

Efeito inibitório de dentifrícios infantis sobre o crescimento de bactérias cariogênicas

Inhibitory effect of infantile dentifrices over the growth of cariogenic bacteria

Ianny Alves Ramos¹, Andreia Medeiros Rodrigues Cardoso¹, Rafaella Bastos Leite¹, Yuri Wanderley Cavalcanti², Alessandro Leite Cavalcanti³

¹Discente do Programa de Pós-graduação em Odontologia, Universidade Estadual da Paraíba, ²Discente do Programa de Pós-graduação em Odontologia, Universidade Estadual de Campinas, ³Docente do Programa de Pós-graduação em Odontologia, Universidade Estadual da Paraíba.

Resumo

Introdução: o uso de cremes dentais contendo flúor tem mostrado reduzir a incidência de cárie em diversos estudos clínicos. **Objetivo:** avaliar o efeito inibitório de dentifrícios infantis, comercialmente disponíveis, sobre *Streptococcus mutans* (ATCC25175), *S. oralis* (ATCC10557) e *S. salivarius* (ATCC25586). **Metodologia:** adotou-se uma abordagem indutiva com procedimento comparativo e técnica de observação direta em laboratório. A amostra compreendeu quatro dentifrícios infantis, a saber: Tandy®, Condor®, Even kids®, Bitufo Ben 10®. Adotou-se a Clorexidina a 2% como controle positivo. A atividade antibacteriana dos dentifrícios foi avaliada pela técnica de difusão em Agar em triplicata, na qual foram realizadas perfurações de 6mm no meio de cultura agar sangue e inseridos os produtos testados. Após o período de incubação (24h, 37°C), os halos de inibição do crescimento bacteriano, em milímetros, foram mensurados e analisados descritivamente. **Resultados:** sobre *S. mutans*, *S. oralis* e *S. salivarius*, o Diâmetro médio dos halos de inibição de crescimento, em mm, para cada dentifrício foi, respectivamente, 16, 16 e 15 (Condor®); 14, 14 e 13.66 (Even Kids®); 13.34, 13.34 e 13 (Bitufo Ben); e, 13, 14.33 e 12.33 (Tandy®). A Clorexidina 2% apresentou atividade satisfatória frente às cepas testadas. **Conclusão:** todos os dentifrícios apresentaram atividade inibitória sobre as bactérias analisadas, porém o creme dental Condor Kids® apresentou os maiores halos de inibição microbiana.

Palavras-chave: Dentifrícios. Microbiologia. Testes de Sensibilidade Microbiana.

Abstract

Background: the use of fluoridecontaining toothpastes has been proven to reduce the incidence of caries in numerous clinical studies. **Objective:** evaluate the inhibitory effect of infantile dentifrices, commercially available, over *Streptococcus mutans* (ATCC25175), *S. oralis* (ATCC10557) and *S. salivarius* (ATCC25586). **Methodology:** it was adopted an inductive approach with comparative procedure and direct observation technic in laboratory. The sample comprehended 4 infantile dentifrices, to know: Tandy®, Condor®, Even kids®, Bitufo Ben 10®. It was adopted the Chlorhexidine with 2% as positive control. The anti-bacterial activity of the dentifrices was evaluated by the diffusion technic in Agar in three times, in which were realized perforations of 6mm in the middle of blood agar culture and inserted the tested products. After the incubation period (24 hours at 37°C), the halos of inhibitions of the bacterial growth, in millimeters, were measured and analyzed descriptively. **Results:** about *S. mutans*, *S. oralis* and *S. salivarius*, the medium diameter of the halos of inhibition growth, in millimeter, for each dentifricie was, respectively, 16, 16 and 15 (Condor®); 14, 14 and 13.66 (Even Kids®); 13.34, 13.34 and 13 (Bitufo Ben); and, 13, 14.33 and 12.33 (Tandy®). The 2% chlorhexidine showed satisfactory activity due the tested bacteria. **Conclusion:** all the dentifrices showed inhibitory activity over the analyzed bacteria, however the toothpaste Condor Kids®, showed the bigger halos of microbial inhibition.

Keywords: Microbiology. Microbial Sensitivity Tests.

INTRODUÇÃO

Grande parte das doenças que acometem a cavidade bucal é de origem infecciosa. A cárie dentária é uma doença multifatorial, caracterizada pela perda mineral da estrutura dental, que está fundamentada em três fatores: hospedeiro, dieta e microrganismos, atuando sobre estes o tempo¹. Os Estreptococos, principalmente do grupo mutans, são considerados seus principais agentes².

