

Atividade Antimicrobiana de Produtos Fluoretados sobre Bactérias Formadoras do Biofilme Dentário: Estudo in vitro

Antimicrobial Activity of Fluoridated Products on Biofilm-Forming Bacteria: An in Vitro Study

Tallyta Maria Santos ALVES¹, Camila Alves SILVA¹, Naiana Braga da SILVA¹, Eliane Batista de MEDEIROS², Ana Maria Gondim VALENÇA³

¹Cirurgiã-Dentista, João Pessoa/PB, Brasil.

²Professora Adjunta do Departamento de Clínica e Odontologia Social da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa/PB, Brasil.

³Professora do Programa de Pós-Graduação em Modelos de Decisão e Saúde da Universidade Federal da Paraíba (UFPB), João Pessoa/PB, Brasil.

RESUMO

Objetivo: Avaliar a atividade antimicrobiana de produtos fluoretados sobre cepas de referência de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis* e *Lactobacillus casei*.

Método: Comparou-se os produtos a base de diamino-fluoreto de prata (Cariestop® a 12%, Cariostal® a 16% e o Cariestop® a 30%), gel acidulado (Flutop®) e espuma acidulada (Flúor Care®), sob a forma pura e em seis diluições (1:2 a 1:64), determinando-se a Diluição Inibitória Máxima (DIM) com a clorexidina (controle positivo). Para verificação a DIM, utilizou-se o método da difusão em ágar e a técnica do ágar recortado, posterior incubação em microaerofilia por 48 horas, seguindo-se da mensuração dos halos de inibição. Os testes foram realizados em duplicata, procedendo-se a análise descritiva dos dados.

Resultados: O Cariostal a 16% teve sua DIM de 25% sobre o *S. mutans*, evidenciando-se inibição sobre o *S. oralis* na sua forma pura. Em relação ao Cariestop a 30%, constatou-se que ele inibiu o *S. mutans* e o *S. oralis* na sua forma pura e na diluição de até 1:2, sendo o único produto testado a formar halo de inibição para o *L. casei* (forma pura). A espuma ácida não demonstrou atividade antimicrobiana sobre as cepas testadas enquanto o gel de fluorofosfato acidulado inibiu o crescimento de *S. mutans* e *S. oralis* apresentando a DIM de 50% sobre estas bactérias.

Conclusão: A maioria dos cariostáticos apresentou atividade antimicrobiana sobre *S. mutans* e *S. oralis*. O gel demonstrou ação antimicrobiana sobre *S. mutans* e *S. oralis*, não sendo evidenciado efeito sobre o *L. casei* enquanto tal atividade não foi verificada para a espuma sobre as cepas testadas.

ABSTRACT

Objective: To evaluate the antimicrobial activity of fluoridated products on reference strains of *Streptococcus mutans*, *Streptococcus oralis* and *Lactobacillus casei*.

Method: The antibacterial activity of products based on silver diamine fluoride at 12% (Cariestop®), 16% (Cariostal®) and 30% (Cariestop®), acidulated phosphate fluoride gel (Flutop®) and acidulated phosphate fluoride foam (Flúor Care®) in their pure form and in 6 dilutions (1:2 to 1:64) was evaluated by determination of the maximum inhibitory dilution (MID), having chlorhexidine as the positive control. For determination of the MID, the agar diffusion method and the agar well technique were performed, followed by incubation in microaerophilia for 48 hours. The analysis of MID data was based on the measurement of the zones of bacterial growth inhibition (in mm) formed around the wells. All tests were performed in duplicate and the data were analyzed descriptively.

Results: Cariostal® presented 25% MID against *S. mutans*, inhibited of *S.oralis* in its pure form. Cariestop® inhibited *S. mutans* and *S. oralis* in its a form and in dilutions up to 1:2, being the only product that formed an inhibition zone against *L. casei* (pure form). The acidulated phosphate fluoride foam did not show antimicrobial activity against the tested strains, the while acidulated phosphate fluoride gel inhibited the growth of *S. mutans* and *S. oralis*, presenting 50% MID against the bacteria

Conclusion: Most cariostatic agents presented antimicrobial activity against *S. mutans* and *S. oralis*. The acidulated phosphate fluoride gel showed antimicrobial action against *S. mutans* and *S. oralis*, but had not effect against *L. casei*. The acidulated phosphate fluoride foam showed no antimicrobial activity against the tested strains.

DESCRITORES

Cárie dentária; Fluoretos; Odontologia preventiva.

KEYWORDS

Dental caries; Fluorides; Preventive dentistry.

INTRODUÇÃO

Apesar das condições de saúde bucal ter melhorado nas últimas décadas, a cárie dentária permanece como um problema de saúde pública, que tem sido objeto de atenção por parte da Organização Mundial de Saúde (OMS), por intermédio da realização de programas de prevenção.

