

Ação inibitória de dentifrícios sobre *Streptococcus mutans* e *Candida albicans*: estudo *in vitro*

Inhibitory effect of dentifrices on *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*: *in vitro* study

Daniele Canova Maso*
Patrícia Canova Maso*
Renata dos Santos Borges*
Letícia de Abreu Giacomini**
Daniela Jorge Corralo***

Resumo

Introdução: este estudo avaliou a ação antimicrobiana de sete dentifrícios nacionais com ação antiplaca ou antimicrobiana, conforme os fabricantes, sobre os patógenos orais *Streptococcus mutans* e *Candida albicans*. **Métodos:** a avaliação dos dentifrícios foi realizada pelo teste de difusão em ágar. Placas de Petri com meios de cultura ágar cérebro coração e ágar *Sabourad* foram semeadas com suspensão microbiana padronizada de *S. mutans* e *C. albicans*. Poços foram confeccionados no ágar semeado e preenchidos com as soluções dos dentifrícios diluídas em 1:1, 1:2, 1:4 e 1:8, além dos controles positivo (solução de clorexidina 2%) e negativo (dentifrício sem princípios ativos). Após incubação por 48h/37°C, os halos de inibição do crescimento microbiano foram medidos com paquímetro e régua milimetrada, e os resultados finais dos halos obtidos em milímetros. **Resultados e conclusão:** verificou-se que todos os dentifrícios, na diluição de 1:1, foram efetivos sobre *C. albicans* e *S. mutans*, exceto o composto de bicarbonato de sódio e extratos vegetais, o qual não inibiu *S. mutans*. Na diluição de 1:2, somente o dentifrício contendo triclosan inibiu *C. albicans*, enquanto todos mostraram algum potencial de inibição ao *S. mutans*. Nas demais diluições, não foram observados halos de inibição de ambos os microrganismos. A *C. albicans* demonstrou ser mais resistente à ação inibitória dos antimicrobianos dos dentifrícios testados neste estudo. *S. mutans* demonstrou ser mais sensível à ação dos dentifrícios, no entanto, a diluição durante a escovação dentária reduz a ação inibitória esperada, indicando a importância da remoção mecânica do biofilme.

Palavras-chave: Dentifrícios. Ação antimicrobiana. *Streptococcus mutans*. *Candida albicans*.

<http://dx.doi.org/10.5335/rfo.v25i2.10634>

* Cirurgião-dentista, Universidade de Passo Fundo (UPF), Passo Fundo, RS, Brasil.

** Especialista em Genética Forense, Bióloga, Universidade de Passo Fundo (UPF), Passo Fundo, RS, Brasil.

*** Doutora em Clínica Odontológica, Docente do Curso de Odontologia, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, Rio Grande do Sul, Brasil.

Introdução

O corpo humano apresenta uma relação dinâmica com bilhões de microrganismos, os quais habitam diversos nichos e estão envolvidos com processos e alterações ambientais que podem levar ao desequilíbrio desses *habitats*, resultando em patologias¹⁻⁵. A cavidade bucal apresenta diversos nichos para a colonização microbiana^{3,6,7}, destacando-se as superfícies sólidas e não desca-mativas dos dentes, sobre os quais há a formação de biofilmes constituídos por diversas espécies microbianas convivendo em equilíbrio^{2,3,8,9}.

Na cavidade bucal, a ocorrência de alterações na disponibilidade e no tipo de nutrientes, nas condições de pH e de anaerobiose pode modificar as relações entre os microrganismos no biofilme dental, induzindo as patologias bucais mais comuns, como cárie e doença periodontal^{6,10}. Estudos clínicos têm demonstrado que o uso de antimicrobianos nos dentifrícios podem mediar o crescimento das bactérias bucais, reduzindo a ocorrência de doenças¹¹, induzindo a introdução de agentes antimicrobianos em dentifrícios e soluções para bochecho.