Os *Streptococcus mutans*, por suas propriedades acidogênica e acidúrica, favorecem a formação de grande quantidade de biofilme dentário e polissacarídeos intracelulares, que permitem a produção de ácido, mesmo na ausência de fontes exógenas de sacarose². O *Streptococcus oralis*, além do *Streptococcus mitis* e *Streptococcus sanguis* têm função essencial no início dos depósitos microbianos nas superfícies do esmalte dentário, sendo estes os primeiros colonizadores na superfície do esmalte, atuando como receptores dos microrganismos que se acumulam para formar o biofilme dentário³.

O biofilme dentário deve ser removido ou de-

Correspondência / Correspondence: Ianny Alves Ramos. Universidade Estadual da Paraíba, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Departamento de Odontologia, Avenida das Baraúnas, S/N, Bodocongó, Campina Grande, Paraíba, Brasil. CEP: 58109-753. Fone: (83) 3315-3326. E-mail: iannyar@gmail.com

sorganizado para impedir a ação das bactérias e, conseqüentemente, evitar a desmineralização do esmalte dental⁴, como também é um fator importante na prevenção da doença periodontal, sendo o método mecânico de higiene mais aceito⁵.

O principal meio de controle do biofilme dentário é obtido por meio da remoção mecânica desse biofilme através da escovação e do uso do fio dental⁶. Porém, diante das dificuldades de manter os indivíduos motivados para realizar uma adequada limpeza da cavidade bucal, é válido e necessário associar métodos químicos aos procedimentos mecânicos para o controle da microbiota⁷. Para isso utilizam-se produtos como dentifrícios, principais agentes químicos de auxílio na remoção do biofilme dental⁸, a fim de promover retenção do íon flúor na boca após a aplicação do mesmo, e proporcionar certo grau de proteção contra o processo cariioso por um longo período⁹.

Os dentifrícios são pastas com consistência de cremes ou géis¹⁰ e apresentam em sua formulação vários componentes que auxiliam a remoção mecânica do biofilme, como os abrasivos cálcio e sílica, e elementos químicos, como flúor e outros agentes com funções antimicrobianas¹¹. Além disso, são incorporadas nos dentifrícios infantis essências que promovem sabor e odor agradáveis, fazendo com que as crianças, que não possuem total controle dos músculos da deglutição ingiram em média 50% do produto¹². Devido ao risco de aparecimento de fluorose dentária, para crianças de baixa idade, os cremes dentais devem conter um nível reduzido de fluoreto¹³.

Os odontopediatras ou clínicos gerais que realizam atendimento infantil devem estar cientes das principais orientações que devem ser dadas aos pais dos seus pacientes, a fim de maximizar os benefícios dos dentifrícios fluoretados e minimizar os efeitos colaterais¹⁰. Face ao exposto, o presente estudo objetivou avaliar, *in vitro*, o efeito inibitório de dentifrícios infantis sobre o crescimento de bactérias cariogênicas.

MATERIAIS E MÉTODOS

Utilizou-se uma abordagem indutiva e técnica de documentação direta em laboratório¹⁴.

Os dentifrícios infantis utilizados no estudo foram: Tandy®, Condor®, Even kids®, Bitufo Ben 10® (Quadro 1). Como controle positivo, empregou-se o digluconato de Clorexidina 2%, disponível em formulação comercial.

Esses produtos tiveram sua ação antimicrobiana testada sobre os microrganismos: *Streptococcus mutans* (ATCC25175), *S. oralis* (ATCC10557) e *S. salivarius* (ATCC25586). Estas cepas de referência dos microrganismos foram obtidas do Laboratório de Materiais de Referência do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (Fundação Oswaldo Cruz – FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil). Estes microrganismos foram reativados em Ágar Sangue a 37°C e estocadas em caldo BHI - *Brain Heart Infusion* (DIFCO®, São Paulo, SP, Brasil). Para condução do estudo, suspensões bacterianas dos microrganismos foram preparadas em caldo BHI, sob a concentração 1,5x10⁸ microrganismos/mL, equivalente à Escala de MacFarland.