Por meio dos dados do projeto SB Brasil¹, observou-se que: 26,86% das crianças nas faixas etárias de 18 a 36 meses apresentaram $\text{ceo-d} \geq 1$; entre as crianças com 5 anos, 59,37% eram portadoras de cárie; aos 12 anos, 68,92% dos escolares examinados apresentaram cárie.

Não obstante a cárie ser de caráter multifatorial, o biofilme dentário é o seu principal fator etiológico, deve ele ser removido ou desorganizado para impedir a ação das bactérias e, conseqüentemente, evitar a desmineralização do esmalte dental. Diante disso, diversas estratégias de prevenção buscam a remoção ou controle desse fator.

O biofilme é a primeira etapa para a formação das lesões de cárie. Sua formação é dependente de interações dos microrganismos com o dente e dos microrganismos entre si e pode ser caracterizada por vários estágios arbitrários: formação da película adquirida, adesão às células bacterianas simples, crescimento de bactérias aderidas, formando microcolônias distintas, sucessão e co-agregação microbiana e comunidade clímax, que é o biofilme maduro².

Os *S. mutans* são os microrganismos mais relacionados com a cárie dentária em humanos por possuírem a capacidade de colonizar os dentes, produzirem polissacarídeos intra e extracelulares, serem altamente acidogênicos e acidúricos e metabolizarem várias glicoproteínas salivares³, sendo responsáveis principalmente pela fase inicial da lesão. E os lactobacilos, por não possuírem capacidade de aderência à superfície dentária, estão mais associados à progressão da lesão cariiosa.

Os *S. oralis*, *S. sanguis*, *S. mitis* e *S. salivarius* também são comumente encontrados no biofilme, porém, por não serem acidogênicos, nem acidúricos, estão presentes em seu estágio inicial de formação, não atuando diretamente na desmineralização do esmalte dentário, apenas tornando o meio mais adequado para colonização dos *S. mutans*⁴.

A utilização do fluoreto, em suas diversas formas, é um dos principais responsáveis pela queda da prevalência da cárie em nível mundial e também pela diminuição de sua severidade e progressão⁵.

Torna-se importante ressaltar que o fluoreto não

impede a cárie, pois não é capaz de interferir nos fatores responsáveis pela doença, que consiste na formação de biofilme e na transformação de açúcares em ácido. Isto mostra a importância do controle do biofilme dental e/ou dieta para que o efeito máximo seja obtido. Por outro lado, embora o flúor não impeça a iniciação da doença, ele é bem eficiente em reduzir sua progressão⁶.

Há um consenso de que o fluoreto importante é aquele mantido constante e em pequenas quantidades na cavidade bucal, o qual é capaz de interferir com a dinâmica do processo de cárie, reduzindo a quantidade de minerais perdidos quando do fenômeno da desmineralização e ativando a quantidade reposta quando da remineralização salivar⁷.

O mecanismo pelo qual os fluoretos conferem maior resistência ao esmalte dentário ocorre na superfície dessa estrutura, ao longo de toda a vida, mediante sucessivos episódios de desmineralização e remineralização superficial, desencadeados pela queda de pH decorrentes da produção de ácidos a partir de carboidratos. A presença contínua, ao longo de toda a vida do indivíduo, de pequenas quantidades de íon flúor no meio bucal é, portanto, indispensável para que o efeito preventivo se manifeste, com a formação de fluoreto de cálcio na etapa de remineralização⁷. Admite-se que essa nova superfície, contendo flúor, é muito menos solúvel em ácidos que a superfície de esmalte original⁸. Portanto, o fluoreto de cálcio (CaF_2), formado a partir das aplicações tópicas de fluoreto, age como um reservatório de fluoretos na cavidade oral, aumentando a remineralização e retardando o processo de desmineralização⁹.

Um número crescente de trabalhos indica que, além da atividade durante a mineralização, o íon fluoreto contribui para efeito cariostático porque também influi na ecologia do biofilme dentário¹⁰. Neste sentido, o fluoreto pode inibir o metabolismo bacteriano de *S. mutans* e lactobacilos. Entretanto a concentração de fluoreto necessária para que haja efeito antimicrobiano é significativamente maior que a necessária para reduzir a solubilidade do esmalte¹¹, favorecendo a ação antimicrobiana somente quando os níveis de fluoretos excedem bastante aqueles prevaletentes na cavidade bucal, como na ATF profissional¹².

O flúor presente na saliva, no biofilme ou no esmalte, perturba a colonização bacteriana, seu crescimento, sua multiplicação e/ou fermentação dos carboidratos, mesmo aqueles com baixo peso molecular. Entretanto, sabe-se que uma concentração elevada de flúor, cerca de 100 ppm, reduz alguns sinais vitais das bactérias e que sua diminuição provoca uma redução paralela do seu efeito nas mesmas. Cerca de 20 ppm de flúor no meio de crescimento virtualmente não afeta a maioria das

bactérias¹³.