No Brasil, o mercado nacional de produtos para higiene bucal vem crescendo e produtos com diferentes composições químicas e diferentes substâncias terapêuticas têm sido disponibilizados aos consumidores, na tentativa de auxiliar na redução de microrganismos existentes na cavidade bucal. Extratos de plantas, compostos fenólicos e sais de metais estão sendo incluídos para contribuir com as propriedades antimicrobianas de dentifrícios e enxaguantes bucais, auxiliando os métodos mecânicos de remoção e diminuindo o número de microrganismos patogênicos na cavidade oral¹².

Agentes antimicrobianos podem desempenhar um papel coadjuvante no controle do biofilme

dentário. A inadequada higiene dental resulta no acúmulo de microrganismos sobre as estruturas dentais, possibilitando a manutenção do metabolismo no biofilme e as sequelas dos seus produtos prejudiciais aos tecidos bucais. A utilização do controle químico do biofilme pode ser um complemento ao procedimento de controle mecânico. Além da limpeza dos dentes, o uso de agentes químicos com atividade antimicrobiana em produtos odontológicos tem sido proposto como um método coadjuvante profilático na redução de doença mediada por biofilme, limitando os microrganismos com ações nocivas na cavidade oral¹³.

Considerando a possibilidade de o controle do biofilme ser potencializado pela adição de antimicrobianos e tendo o mercado nacional uma variedade de dentifrícios que apresentam atividade antimicrobiana, informada pelos fabricantes, como as ações antiplaca ou antitártaro, o presente estudo foi desenhado para investigar a eficácia antimicrobiana de alguns dentifrícios em relação aos patógenos considerados comuns à cavidade bucal: *Streptococcus mutans* e *Candida albicans*.

Métodos

Seleção dos dentifrícios

Foram selecionados sete dentifrícios nacionais que, segundo o fabricante, apresentam substâncias com ação antiplaca ou antimicrobiana em sua composição (Quadro 1). Solução de digluconato de clorexidina a 2% (Natu Pharma, Passo Fundo, RS, Brasil) foi usada como controle positivo (CP) (controle positivo) e um dentifrício sem princípios ativos (DCN) (Natu Pharma, Passo Fundo, RS, Brasil) foi utilizado como controle negativo.

Quadro 1 – Dentifrícios escolhidos para o estudo (codificados)

Dentifrício	Composição antimicrobiana	Presença de fluoreto	Potencial de ação, segundo fabricante
D1	Citrato de zinco	1.200 ppm MFP	Ação antibacteriana
D2	Bicarbonato de sódio e cinco extratos vegetais (tintura de ratânia, tintura de equinácea, tintura de mirra, tintura de camomila e tintura de sálvia)	1.400 ppm NaF	Ação de inibir o crescimento bacteriano
D3	Extrato de hortelã	1.100 ppm SnF ₂ / 350 ppm NaF	Combate a placa e o tártaro
D4	Extrato de hortelã	1.200 ppm MFP	Ação antiplaca
D5	Extrato de <i>aloe vera</i> e própolis	-	Proteção contra a placa bacteriana
D6	-	1.500 ppm NaF	Ação antiplaca
D7	triclosan 0,3% / copolímero PVM/MA	1.450 ppm NaF	Ação antiplaca

Nota: ppm: partes por milhão; MFP: monofluorofosfato de sódio; NaF: fluoreto de sódio; SnF₂: fluoreto estanhoso; PVM/MA: copolímero de vinil metil éter e anidrido maleico.

Fonte: autores.

Preparação dos dentifrícios

Foram preparados sobrenadantes de cada dentifrício, de acordo com a metodologia proposta por Modesto *et al.*¹⁴ (2001):

- 1º. Obtenção de soluções concentradas dos dentifrícios selecionados, misturando-se 3,0 gramas do dentifrício, pesado em balança analítica, com 10,0 mL de água deionizada estéril, agitando vigorosamente por 1 minuto em um agitador Vortex;
- 2º. Centrifugação da solução concentrada a 4.500 rpm por 15 minutos para precipitar as partículas sólidas do dentifrício e obtenção do sobrenadante (extrato aquoso);
- 3º. Diluição seriada do sobrenadante concentrado, com água deionizada estéril, até a diluição final de 1/8.