A atividade antibacteriana foi avaliada pelo método de difusão em meio sólido, utilizando a técnica dos poços¹⁵. Foram preparadas nove placas de petri com meio de cultura Ágar Sangue. Em seguida, as placas de petri foram semeadas através do auxílio de swabs estéreis com as suspensões bacterianas produzidas. Em cada placa foram confeccionados cinco poços de 6mm de diâmetro, nos quais foram inseridos com seringa estéril 1ml dos produtos em sua formulação comercial. As placas de petri foram incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 24h.

Para coleta de dados, mensuraram-se os halos de inibição do crescimento bacteriano com auxílio de um paquímetro manual e, em seguida, calculou-se o diâmetro médio dos halos de inibição do crescimento (DMIC) produzidos pelas substâncias. Os testes foram realizados em triplicata e os dados apresentados por meio da estatística descritiva.

RESULTADOS

Os resultados dos produtos frente os microrganismos estudados no teste de difusão em meio sólido estão descritos na Tabela 1. O creme dental Condor Kids® apresentou os maiores halos de inibição para os microrganismos *S. mutans* e *S. Oralis*.

Quadro 1. Especificações dos produtos utilizados.

Produtos	Composto ativo	Fabricante
Tandy®	Fluoreto de Sódio (1100ppm)	Colgate-Palmolive Ind. e Com. Ltda.
Condor®	Fluoreto de Sódio (1100ppm)	Condor Nordeste Ind. e Com. Ltda.
Even kids®	Monofluorofosfato de Sódio (1200ppm)	Ind. Reunidas Raymundo da Fonte
Bitufo Ben 10®	Monofluorofosfato de Sódio (750ppm)	Bitufo Mont. e Com. de Escovas Ltda.

Tabela 1. Diâmetro médio dos halos de inibição de crescimento das cepas avaliadas (em mm) produzidos pelos produtos testados.

Produtos	Microorganismos		
	<i>S. mutans</i>	<i>S. Oralis</i>	<i>S. Salivarius</i>
Tandy®	13,00	14,33	12,33
Condor Kids®	16,00	16,00	15,00
Even Kids®	14,00	14,00	13,66
Bitufo Ben 10®	13,34	13,34	13,00
Clorexidina 2% (controle positivo)	12,00	12,00	9,00

DISCUSSÃO

Nesta pesquisa, os produtos testados inibiram a atividade das cepas bactérias cariogênicas, sendo verificada divergência na determinação dos halos de inibição (DMIC). Além das diferenças fenotípicas observadas entre os microorganismos, as quais podem resultar em efeito inibitório diversificado, destacam-se as limitações da técnica empregada no estudo.

A metodologia de difusão em ágar empregada é validada por outros estudos que também avaliaram a atividade antimicrobiana de formulações comerciais ou de produtos naturais¹⁶⁻¹⁸. Porém, o presente trabalho apresenta limitações no sentido de que as propriedades físico-químicas dos produtos podem influenciar a difusão dos mesmos no meio de cultura, facilitando ou dificultando o contato do agente ativo com os microorganismos e, dessa forma, interferindo nos resultados da avaliação antimicrobiana¹⁸⁻²¹. Não foram identificadas na literatura consultada pesquisas que avaliaram, pelo método de difusão em ágar, a atividade de dentifrícios infantis sobre o crescimento de *Streptococcus oralis* e *S. salivarius*.

Estudo desenvolvido por Cury et al.²² revelou que a maioria dos cremes dentais usados pelas crianças possui concentração de flúor potencialmente ativo para controlar a cárie dentária. De acordo com Magalhães et al.¹⁰ a concentração apropriada de fluoreto deve ser recomendada segundo o risco do paciente ao desenvolvimento da lesão cáries, uma vez que a eficácia anticárie do dentifrício é mais influenciada pela concentração de flúor. Em contrapartida Vieira, Hirata Júnior e Barbosa¹³ verificaram que os dentifrícios com flúor, mesmo em baixa concentração, apresentaram efeitos inibitórios para os microorganismos testados. A presente pesquisa corrobora com estes achados, uma vez que todos os cremes dentais fluoretados avaliados apresentaram resultados satisfatórios para inibição do crescimento bacteriano, inclusive o dentifrício Bitufo Ben 10®, com 750ppm, sendo considerado de baixa concentração quando comparado aos demais.

