTADOS

Como se pode observar na tabela I, nem todas as substâncias testes apresentaram efeito inibidor marcante sobre a fermentação. O grupo IV (NaF II) na verdade teve uma porcentagem média de inibição da fermentação negativa, pois seu valor de inibição de fermentação foi ligeiramente inferior ao do grupo controle. Com relação à síntese de PEI, pela tabela IV, observa-se um efeito inibidor, embora de intensidade variável, para todas as substâncias testes. A análise de variância (tabelas II e V) demonstrou que as diferenças entre grupos foram estatisticamente significantes.

Ao se realizar as comparações individuais, tanto para o efeito inibidor sobre a fermentação da placa, quanto a síntese de PEI, observou-se que a diferença entre os grupos foi estatisticamente significativa, com exceção da comparação entre o grupo controle e o NaF II (tabelas III e VI).

O fluoreto estano apresentou a maior porcentagem de inibição da fermentação, o que é verificado pela

tabela I, resultado que apresentou diferença estatisticamente significativa entre ele e todos os demais grupos (tabela III).

Os resultados da inibição da fermentação apresentados pelo fluoreto de sódio (tabela I) de 49,36% e - 7,5%, para os grupos NaF I (pH 3,4) e NaF II (pH 7,0), respectivamente, apresentaram diferença estatisticamente significativa entre si, (tabela III). O resultado negativo observado para o grupo NaF II representou inibição da fermentação muito pequena, que assumiu tal valor, ao se considerar a inibição do grupo controle com valor zero. Ao observar a tabela IV, constata-se que a porcentagem mais alta de inibição da síntese de PEI pela placa dentária (88,29%) foi também da solução de SnF₂ e que as porcentagens das soluções de NaF I e NaF II foram de 45,23% e 15,66%, respectivamente.

TABELA I -Efeito do pré-tratamento com o fluoreto estano e fluoreto de sódio sobre a fermentação da placa dentária humana "in vitro"

Grupo	número de amostras	ml de NaOH 0,01 N por 100 mg de placa		
		X	S	% de inibição
controle	10	7,86	2,32006	-
SnF ₂	10	1,01	0,97803	87,15
NaFI	10	3,98	2,11597	49,36
NaFII	10	8,45	1,62635	-7,5

TABELA II - análise de variância das médias de fermentação da placa pré-tratada com os inibidores.

fonte de variação	soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	"F"
Entre grupos	366,201	3	122,067	36,2713
Dentro de grupos	121,154	36	3,365	-
Total	487,335	39		

* = significante F_{3,36} (5%) = 2,87

TABELA II - Comparações individuais (teste de Tukey - Kramer) da fermentação da palca dentária pré-tratada com os inibidores.

Comparação	Diferença
controle X SnF ₂	6,85*
controle X NaFI	3,88*
controle X NaFII	0,58

SnF ₂ X NaFI	2,97*
SnF ₂ X NaFII	7,44*-
NaFI X NaFII	4,47*
* = significante	Valor Crítico = 2,21026

TABELA IV -Efeito do pré-tratamento com o fluoreto estano e fluoreto de sódio sobre a síntese da PEI pela placa dentária humana "in vitro".

Grupo	número de amostras	mg de PEI por 100 mg de placa		
		X	S	% de inibição
controle	10	3,6831	0,51174	-
SnF ₂	10	0,431	0,44082	88,29
NaFI	10	2,0169	0,52898	45,23
NaFII	10	3,1062	1,09087	15,66

TABELA V - Análise de variância das médias de síntese de PEI pela placa dentária pré-tratada com inibidores.

fonte de variação	soma dos quadrados	Graus de liberdade	Quadrado médio	"F"
Entre grupos	61,3589	3	20,453	42,4766
Dentro de grupos	17,3344	36	0,4815	-
Total	78,6933	39		

* = significante F_{3,36} (5%) = 2,87

TABELA VI - Comparações individuais (teste de Tukey - Kramer) de síntese de PEI pela placa dentária pré-tratada com inibidores.