Procedimentos para a realização dos testes antimicrobianos pelo teste de difusão em ágar

Preparo da suspensão microbiana – inóculo

Amostras bacterianas de *S. mutans* (ATCC 25175) foram obtidas na Fundação André Tosello de Pesquisa e Tecnologia (Campinas, São Paulo, Brasil). O inóculo de *S. mutans* foi preparado a partir da transferência da cultura de 48 horas deste microrganismo para um tubo contendo caldo de tioglicolato (*Fluid thioglycolate medium w/o glucose or indicator* – Difco Laboratories, Sparks, MD, USA), incubado em jarra de anaerobiose (método de vela), a 37°C por 48 horas, e comparado à escala 10 de MacFarland (concentração de 3.10⁶ células/mL).

Amostras microbianas de *Candida albicans* (ATCC f72) foram obtidas no Laboratório de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas (ICB), da Universidade de Passo Fundo. O inóculo de *C. albicans* foi preparado a partir da transferência da cultura de 48 horas deste microrganismo para um tubo contendo água destilada e esterilizada e comparado à escala 10 de *MacFarland* (concentração de 3.10⁶ células/mL).

Realização do teste de difusão em ágar (técnica do poço)

A avaliação do efeito dos produtos selecionados (dentifrícios) sobre os microrganismos *S. mutans* e *C. albicans* foi realizada pelo teste de difusão em ágar. Os experimentos foram realizados em duplicata (reprodutibilidade) e os resultados foram expressos em médias.

As placas de Petri foram preenchidas homogeneamente com o meio de cultura enriquecido ágar cérebro-coração (ACC) (*Brain Heart Agar* – Becton Dicknson and Co., Cockeysville - MD), para *S. mutans*; ou com o meio de cultura ágar *Sabourad* (AS) (*Sabourad Agar* – Becton Dicknson and Co., Cockeysville - MD), para *C. albicans*, obtendo-se uma espessura de cerca de 4 mm, em cada placa.

Uma alíquota de 0,8 mL da suspensão microbiana (inóculo) foi transferida para o meio de cultura e, de imediato, semeada em toda a superfície da placa de Petri com o auxílio de uma alça de Drigalski de vidro, de modo a se obter um crescimento confluyente.

A seguir, foram realizadas cinco perfurações equidistantes nos meios de cultura com a extremidade maior de uma ponteira (amarela) para micropipeta, esterilizada, com diâmetro de 4 mm, introduzindo-a nos 4 mm de profundidade, formando cavidades (poços) no ágar, de forma a possibilitar a colocação da solução controle negativo (dentifrício sem ingredientes ativos), da solução controle positivo (solução de clorexidina a 2%) e das diluições dos dentifrícios a serem testados. Desse modo, foram obtidos cinco orifícios em cada placa de Petri, os quais foram preenchidos com as respectivas soluções.

Incubação e pré-incubação

As placas de Petri, depois de semeadas e introduzidos os agentes antimicrobianos testes (dentifrícios), foram pré-incubadas à temperatura ambiente, por uma hora, a fim de permitir a difusão das substâncias antes do desenvolvimento microbiano. As placas de Petri foram incubadas, posteriormente, em microaerofilia a 37°C, por 48 horas, para crescimento de *S. mutans*; e, em aerobiose, para o crescimento de *C. albicans*.

Interpretação dos resultados

Ao término do período relatado, os diâmetros dos halos de inibição do crescimento microbiano (HICM) formados foram medidos com o auxílio de um paquímetro e uma régua milimetrada (em milímetros) sob ótima fonte de luz refletida, por um único leitor devidamente treinado e “cego” para os dentifrícios testados. Foram utilizadas duas medidas perpendiculares entre si, sendo obtida a média de seus tamanhos.