São muitos os produtos fluoretados disponíveis para aplicação tópica, dentre os quais se destacam: dentifrícios, bochechos com soluções de fluoreto de sódio (NaF), géis e espumas, vernizes e cariostáticos a base de diamino fluoreto de prata (DFP).

Constata-se na literatura a presença de pesquisas envolvendo estes distintos métodos de aplicação tópica de fluoretos. Contudo, evidencia-se que são poucos os trabalhos relativos ao DFP e às espumas fluoretadas.

Em relação ao DFP, o seu mecanismo de ação se baseia na atuação dos seus dois principais constituintes, o nitrato de prata (AgNO_3) e o fluoreto de sódio (NaF). Este cariostático age tanto na porção inorgânica do elemento dentário quanto na porção orgânica, sendo o fluoreto de sódio responsável pela parte inorgânica, que é a hidroxiapatita, e o nitrato de prata pela porção orgânica, que são as proteínas¹⁴.

Além das propriedades físico-químicas, este cariostático apresenta ação cariostática, ação anticariogênica, ação preventiva, ação remineralizante e ação dessensibilizante. Com estas propriedades o diamino é capaz de inibir a cárie bem como a sua sintomatologia¹⁵.

Por meio de revisão sistemática, constatou-se que enquanto ainda permanecem questões sem resposta acerca do DFP, há estudos que suportam a hipótese deste produto possuir um benefício significativo e substancial no controle e prevenção da cárie dentária. Ademais, a aplicação do DFP é simples, a solução é de baixo custo e sua aplicação profissional não requer treinamento complexo¹⁶.

No que concerne à aceitação dos pais de crianças brasileiras de 0 a 3 anos na utilização do DFP, sobre dentes decíduos portadores de lesões cáries, constatou-se que os responsáveis consideraram que a estética não é um fator decisivo no momento da indicação deste agente¹⁷.

Dentre os produtos fluoretados disponíveis comercialmente, encontram-se também os géis e espumas, nas formas acidulada e neutra, os quais são particularmente indicados em pacientes com alta atividade de cárie. Estes agentes, por possuírem alta concentração de fluoreto, podem interferir com o metabolismo bacteriano de microrganismos formadores do biofilme dentário.

O gel de fluorofosfato acidulado é o produto de aplicação tópica profissional mais utilizado, consistindo em uma mistura de fluoreto de sódio, ácido fluorídrico e ácido fosfórico, com concentração de 1,23% de fluoreto, 0,98% de ácido fosfórico e um pH entre 3 e 4. A criação de géis tixotrópicos favorece a prática com pacientes infantis, já que reduz o tempo de aplicação¹⁸. O seu pH

ácido possibilita um maior número de ligações do cálcio, presente no mineral do dente com o fluoreto, formando grande quantidade de CaF_2 .

Para minimizar a exposição sistemática do flúor, sugeriu-se diminuir a quantidade de fluoreto ou refinar a técnica de aplicação. Outro meio é a utilização de um produto novo, a espuma, que apresenta a mesma concentração de F- e o pH dos géis convencionais, mas por apresentar menor densidade, uma menor quantidade de fluoreto é utilizada durante sua aplicação, diminuindo o risco de toxicidade¹⁹.

Estudos demonstram que a quantidade de fluoreto é cerca de 4-5 vezes menor quando se emprega uma espuma, em comparação com um gel que apresenta a mesma concentração e que a incorporação deste íon no esmalte é semelhante quando do uso desses veículos²⁰.

Nesta ordem de idéias, parece razoável admitir a possibilidade destes produtos, que possuem diferentes veículos, e distintas concentrações de fluoreto e de valores de pH, apresentarem atividade antimicrobiana sobre bactérias formadoras do biofilme dentário.

Diante do exposto, constata-se a importância de estudar a atividade antimicrobiana dos cariostáticos, do gel e da espuma fluoretadas, e verificar seu efeito antimicrobiano sobre bactérias formadoras do biofilme dental.

METODOLOGIA

Este estudo teve uma abordagem indutiva com procedimento estatístico-comparativo utilizando técnicas de observação direta intensiva em laboratório²¹.

Foram avaliados os produtos descritos no Quadro 1, os quais foram adquiridos em casas de produtos odontológicos. Como controle positivo, utilizou-se a clorexidina a 0,12%.

Quadro 1. Produtos a base de diamino fluoreto de prata utilizados.

Produto	Forma de Apresentação	Concentração de fluoreto	Fabricante
Cariestop	Solução	12%	Biodinâmica
Cariostal	Solução	16%	Iodontec
Cariestop	Solução	30%	Biodinâmica
Flutop	Gel	1,23%	Inodon
Flúor Care	Espuma	1,23%	FMG Produtos Odontológicos
Clorexidina a 0,12%	Solução	Isenta de fluoreto	Farmácia de manipulação

Para testar a atividade antimicrobiana dos produtos selecionados foram utilizadas cepas de referência

de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, *Streptococcus salivarius* ATCC 7073 e *Lactobacillus casei* ATCC 9595, escolhidos por estarem entre os microrganismos mais comumente encontrados na cavidade oral e na composição do biofilme dentário.