Comparação	Diferença
controle X SnF ₂	3,2521*
controle X NaFI	1,6662*
controle X NaFII	0,5769
SnF ₂ X NaFI	1,5859*
SnF ₂ X NaFII	2,6752*-
NaFI X NaFII	1,0893*
* = significante	Valor Crítico = 0,836042

DISCUSSÃO

A eficácia dos fluoretos estano e de sódio como inibidores da placa dentária tem sido comprovadas em diversos estudos, embora com diferentes intensidades^{2,3,7,8,12,17,28,29,30,31,32}. A inibição da atividade metabólica "in vitro" neste trabalho (tabelas I, III, IV e VI), confirmou tais dados. A elevada porcentagem de inibição da fermentação obtida com o pré-tratamento pelo SnF₂ (tabela I), confirmou dados da literatura sobre sua capacidade de reduzir a produção ácida da placa bacteriana^{3,7,8,12,27}, bem como a de inibir a queda do pH da placa estimulada pelo uso de soluções de sacarose³².

As diferenças na porcentagem de inibição, entre as soluções NaF I e NaF II, podem talvez ser explicadas pelo diferente pH dessas soluções. O valor do pH das soluções de fluoreto de sódio, foi de 3,4 para o NaF I e neutro ou 7,0 para o NaF II, o que parece ser o fator de aumento do efeito antimetabólico desses fluoretos sobre a placa bacteriana (tabelas I, III, IV e VI), conforme relatos anteriores^{19,27}. Parece haver mais ácido fluorídrico (HF) disponível para penetrar na célula bacteriana, num ambiente mais ácido.

O mecanismo pelo qual o fluoreto estano reduz a atividade metabólica da placa bacteriana inclui a oxidação dos grupos tiol^{7,27} e a inibição da atividade enzimática, afetando a penetração da glicose na célula bacteriana, reação esta que, poderia ser a responsável pela redução da acidogenicidade da placa ou até pela inibição da mesma, após a exposição ao fluoreto estano²⁷.

Os resultados quanto a inibição do PEI pelas bactérias da placa obtidos com o fluoreto estano e com o fluoreto de sódio, confirmam dados de trabalhos anteriores^{1, 4 e 12}, embora desenvolvidos com metodologias diferentes. Apesar da ação do SnF₂ como inibidor da microbiota cariogênica ter sido demonstrada por alguns autores^{2,11,30}, parece não haver consenso quanto à substância responsável por tal atividade. Alguns autores sustentam a importância do íon flúor^{2,17,27,29} ao passo que outros acreditam na possibilidade de uma ação conjunta entre os íons flúor e estanho². Essa última alternativa é reforçada por ELLINGSEN et al⁷ e por MAYHEN; BROWN²¹, pois verificaram que íons de estanho provenientes de outras fontes que não o fluoreto estano, como o cloreto estânico e o cloreto estano, não apresentaram um atividade inibitória importante sobre a formação da placa bacteriana ou sobre a redução da acidogenicidade da mesma; e que o leve efeito de inibição dos íons

estânicos, poderia ser o resultado de uma inibição da absorção que impediria esse íon de ter efeito direto sobre o metabolismo da placa.

Parece que tanto a solução de fluoreto estano como a de fluoreto de sódio podem influenciar a colonização bacteriana³⁰. Segundo MALTZ; EMILSON¹⁹, entretanto, a atividade inibitória da solução de NaF deve-se ao íon flúor, enquanto que na solução de SnF₂, o componente metálico desempenha a função mais importante sobre seu efeito bactericida.

O emprego de soluções fluoretadas na forma de bochecho além de ser prático, parece ser uma maneira mais efetiva de aplicação tópica na redução da microbiota cariogênica, tanto de placa como de saliva, como foi observado com o SnF₂ por SVANBERG; WESTERGREN²⁶.

Com relação às soluções para bochecho, ELLINGSEN et al⁸ demonstraram a perda das propriedades do SnF₂ em soluções armazenadas. O mesmo autor⁸ ainda considerou o fato do SnF₂ armazenado provocar mais manchas dentária do que as soluções recém-preparadas. No entanto, SVATUN et al²⁸ observaram um efeito residual do fluoreto estano após três semanas de uso, e consideram que o efeito colateral de manchas sobre os dentes foi menor que o observado quando utilizaram a solução de clorexidina.

Neste estudo, "in vitro", a solução de SnF₂ não apresentou redução das suas propriedades inibitórias, apesar de ter sido usado sempre a mesma solução para as dez amostras.