A análise da capacidade antimicrobiana foi determinada pelo tamanho dos diâmetros dos HICM obtidos para cada dentifrício e sua diluição sobre os microrganismos testados. Para a definição de eficiência antimicrobiana, os HICM com diâmetros entre 11 mm até 15 mm foram considerados moderados; os HICM com diâmetros superiores a 15 mm foram considerados com alta capacidade antimicrobiana; e os HICM com diâmetros menores que 11 mm foram considerados insatisfatórios. Esta análise levou em consideração padrões de inibição microbiana utilizados para testes de sensibilidade a antibióticos, sendo os resultados apresentados de forma descritiva.

Resultados

Na diluição de 1:1, todos os dentifrícios testados neste estudo apresentaram ação antimicrobiana sobre *C. albicans*, sendo os melhores resultados observados nos dentifrícios D6 e D7 (22,2 mm), D2 (20,2 mm) e D4 (19,0 mm), com halos de inibição do crescimento microbiano (HICM) similares ou superiores ao obtido com a solução de clorexidina a 2% (controle positivo), que foi de 19,5 mm. A ação antimicrobiana sobre *C. albicans* na diluição de 1:1 dos dentifrícios D5 (13,3 mm), D1 (13,0 mm) e D3 (11,7 mm) foi moderada (Tabela 1).

Tabela 1 – Médias dos halos de inibição do crescimento microbiano (HICM) observados após a realização do teste de difusão em ágar sobre *Candida albicans* com os dentifrícios testados no estudo e os controles negativo (dentifrício sem ingrediente ativo) e positivo (clorexidina 2%), nas diluições de 1:1, 1:2, 1:4 e 1:8

Dentifrícios	Média dos HICM (em milímetros)			
	Diluição 1:1	Diluição 1:2	Diluição 1:4	Diluição 1:8
D1	13,0	0,0	0,0	0,0
D2	20,2	0,0	0,0	0,0
D3	11,7	0,0	0,0	0,0
D4	19,0	0,0	0,0	0,0
D5	13,3	0,0	0,0	0,0
D6	22,2	0,0	0,0	0,0
D7	22,2	14,2	0,0	0,0
Controle -	0,0	0,0	0,0	0,0
Controle +	19,5	20,4	16,6	16,0

Fonte: autores.

Os testes de difusão em ágar para *S. mutans*, na diluição de 1:1, foram significativos para os dentifrícios D1 a D7, com exceção do D2 (0,0 mm) (Tabela 2). Nos dentifrícios D5, D6 e D7, o potencial de inibição do *S. mutans* foi considerável, apresentando HICM de 29,5, 27 e 35 mm, respectivamente. Estes resultados são similares (D5 e D6) ou superiores (D7) à solução controle positivo (29,0 mm) (Tabela 2).

Tabela 2 – Médias dos halos de inibição do crescimento microbiano (HICM) obtidos após a realização do teste de difusão em ágar sobre *Streptococcus mutans* com os dentifrícios testados no estudo e os controles negativo (dentifrício sem ingrediente ativo) e positivo (clorexidina 2%), nas diluições de 1:1, 1:2, 1:4 e 1:8

Dentifrícios	Média dos HICM (em milímetros)			
	Diluição 1:1	Diluição 1:2	Diluição 1:4	Diluição 1:8
D1	25	17,5	0	0
D2	0	6	0	0
D3	20	13,2	0	0
D4	26	7	0	0
D5	29,5	14	0	0
D6	27	17	0	0
D7	35	22	0	0
Controle -	0	0	0	0
Controle +	29	25,5	33,2	30,4

Fonte: autores.

Na diluição de 1:2, apenas o dentifrício D7 manteve potencial de inibição sobre *C. albicans*, apresentando HICM de 14,2 mm, superior à ini-

bição obtida pelos dentifrícios D5 (13,3 mm), D1 (13,0 mm) e D3 (11,7 mm) na diluição de 1:1 (Tabela 1).