As cepas estavam conservadas em caldo BHI acrescido de glicerol, para impedir que as bactérias congelassem, a uma temperatura média de -20°C. Para desempenhar o teste, as mesmas foram reativadas em Ágar Mueller Hinton acrescido de 5% de sangue para confecção da “placa mãe”, pela técnica do esgotamento, com o objetivo de individualizar as colônias para realizar as provas do Gram. As placas eram semeadas com auxílio de alças flambadas e em seguida incubadas a 37°C, em microaerofilia, por 48 horas.

Após a reativação e identificação das bactérias foi realizada a determinação da Diluição Inibitória Máxima (DIM) em Ágar Mueller Hinton acrescido de 5% de sangue, pelo método da difusão em ágar e técnica

do ágar recortado, pelo qual o inóculo foi semeado em placas Petri com o auxílio de swabs, com posterior perfuração de poços de aproximadamente 6mm no meio sólido para colocação de 50µL das diluições. Foram realizadas 6 diluições do cariostático, iniciando-se da 1:2 e chegando a 1:64, como também foi testada na sua forma pura. Em seguida as placas foram incubadas a 37°C, em microaerofilia, por 48 horas. Todos os testes foram realizados em duplicata para garantir a reprodutibilidade dos resultados a serem encontrados.

A DIM foi considerada como a maior faixa de diluição dos produtos capaz de inibir crescimento bacteriano com formação de halos de inibição que foram mensurados em milímetros, com auxílio de paquímetro.

Os resultados obtidos foram submetidos à análise descritiva, verificando-se a atividade antimicrobiana dos agentes fluoretados sobre as cepas padrão em teste, considerando-se a maior diluição capaz de formar halos de inibição.

RESULTADOS

Em relação ao *Streptococcus mutans*, foi possível observar que o Cariostal a 16% foi o que demonstrou maior capacidade de inibir esta bactéria. O gel de fluorofosfato acidulado inibiu o crescimento de *S. mutans*, apresentando a DIM de 50%, com halo de 21mm enquanto esta inibição não foi observada para a espuma (Quadro 2).

O Quadro 3 revela que, em se tratado do *Streptococcus oralis*, o Cariestop a 30% foi o cariostático que apresentou maior capacidade de inibir esta bactéria. Contatou-se que o gel teve ação sobre *S. oralis* com DIM de 50% e halo medindo 17mm. Em contrapartida, a espuma acidulada, não demonstrou atividade antibacteriana sobre o *S. oralis*.

Quadro 2. Ação das soluções em teste sobre *Streptococcus mutans* por meio de diluições seriadas.

Diluição / %	Cariestop 12%	Cariostal	Cariestop 30%	Flutop	Flúor Care	Clorexidina
1.0 (100%)	9mm	19mm	12mm	27mm	---	18mm
1.2 (50%)	---	13mm	8mm	21mm	---	16mm
1.4 (25%)	---	10mm	---	---	---	14mm
1.8 (12,5%)	---	---	---	---	---	10mm
1.16 (6,25%)	---	---	---	---	---	9mm
1.32 (3,125%)	---	---	---	---	---	8mm
1.64 (1,56%)	---	---	---	---	---	---

(---) Não houve halos de inibição.

Quadro 3. Ação das soluções em teste sobre *Streptococcus oralis* por meio de diluições seriadas.

Diluição / %	Cariestop 12%	Cariostal	Cariestop 30%	Flutop	Flúor Care	Clorexidina
1:0 (100%)	9,5mm	8mm	11,5mm	33mm	---	18mm
1:2 (50%)	---	---	9,5mm	17mm	---	16mm
1:4 (25%)	---	---	---	---	---	14mm
1:8 (12,5%)	---	---	---	---	---	13mm
1:16 (6,25%)	---	---	---	---	---	12mm
1:32 (3,125%)	---	---	---	---	---	8mm
1:64 (1,56%)	---	---	---	---	---	---

(---) Não houve halos de inibição.

Para os *Lactobacillus casei*, o Cariestop a 30% foi o único cariostático que apresentou a capacidade de inibir esta bactéria, não sendo verificada ação bacteriana do gel e da espuma sobre este microrganismo (Quadro 4).

O controle positivo, clorexidina a 0,12%, apresentou DIMs variando de 12,5% a 3,125%, demonstrando seu

potencial antimicrobiano sobre as bactérias utilizadas na presente pesquisa. Pode-se observar que o *S. oralis* exibiu menor resistência à clorexidina, com DIM de 12,5%. No Quadro 5 estão expressos os valores da DIM para distintos produtos e cepas testadas.