Embora a solução de SnF₂ tenha apresentado resultados altamente promissores, fato este comprovado pelos trabalhos da literatura consultada, apresenta inconvenientes como a sua instabilidade em água, seu sabor desagradável e o fato de manchar os dentes, razões pelas quais o SnF₂ não é encontrado sob a forma de solução para bochechos diários, disponível no mercado e, ainda, o alto custo da solução tem limitado o seu uso clínico.

O fluoreto de sódio, embora com efeito inibitório inferior ao do fluoreto estano, quando com pH 3,4 (NaF I) demonstrou, tanto na fermentação como na síntese de PEI, uma inibição da placa bacteriana estatisticamente significativa (tabelas I, III, IV e VI), o que pode recomendá-lo como coadjuvante dos procedimentos mecânicos de limpeza, sob a forma de bochechos diários, já que não possui nenhum dos efeitos colaterais da solução de fluoreto estano (SnF₂).

Tornam-se necessários, entretanto, trabalhos clínicos que venham comprovar seus efeitos e seus inconvenientes em bochechos diários no pH de 3,4 preconizado neste estudo, o que poderia talvez, potencializar seu efeito anticariogênico sobre o dente e aumentar seu efeito sobre o metabolismo da placa.

Pesquisas, nesse sentido, são válidas pela grande aceitação e uso, por parte dos cirurgiões-dentistas e da população, dos bochechos diários com soluções de fluoreto de sódio (NaF).

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos com a metodologia empregada, permitiram concluir que:

uA solução de SnF₂ inibiu tanto a fermentação como a síntese de PEI de forma estatisticamente significativa, em relação ao controle e às soluções de NaF II (pH 7,0) e NaF I (pH 3,4), nessa ordem;

uA solução de NaF I inibiu tanto a fermentação como a síntese de PEI, de forma estatisticamente significativa em relação ao controle e a solução NaF II;

uA solução de NaF II inibiu apenas a síntese de PEI de forma estatisticamente significativa em relação ao controle.

It was availed "in vitro, the influence of the pre-treatment with stannous fluoride and sodium fluoride solutions on the fermentation and syntesis of the insoluble extracelular polysacarides (IPS) of the dental plaque of the chldiren between 7 and 12 years-old. All the tested substances have inhibited both the fermentation and the syntesis of the IPS the differences of the inhibitionn percentagens for both

fermentation and syntesis of IPS were significant and bigger for the stannous fluoride (ShF₂) compared to the sodium fluoride (NaF I and NaFII), and for the NaF_I compared to NaF_{II}.