Para *S. mutans*, todos os dentifrícios apresentaram ação antimicrobiana na diluição de 1:2. No entanto, os HICM dos dentifrícios D2 (6,0 mm) e D4 (7,0 mm) foram insignificantes. Nos demais dentifrícios, os HICM foram significativos para os dentifrícios D6 (17,0 mm), D1 (17,5 mm) e D7 (22,0 mm). Os dentifrícios D2 (13,2 mm) e D3 (14,0 mm) apresentaram menor atividade antimicrobiana nesta diluição (Tabela 2).

Nenhum dentifrício apresentou ação antimicrobiana sobre *C. albicans* e *S. mutans* nas diluições de 1:4 e 1:8, demonstrando que a diluição reduz a capacidade de inibição microbiana do dentifrício (Tabelas 1 e 2).

O dentifrício manipulado sem agentes ativos não teve ação antimicrobiana sobre *C. albicans* e sobre *S. mutans* em nenhuma das diluições testadas no estudo, comprovando que há a necessidade da adição de agentes com potencial de inibição microbiana para potencializar o controle da microbiota bucal (Tabelas 1 e 2).

Discussão

A variedade de produtos para higiene dental disponível atualmente no mercado nacional brasileiro gera incertezas aos consumidores em relação à qual escolher e, aos cirurgiões-dentistas, sobre qual dentifrício indicar ao paciente. A utilização de dentifrício é bem aceita durante a escovação dentária regular, aprovada e altamente apreciada pelos usuários por proporcionar sensação de frescor oral¹⁵. Além de auxiliar na limpeza dos dentes, o uso de agentes químicos ou fitoterápicos com atividade antimicrobiana em produtos odontológicos, como os dentifrícios, tem sido proposto como um método com potencial para a redução de doenças bucais mediadas pelo biofilme dentário, como a cárie e a periodontite^{16,17}. No entanto, é consenso que agentes antimicrobianos, como os enxaguatórios bucais, atuam basicamente como auxiliares dos métodos mecânicos de controle do biofilme dental¹⁸. Desta forma, o presente estudo testou dentifrícios contendo diferentes agentes de inibição de crescimento microbiano

sobre os microrganismos *S. mutans* e *C. albicans*, a fim de comprovar o potencial antiplaca sugerido pelos fabricantes, colaborando para a tomada de decisão na sua indicação e escolha.

Os componentes mais comuns do dentifrício são agentes abrasivos, aglutinantes, surfactantes e umectantes. A principal intenção do uso do creme dental é ajudar a remover os detritos e o biofilme dental, mas também há funções secundárias, como refrescar o hálito e branquear os dentes, que são amplamente comercializadas^{19,20}. A presença de flúor nos cremes dentais e, consequentemente, na cavidade bucal também fornece uma ação preventiva e terapêutica em relação à cárie dentária²¹, pois favorece a remineralização do esmalte e da dentina, não apenas por reduzir a solubilidade destes em meio ácido, mas também por reduzirem a capacidade bacteriana de produzir ácidos²². No entanto, considerando a cárie uma doença multifatorial, em que a presença do biofilme dental não é suficiente para o desenvolvimento da doença, mas, sim, a presença de carboidratos fermentáveis provenientes de uma dieta desequilibrada, principalmente pela alta frequência de ingestão de sacarose²³, seria mais prudente a orientação do controle da dieta e de hábitos de higiene dental aos indivíduos do que unicamente indicar um ou outro dentifrício baseado na sua composição antimicrobiana.

Prasanth¹⁷ (2011) descreveu que a *C. albicans* é a levedura mais comumente encontrada isolada na cavidade oral. A higiene bucal inadequada é uma das razões para o acúmulo desses micróbios e suas atividades prejudiciais. O *S. mutans* e o *C. albicans* são considerados importantes patógenos bucais, por isso a necessidade de métodos para redução desses. Leveduras do gênero *Candida* são consideradas microrganismos oportunistas que podem acometer pacientes imunocomprometidos e/ou sob terapia antimicrobiana por longo período de tempo²⁴. Prasanth¹⁷ (2011) avaliou a atividade antifúngica do extrato alcoólico de hortelã sobre *C. albicans* e *C. tropicalis*. Os resultados mostraram ação do extrato de hortelã sobre *C. albicans*, mas não sobre *C. tropicalis*, o que comprova a importância do ingrediente ativo para a efetividade do dentifrício contra microrganismos orais.