Quadro 4. Ação das soluções em teste sobre *Lactobacillus casei* por meio de diluições seriadas.

Diluição / %	Cariestop 12%	Cariostal	Cariestop 30%	Flutop	Flúor Care	Clorexidina
1.0 (100%)	---	---	9mm	---	---	18mm
1.2 (50%)	---	---	---	---	---	16mm
1.4 (25%)	---	---	---	---	---	14mm
1.8 (12,5%)	---	---	---	---	---	13mm
1.16 (6,25%)	---	---	---	---	---	12mm
1.32 (3,125%)	---	---	---	---	---	8mm
1.64 (1,56%)	---	---	---	---	---	---

(---) Não houve halos de inibição.

Quadro 5. Valores da DIM e respectivos halos de inibição em milímetros.

Produto	<i>S. mutans</i>	<i>S. oralis</i>	<i>L. casei</i>
Cariestop 12%	100% - 9mm	100% - 9,5mm	---
Cariostal	25% - 10mm	100% - 8mm	---
Cariestop 30%	50% - 8mm	50% - 9,5mm	100% - 9mm
Flutop	50% - 21mm	50% - 17mm	---
Flúor Care	---	---	---
Clorexidina 0,12%	3,125% - 8mm	12,5% - 8mm	3,125% - 8mm

(---) Não houve halos de inibição.

DISCUSSÃO

Diante das limitações do estudo in vitro, é importante ressaltar que os resultados encontrados podem não corresponder aos comportamentos reais dos produtos testados in vivo, uma vez que os mesmos não estão expostos às mesmas condições da cavidade oral. No entanto, trabalhos laboratoriais são necessários para fornecer subsídios à realização de testes clínicos posteriores²².

Os microrganismos específicos da doença cárie, fazem com que o biofilme dental, seja constituído por uma microbiota anaeróbica, Gram positiva e sacarolítica. Esta microbiota é representada basicamente pelos streptococcus do grupo mutans²³, que não são considerados bons colonizadores primários dos dentes uma vez que há outros estreptococos bucais como *S. sanguis*, *S. mitis*, *S. gordonii* e *S. oralis* que apresentam adesinas de maior afinidade à película adquirida²⁴.

Objetivando-se avaliar a atividade antimicrobiana dos produtos fluoretados escolhidos sobre espécies pertencentes a diferentes grupos de Streptococcus spp., inerentes à microbiota da cavidade oral de humanos, selecionou-se *S. mutans* e *S. oralis* para serem avaliados.

Os *Lactobacillus spp.* também são encontrados na grande maioria das lesões de cárie e a proporção destes no biofilme dentário e na saliva permite uma correlação positiva com a frequência e atividade de cárie, apresentando caracteristicamente, a combinação da capacidade acidúrica e da forte capacidade acidogênica, consideradas como fator de virulência destes microrganismos. Entretanto, são encontradas maiores concentrações dessas bactérias na presença de cavitações, quando ficam retidas em nichos⁴.

Devido à relação positiva existente entre níveis de Lactobacillus e a presença de lesões cariosas em humanos, selecionou-se o *L. Casei* como outra cepa a ser avaliada nos testes de susceptibilidade neste trabalho.

A identificação de *S. mutans* é baseada na sua morfologia colonial, seletividade ao meio de cultura, coloração de Gram, morfologia à microscopia ótica e características de crescimento específicas quanto ao padrão enzimático e assimilação de açúcares²³.

Os halos de inibição encontrados em teste de difusão corresponderam aos padrões definidos como controle positivo²⁵. Nesta pesquisa, a clorexidina a 0,12% foi empregada como controle positivo, e o limite mínimo do halo para considerar a DIM foi 8mm.

A clorexidina é um dos agentes antimicrobianos mais estudados e mais potentes. É usada como padrão ouro para medir a potência de outros produtos¹³. Desta forma, a clorexidina 0,12%, por ser considerada um poderoso anti-séptico, ter sido amplamente estudada e por ser empregada como controle positivo em trabalhos semelhantes a presente pesquisa²⁵, foi o produto utilizado como controle positivo para verificar a ação antimicrobiana dos produtos testados. Na presente pesquisa adotou-se a clorexidina 0,12% como controle, sendo o halo definido como limite mínimo para considerar a DIM em tamanho de 8mm.

Alguns estudos clínicos foram realizados com o DFP, destinados a verificar a sua ação cariostática e anticariogênica. Entretanto poucas pesquisas in vitro se propuseram a avaliar a atividade antimicrobiana desse agente contra bactérias formadoras do biofilme dentário. Por conseguinte, e levando-se em consideração que a literatura é escassa em informações relativas às propriedades antimicrobianas do DFP sobre bactérias formadoras do biofilme dental, os resultados oriundos da pesquisa em tela contribuíram para uma melhor compreensão acerca do mecanismo de ação desses cariostáticos.