A maior parte dos dentifrícios disponíveis comercialmente possui dois constituintes fundamentais que são o fluoreto de sódio (NaF) e o monofluorofosfato de sódio. O fluoreto de sódio atua imediatamente liberando o flúor durante a escovação. O monofluorofosfato de sódio é um íon pesado retentivo e possui a particularidade de só liberar o flúor por aquecimento ou pela queda do pH23. Deve-se levar em consideração também que os dentifrícios fluoretados a base de NaF são formulados com agente abrasivo de sílica, enquanto que os dentifrícios a base de monofluorofosfato de sódio, apresentam o carbonato de cálcio como agente abrasivo²². Ou seja, o cálcio dos abrasivos do tipo carbonato de cálcio (CaCO₃) influenciará diretamente na concentração de flúor, uma vez que o mesmo irá ligar-se aos íons de flúor, inativando-os.

Em decorrência desse fator, os fabricantes aumentam a concentração de flúor dos produtos, para compensar a quantidade inativa, propiciando assim a capacidade de inibição da cárie. Diante disto, o Condor Kids® tem uma maior concentração de flúor ativo justificando sua melhor atuação em relação aos demais produtos estudados, enquanto que o Even Kids® e o Bitufo Ben 10®, apesar de possuírem o mesmo princípio ativo (monofluorofosfato de cálcio) e agente abrasivo (CaCO₃), o primeiro apresentou uma concentração mais elevada de flúor, de 1200ppm, obtendo portanto, uma maior inibição ao crescimento das bactérias.

O presente estudo corrobora com os achados descritos por Souza-Gugelmin et al.⁸, os quais observaram que dentifrícios infantis que contêm fluoreto de sódio apresentaram ação antimicrobiana significativamente maior que os demais dentifrícios testados.

Esperava-se que os cremes dentais Tandy® e Condor Kids® apresentassem resultados semelhantes, já que possuíam os mesmos princípios ativos e mesma concentração, porém o Tandy® mostrou halos de inibição inferiores para todas as cepas bacterianas testadas. Isto poderia ser justificado, segundo Oliveira et al.¹² pelo fato de que os microorganismos testados fora do seu meio

natural alterariam consideravelmente seu modo de atuação, principalmente em função da ausência da saliva, assim como, pelas propriedades físico-químicas dos produtos que podem influenciar a difusão dos mesmos no meio de cultura, interferindo nos resultados da avaliação antimicrobiana²¹.

Desta forma, pôde-se comprovar, *in vitro*, a capacidade dos dentifrícios fluoretados infantis de inibirem o crescimento bacteriano. No entanto, devido à cárie dentária ser uma doença multifatorial, fundamentada em três fatores: hospedeiro, dieta e microrganismos, atuando sobre estes o tempo¹, ressalta-se que a utilização desses dentifrícios deve estar associada à realização de práticas saudáveis de higiene bucal dos pacientes, incluindo uma frequência de escovação e técnica correta, bem como hábitos alimentares adequados, para permitir o controle da cárie dentária dos pacientes.

CONCLUSÃO

Todos os dentifrícios testados apresentaram atividade inibitória sobre as cepas analisadas, porém o creme dental Condor Kids® apresentou os maiores halos de inibição microbiana.

AGRADECIMENTOS

Ao Laboratório de Microbiologia Oral – Núcleo de Medicina Tropical do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Paraíba.

REFERÊNCIAS

1. SOUZA, F.B.; GIL, J.N. Doença cárie: nem infecciosa, nem transmissível. **RGO**, Porto Alegre, v.49, n.3, p.139-44, 2001.
2. CARRETTO, C.F.P. et. al. Efeitos do chá de tomilho sobre a aderência *in vitro* de *Streptococcus mutans* ao esmalte dentário e *Candida albicans* à resina acrílica. **Rev. Odontol. UNESP**, Marília, v. 36, n.3, p. 281-6, 2007.
3. ARAÚJO, C.R.F. et. al. Concentração mínima bactericida do extrato do cajueiro sobre bactérias do biofilme dental. **Pesq. Bras. Odontoped. Clín. Integr.**, João Pessoa, v. 9, n. 2, p.187-91, 2009.
4. ALVES, T.M.S. et. al. Atividade antimicrobiana de produtos fluoretados sobre bactérias formadoras do biofilme dentário: Estudo *in vitro*. **Pesq. Bras. Odontoped. Clín. Integr.** v.10, n.2, p. 209-16, 2010.
5. ALVES, P.M. et. al. Atividade antimicrobiana, antiaderente e antifúngica *in vitro* de plantas medicinais brasileiras sobre microrganismos do biofilme dental e cepas do gênero *Candida*. **Rev. Soc. Bras. Med. Trop.**, Brasília, v. 42, n.2, p. 222-4, 2009.
6. MARCHETTI, E. et. al. Efficacy of essential oil mouthwash with and without alcohol: a 3-Day plaque accumulation model. **Trials**, London, v. 12, p. 262, 2011.
7. CASTRO, S.L. et. al. "In vivo" Study efficacy of antiseptics on aerobic microorganisms of the oral cavity. **Rev. Dent.**, Santo Domingo, v.1, p. 1-9, 2001.