UNITERMS: Dental plaque, sodium flouride, Stannous flouride, Preventive dentistry.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGUS, H.M. et al. Ionized and bound fluoride in resting and fermenting dental plaque and individual human caries experience. *Arch. oral Biol.*, v.25, n.8/9, p.517-22, aug/sep, 1980.
2. ANDRES, C.J. et al. Comparison of antibacterial properties of stannous fluoride and sodium fluoride mouthwashes. *J. dent. Res.*, v.53, p.457-60, 1974.
3. BEAZLEY, V.C. et al. Effect of mouthrinses with SnF₂, LaCl₃, NaF and chlorhexidine on the amount of lipoteichoic acid formed in plaque. *Scand. J. dent. Res.*, v.88, n.3, p.193-200, may/jun, 1980.
4. BOWEN, W.H.; HEWITT, M.J. Effect of fluoride on extracelular polysaccharide production by streptococcus mutans. *J. dent. Res.*, v.53, n.3, p.627-9, may/jun, 1974.
5. BROWN, L.R. et al. Effects of a single application of sodium fluoride gel on dental plaque acidogenesis. *J. dent. Res.*, v.60, n.8, p.1396-402, aug., 1981.
6. DUBOIS, M. et al. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analyt. Chem.*, v.28, p.350-6, 1956.
7. ELLINGSEN, J.E. et al. The effects of stannous and stannic ions on the formation and acidogenicity of dental plaque "in vivo". *Act. odont. scand.*, v.38, n.4, p.219-22, aug., 1980.
8. ELLINGSEN, J.E. et al. Effect on plaque formation and acidogenicity of stored aqueous solutions of stannous fluoride. *Scand. J. dent. Res.*, v.90, n.6, p.429-33, nov/dec., 1982.
9. GIBBONS, R.J.; BANGHART, S.B. Synthesis of extracelular dextran by cariogenic bacteria and its presence in human dental plaque. *Arch. oral Biol.*, v.12, n.1, p.11-24, jan., 1967.
10. GIBBONS, R.J.; VAN HOUTE, J. On the formation of dental plaques. *J. Periodont.*, v.44, n.6, p.347-60, jun., 1973.
11. GROSS, A.; TINANOFF, N. Effect of SnF₂ mouthrinse on initial bacterial colonization of tooth enamel. *J. dent. Res.*, v.56, n.10, p.1179-83, oct., 1977.
12. HOFFMAN, S. et al. Antiplaque potencial of topical stannous fluoride. *J. dent. Res.*, v.56, n.7, p.709-15, jul., 1977.
13. JENKINS, G.N. The effect of pH on the fluoride inhibition of salivary acid production. *Arch. oral Biol.*, v.1, n.1, p.33-41, 1959.
14. JENKINS, G.N. The mode of formation of dental plaque. *Caries Res.*, v.2, n.2, p.130-8, 1968.
15. KEYES, P.H. Recent advances in dental caries research. *Int. dent. J.*, v.12, p.443-64, 1962.
16. KEYES, P.H. Research in dental caries. *J. Amer. dent. Ass.*, v.76, p.1357-73, 1968.
17. KILIAN, M. et al. Effects of fluoride on the initial colonization of teeth "in vivo". *Caries Res.*, v.13, n.6, p.319-29, nov/dec., 1979.
18. KLEINBERG, I. Biochemistry of dental plaque. *Adv. oral Biol.*, v.4, p.43-90, 1970.
19. MALTZ, M.; EMILSON, C.G. Susceptibility of oral bacteria to various fluoride salts. *J. dent. Res.*, v.61, n.6, p.786-90, jun., 1982.
20. MANDEL, I.D. Dental plaque: nature, formation and effects. *J. Periodont.*, v.37, p.357-67, 1966.
21. MAYHEW, R.; BROWN, L.R. Effects of SnF₂, NaF and SnCl₂ on the growth of *S. mutans*. *J. dent. Res.*, v.59 (Sp. issue A) 397, 1980. /ABSTRACT 517/.
22. MECKEL, A.H. The nature and importance of organic deposits on dental enamel. *Caries Res.*, v.2, n.2, p.104-14, 1968.
23. ROLLA, G. Effects of fluoride on initiation of plaque formation. *Caries Res.*, v.11, p.243-61, 1977.
24. SCHEFFÉ, H. The analysis of variance. London, John Wiley, 1959. p.55-89, 90-146.
25. SOCRANSKY, S.S. Relationship of bacteria to the etiology of periodontal disease. *J. dent. Res.*, v.49, p.203-22, 1970. Supplement.
26. SVANBERG, M.; WESTERGREN, G. Effect old SnF₂, administered as mouthrinses or topically applied on

- streptococcus mutans, streptococcus sanguis and lactobacilli in dental plaque and saliva. **Scand. J. dent. Res.**, v.91, n.2, p.123-9, mar/apr., 1983.
27. SVATUN, B.; ATTRAMADAL, A. The effect of stannous fluoride on human plaque acidogenicity in situ (Stephan curve). **Acta odont. Scand.**, v.36, n.4, p.211-8, jul/aug., 1978.
28. SVATUN, B. et al. A comparison of the plaque - inhibiting effect old stannous fluoride and chlorhexidine. **Acta odont. Scand.**, v.35, n.5, p.247-50, sep/oct., 1977.
29. TINANOFF, N. et al. The effect of NaF and SnF₂ mouthrinses on bacterial colonization of tooth enamel: TEM and SEM studies. **Caries Res.**, v.10, p.415-26, 1976.
30. TINANOFF, N.; CAMOSCI, D.A. Microbiological, ultrastructural and spectroscopic analyses of the anti-tooth - plaque properties of fluoride compound "in vitro". **Arch.oral Biol.**, v.25, n. 8/9, p.531-41, aug/sep., 1980.
31. TINANOFF, N. et al. Effect of stannous fluoride mouthrinse on dental plaque formation. **J. clin. Periodont.**, v.7, n.3, p.232-41, mar., 1980.
32. YANKELL, S.L. et al. Clinical effects of using stannous fluoride mouthrinses during a five day study in the absence of oral hygiene. **J. Periodont. Res.**, v.17, n.4, p.374-9, jul, 1982.