O gel acidulado é um dos produtos de aplicação tópica de flúor mais utilizados na odontologia e a espuma ácida vem ganhando mais espaço na rotina do consultório devido ao menor risco de exposição do paciente aos efeitos indesejáveis dos fluoretos. Por estes motivos, estes produtos foram os escolhidos para serem avaliados quanto à atividade antimicrobiana.

Os achados do presente trabalho apontam que os cariostáticos nas concentrações de 12%, 16% e 30%, demonstraram atividade antimicrobiana sobre quase todas as cepas testadas, apresentando diferentes halos de inibição para as distintas concentrações.

Dante dos resultados obtidos em relação ao *S. mutans*, o DFP a 16% foi o que exibiu maiores halos de inibição, inibindo a bactéria até na sua diluição de 1:4, não apresentando halos para as demais diluições. Os diâmetros dos halos foram de 19mm na forma pura, 13mm na diluição de 1:2 e 9mm na diluição de 1:4, discordando de autores²⁶ que ao comparar três concentrações de DFP (10%,12% e 30%), em estudo in vitro afirmaram que quanto maior a concentração da solução cariostática maior e o seu efeito antimicrobiano. Nesse mesmo estudo, ao se analisar a capacidade inibitória imediata de diversos agentes cariostáticos em contato direto com os microrganismos, constatou-se que o DFP a 30% foi o que apresentou maiores medias de diâmetros dos halos frente a todos os tipos de *S.mutans* testados.

Entretanto em relação ao *S. oralis* e ao *L. casei* os

maiores halos de inibição encontrados foram conferidos ao cariostático de concentração 30%, corroborando, para estas bactérias, com a literatura²⁶. Para o *S. oralis* o diâmetro dos halos apresentados por este cariostático, foram de 11,5 na sua forma pura e de 9,5 na diluição de 1:2, não sendo evidenciado halos para as demais diluições. Para o *L. casei* o halo de inibição observado para este mesmo cariostático foi de 9mm, não apresentando inibição nas outras diluições e sendo, esta bactéria inibida apenas por este produto. O cariostático a 16% e a 12% referente às bactérias, *S. oralis* e *L. casei* exibiram halos de inibição de 8mm e de 9,5mm, respectivamente, ambos na sua forma pura, discordando novamente de estudo anterior²⁶ no qual o cariostático a 12% demonstrou maior efeito antimicrobiano do que o a 16%, sendo este mais concentrado.

O potencial antimicrobiano do DFP, assim como em nossa pesquisa, foi comprovado por um estudo in vitro²⁷ para testar a menor concentração do DFP capaz de inibir o crescimento bacteriano no meio sólido (CIMS). Nesta pesquisa o produto foi testado na sua forma pura e até a diluição de 1:512. As cepas testadas foram: *S. mutans*, *S. sobrinus*, *S. mitis*, *S. sanguis* e *L. casei*. O DFP apresentou halos de inibição sobre todas as linhagens bacterianas testadas, apresentando diferentes diâmetros dos halos para as diferentes diluições do produto. Na sua forma pura o DFP foi capaz de inibir todas as cepas testadas, apresentando halos que variaram de 20mm para o *S. mutans* até 23mm para o *L.casei*. Até a diluição de 1:4 o produto também inibiu todas as bactérias testadas, entretanto nas demais diluições apenas algumas bactérias foram inibidas pelo cariostático, e apenas o *S. sanguis* e *L. casei* foram inibidos na diluição de 1:10.

Em estudo realizado in vivo²⁸ a atividade antimicrobiana do DFP a 12%, foi comprovada como na presente pesquisa realizada in vitro. Estes autores compararam a ação do Duraphat e DFP a 12% sobre a contagem de *S. mutans* na dentição decídua, após uma única aplicação. Foram separadas 30 crianças e divididas em 2 grupos, um que recebeu a aplicação do verniz Duraphat e outro que recebeu o DFP. A saliva das crianças foi coletada antes e uma semana após a aplicação dos fluoretos. Apesar de ambos terem apresentado potencial bactericida, os melhores resultados foram conferidos ao DFP, onde ocorreu um maior decréscimo na contagem do *S.mutans*.

Embora nem todas as concentrações utilizadas nessa pesquisa apresentaram efeito antimicrobiano em suas distintas diluições, sendo alguns efeitos apresentados apenas na sua forma pura, sobre as cepas testadas, não se deve desconsiderar que a solução de DFP promove uma expressiva redução bacteriana nos níveis salivares

de *S. mutans* na saliva, mesmo com uma única aplicação do produto¹⁴.

Como mencionado em trabalho anterior²⁶, não foi encontrado em toda literatura consultada, qualquer estudo que comparasse várias soluções de DFP em concentrações diferentes para servir de parâmetro para o desenvolvimento do nosso trabalho e para confrontar com os resultados encontrados. A mesma dificuldade foi encontrada para desenvolver esta pesquisa, não havendo literatura suficiente para discutir os resultados obtidos.