8. SOUZA-GUGELMIN, M.C.M. et. al. Avaliação da atividade antimicrobiana de dentifrícios infantis: Estudo *in vitro*. **Rev. Fac. Odontol.**, Porto Alegre, v. 47, n. 3, p. 10-3, 2006.
9. FUKUSHIMA, R. et. al. Cinética do flúor na saliva de adultos e crianças após o uso de dentifrícios fluoretados. **Rev. Fac. Odontol.**, Bauru, v.8, n. ½, p. 45-50, 2000.
10. MAGALHÃES, A.C. et. al. Uso racional dos dentifrícios. **RGO**, Porto Alegre, v. 59, n. 4, p. 615-25, 2011.
11. GUSMÃO, E.S. et. al. Desempenho clínico da escovação dentária com e sem dentifrício. **Int. J. Dent.**, Cairo, v. 10, n. 2, p. 74-9, 2011.
12. OLIVEIRA, S.M.M.; LORSCHIEDER, J.A.; NOGUEIRA, M.A. Avaliação da ação *in vitro* de gel dentifrício contendo óleos essenciais sobre bactérias cariogênicas. **Lat. Am. J. Pharm.**, Buenos Aires, v. 27, n. 2, p. 266-9, 2008.
13. VIEIRA, M.D. et. al. Hirata Júnior R, Barbosa ARS. Avaliação antimicrobiana de três dentifrícios para uso infantil: estudo *in vitro*. **Rev. Bras. Odontol.**, Rio de Janeiro, v. 65, n. 1, p. 52-6, 2008.
14. LAKATOS, E.M.; MARCONI, M.A. *Fundamentos da Metodologia Científica*. São Paulo: Atlas; 2009. 315 p.
15. ALVES, P.M. et. al. Atividade antifúngica do extrato de *Psidium guajava* Linn.(goiabeira) sobre leveduras do gênero *Candida* da cavidade oral: uma avaliação *in vitro*. **Rev. Bras. Farmacogn.**, São Paulo, v. 16, n. 2, p.192-6, 2006.
16. CAVALCANTI, A.L. et. al. Atividade antifúngica *in vitro* de enxaguatórios bucais sobre *Candida* spp. **Rev. Odontol. UNESP**, Marília, v. 38, n. 5, p. 313-7, 2009.
17. DRUMOND, M.R.S. et. al. Estudo comparativo *in vitro* da atividade antibacteriana de produtos fitoterápicos sobre bactérias cariogênicas. **Pesq. Bras. Odontopediatria. Clín. Integr.**, João Pessoa, v. 4, n. 1, p. 33-8, 2004.
18. COSTA, E.M.M.B. et. al. Avaliação da ação antimicrobiana da própolis e de substâncias utilizadas em endodontia sobre o *Enterococcus faecalis*. **Pesq. Bras. Odontoped. Clín. Integr.**, João Pessoa, v. 8, n.1, p. 21-5, 2008.
19. NASCIMENTO, P.F.C. et al. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Rev. Bras. Farmacogn.**, São Paulo, v. 17,n.1, p. 108-13, 2007.
20. PÉREZ, A.L.A.L. et. al. Atividade Antifúngica de Antissépticos Buciais sobre *Candida* spp. **Rev. Bras. Ciênc. Saúde**, João Pessoa, v. 15, n. 1, p. 69-74, 2011.
21. OSTROSKY, E.A. et. al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Rev. Bras. Farmacogn.**, São Paulo, v. 18, n. 2, p. 301-7, 2008.
22. CURY, J.A. et. al. Available fluoride in toothpastes used by Brazilian children. **Braz. Dent. J.**, Ribeirão Preto, v. 21, n. 5, p. 396-400, 2010.
23. WINSTON, A.E.; BHASKAR, S.N. Caries prevention in the 21st century. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v. 129, n.11, p. 1579-87, 1998.

Submetido em 30.04.2013;

Aceito em 26.09.2013.