A clorexidina a 0,12%, utilizada como produto controle, apresentou DIMs que variaram de 12,5% a 3,125%, confirmando seu potencial antibacteriano sobre os microrganismos utilizados no presente estudo, corroborando com a literatura pesquisada²⁵.

Em se tratando da espuma ácida, neste trabalho, não foi observada atividade antimicrobiana sobre as cepas testadas, discordando da pesquisa²⁹ que avaliou a susceptibilidade antibacteriana in vitro de vários agentes fluoretados sobre bactérias formadoras do biofilme dentário e verificaram que a mesma espuma Flúor Care® apresentou atividade antimicrobiana sobre *S. mutans*, *S. sanguis*, *S. mitis* e *L. Casei*. Contudo, a metodologia utilizada no estudo citado foi o método de difusão em ágar Müller Hinton, mas pela técnica da inundação, diferindo, desta forma, do presente estudo.

Por outro lado, o gel de fluorofosfato acidulado inibiu o crescimento de *S. mutans*, apresentando a DIM de 50%, com halo de 21mm. Este produto também teve ação sobre *S. oralis* com DIM de 50% e halo medindo 17mm, concordando com o estudo prévio²⁹, no qual este mesmo produto teve efeito antimicrobiano sobre as bactérias citadas.

O íon flúor apresenta efeito bactericida sobre *S. mutans* dependendo da concentração de microrganismos e fluoretos, duração da exposição e pH do meio, onde se verificou que o melhor pH para se conseguir tal efeito era 3,0³⁰, concordando com a presente pesquisa na qual os produtos testados apresentavam alta concentração de fluoretos (12.300 ppm) e pH ácido, que favoreceram à ação antimicrobiana.

O gel e a espuma de FFA não demonstraram ação sobre o *L. Casei*. Isto pode ser explicado pelo fato de alguns lactobacilos orais serem dez vezes mais resistentes aos fluoretos do que os estreptococos³¹.

É importante ressaltar que os halos formados pelo gel ácido, tanto para *S. mutans* como para *S. oralis*, foram maiores do que os halos formados pela clorexidina, que é um poderoso antimicrobiano.

- 1) Os cariostáticos analisados demonstraram atividade antimicrobiana sobre o *S. mutans* e o *S. oralis*, enquanto para o *L. casei* este efeito foi observado apenas diante do produto com maior concentração de fluoreto;
- 2) O gel ácido apresentou atividade antimicrobiana sobre *S. mutans* e *S. oralis*, não sendo evidenciado tal efeito sobre o *L. casei*. Em contrapartida, a espuma ácida não obteve ação antimicrobiana sobre as cepas testadas.

REFERÊNCIAS

1. Brasil. Ministério da Saúde. Projeto SB Brasil 2003. Condições de saúde bucal da população brasileira 2002-2003. Resultados principais. Brasília, 2004. 52p.
2. Fejerskov O, Kidd E. Cárie dentária: a doença e seu tratamento clínico. São Paulo: Santos, 2005.
3. Maltz M, Carvalho J. Diagnóstico da doença cárie. In: ABOPREV: Promoção de saúde bucal. São Paulo: Artes Médicas, 1997. p.69-91.
4. Palomer LR. Caries dental en el niño. Una enfermedad contagiosa. Rev Chil Pediatr 2006; 77(1):50-6.
5. Murakami T, Narita M, Nakagaki H, Shibata T, Robinson C. Fluoride intake in Japanese children aged 3-5 years by the duplicate-diet technique. Caries Res 2002; 36(6):386-90.
6. American Academy of Pediatric Dentistry. Guideline on fluoride therapy. Reference manual clinical guidelines 2009-2010; 31(6):128-31.
7. Tenuta LMA, Cury JA. Fluoreto: da ciência à prática clínica. In: ASSED, S. Odontopediatria: bases clínicas para a prática clínica. São Paulo: Artes Médicas, 2005. p. 113-52.
8. Featherstone JDB. Prevention and reversal of dental caries: role of low level fluoride. Community Dent Oral Epidemiol 1999; 27(1):31-40.
9. Cruz RA, Rolla G. The effect of time of exposure on fluoride uptake by human enamel from acidulated fluoride solutions in vitro. Acta Odontol Scand 1992; 50(1):51-6.
10. Torres CRG, Kubo CH, Anido AA, Rodrigues JR. Agentes antimicrobianos e seu potencial de uso na odontologia. Rev Fac Odontol Pós-Grad 2000; 3(2):43-54.
11. Bowden GHW. Effect of fluoride on the microbial ecology of dental plaque. J Dent Res 1990; 69 (Special issue):653-9.
12. Bonner BC, Clarkson JE, Dobbyn L, Khanna S. Slow-release fluoride devices for the control of dental decay (Cochrane Review). In: The Cochrane Library, Issue 3, 2007. Oxford: Update Software.
13. Thylstrup A, Fejerskov O. A química da cárie dentária e o flúor - Mecanismos de ação. In: Thylstrup A, Fejerskov O. Cariologia clínica. 2. ed. São Paulo: Santos, 1995. p. 231-57.
14. Wambier DS, Simionato MRL, Bandeira LR, Adimari LAW. Avaliação de três materiais utilizados na fase preparatória do meio bucal. J Bras Odontop Odontol Bebê 2002; 5(25):230-34.
15. Ferlin JP, Nuti Sobrinho A, Watanabe Ii S. Efeitos do diamino fluoreto de prata sobre o soalho da câmara pulpar. Estudo ao microscópio eletrônico de varredura. Rev Paul Odontol 1998; 10(2):46-52.
16. Rosenblatt A, Stamford TCM, Niederman R. Silver Diamine Fluoride: a caries "silver-fluoride bullet". J Dent Res 2009; 88(2):116-25.
17. Triches TC, Cordeiro MMR, Souza JGMV, Saltori EK, França BHS. Aceitação dos pais quanto ao uso do diamino fluoreto de prata. Pesq Bras Odontoped Clin Integr 2009; 9(3):265-9.
18. Delbem ACB, Bergamaschi M, Sasaki KT, Cunha RF. Effect

CONCLUSÕES

of fluoridated varnish and silver diamine fluoride solution on enamel demineralization: pH-cycling study. *J Appl Oral Sci* 2006; 14(2):88-92.

19. Jiang H, Tai B, Du M, Peng B. Effect of professional application of APF foam on caries reduction in permanent first molars in 6-7-year-old children: 24-month clinical trial. *J Dent* 2005; 33(6):469-73.

20. Whitford GM, Adair SM, Hanes CM, Perdue EC, Russell CM. Enamel uptake and patient exposure to fluoride: comparison of APF gel and foam. *Am Acad Pediat Dent* 1995; 17(3):199-203.

21. Lakatus EM, Marconi MA. Fundamentos da metodologia científica. São Paulo: Atlas, 2007. 270p.

22. Gebara ECE, Lima LA, Mayer MPA. Própolis antimicrobial activity against periodontopathic bacteria. *Braz J Microbiol* 2002; 33(4):365-9.

23. Kolenbrander PE, London J. Adhere today, here tomorrow: oral bacterial adherence. *J Bacteriol* 1993; 175(11):3247-52.

24. NCCLS. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standard - Eighth edition. NCCLS document M2- A8 [ISBN 1-56238-485-6]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003.

25. Pereira JV, Pereira MSV, Sampaio FC, Sampaio MCC, Alves PM, Araújo CRF, Higino JS. Efeito antibacteriano e antiaderente in vitro do extrato da *Punica granatum* Linn. sobre microorganismos do biofilme dental. *Rev Bras Farmacol* 2006; 16(1):88-93.

26. Montandon EM, Speranca PA. Estudo comparativo in vitro da atividade antimicrobiana de agentes cariostáticos à base de diamino fluoreto de prata. *J Bras Odontoped Odontol Bebê* 2000; 3(16):465-74.

27. Medeiros UV, Miasato JM, Monte Alto LA, Ramos ME, Soviero VM. Efeito cariostático e preventivo do diamino fluoreto de prata a 30 por cento em pacientes bebês. *Rev bras Odontol* 1998; 55(6):340-4.

28. Collina E, Moreira M, Barbosa, A. D. Comparação da ação do verniz fluoretado Duraphat e do cariostático Bioride (Diamino Fluoreto de Prata 12 por cento), sobre a contagem de streptococcus do grupo mutans, em crianças com dentição decídua. *Rev ABO Nac* 2000; 8(1):14-20.

29. Duarte LA, et al. Susceptibilidade antibacteriana in vitro a agentes fluoretados. In: SOCIEDADE NORDESTINA DE PESQUISAS ODONTOLÓGICA, VII. 2005, Natal- RN. Anais.

30. Caufield PW, Wannemuehler Y. pH-dependent bactericidal effects of acidulated fluoride gels on preformed plaque aggregates of streptococcus mutans 6715. *Antimicrob Agents Chemother* 1984; 26(6):807-10.

31. Milnes AR, Bowden GH, Hamilton IR. Effect of NaF and pH on the growth and glycolytic rate of recently isolated strains of oral Lactobacillus species. *J Dent Res* 1985; 64(3):401-4.

Recebido/Received: 28/07/09
Revisado/Reviewed: 17/11/09
Aprovado/Approved: 22/01/10

Correspondência:

Ana Maria Gondim Valença
Avenida Jacinto Dantas 94/206 - Manaíra
João Pessoa/PB CEP: 58039-270
Telefone: (83) 3216-7796
E-mail: anaval@terra.com.br