Os dentifrícios D3 e D4 testados neste estudo apresentam extrato de hortelã. Sobre *C. albicans*, o D4 apresentou melhor ação antibacteriana (HICM = 19,0 mm) do que o D3 (HICM = 11,7 mm). Ambos não apresentaram nenhuma ação antimicrobiana após a diluição de 1:2 e nas subsequentes, indicando que perdem rapidamente o potencial de inibição sobre esta levedura com a diluição durante a escovação dental. Sobre *S. mutans*, os dados da ação antibacteriana dos dentifrícios D3 e D4, na diluição de 1:1, não pôde ser lida. No entanto, mesmo na diluição 1:2, os dentifrícios apresentaram algum potencial de inibição bacteriana, sendo o HICM de 13,2 mm e 7,0 mm, respectivamente.

Recentemente, o triclosan, um composto aromático clorado não iônico que possui grupos funcionais representativos de éteres e fenóis, possui propriedades antibacterianas e antifúngicas e está presente em produtos de consumo, incluindo sabonetes e detergente^{19,20}, foi incorporado com sucesso em cremes dentais e enxaguatórios bucais, resultando em efeitos positivos moderados, mas distintos, tanto no biofilme dentário quanto na inflamação marginal ou gengivite²⁴.

Anushree et al.²⁵ (2015) testaram a atividade antimicrobiana de um total de nove dentifrícios contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* e *Candida albicans* pelo método de difusão em ágar modificado e detectaram que, dentre todos os dentifrícios investigados, as formulações à base de triclosan e flúor emergiram como as mais eficazes, baseadas na significativa zona de inibição microbiana produzida por ela em método de difusão em ágar, contra todos os quatro microrganismos testados. Os resultados deste estudo foram consistentes com os relatos anteriores de^{26,27}, de que a combinação de flúor é mais efetiva que a do monofluorofosfato de sódio.

Na presente pesquisa, o dentifrício D7 apresenta em sua composição triclosan associado ao GANTREZ. Dos dentifrícios testados, o D7 foi o que apresentou a melhor ação antimicrobiana sobre *S. mutans*, apresentando um halo de inibição do crescimento microbiano superior aos outros dentifrícios testados, tanto na diluição de 1:1, quanto na diluição de 1:2. Sobre *C. albicans*, a presença do triclosan não foi significativa para

umentar a ação antimicrobiana do produto, pois os dentifrícios D6 (com 1.500 ppm de NaF) e D7 apresentaram o mesmo potencial de inibição da levedura. No entanto, o dentifrício D7 foi o único a apresentar ação antimicrobiana sobre *C. albicans* na diluição de 1:2. O dentifrício D1, apesar de apresentar citrato de zinco na sua composição, demonstrou reduzida ação antimicrobiana sobre *C. albicans* na diluição de 1:1, apenas.

A clorexidina (CHX) é uma bisbiguanida catiônica, sendo ativa contra microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos, anaeróbios facultativos, aeróbios e leveduras. É frequentemente usado como um ingrediente ativo em produtos para bochechos projetados para reduzir o biofilme dentário e as bactérias orais. Foi demonstrada ação bactericida imediata e prolongada, ação bacteriostática devido à adsorção na superfície do esmalte revestido por biofilme dental. O potencial desta formulação foi demonstrado em um estudo sem escovação pelo uso de um protetor dental para proteger os dentes selecionados da escovação. O uso de dentifrício com CHX resultou em redução significativa do acúmulo de biofilme e gengivite em comparação com o placebo²⁸. A CHX é o agente antimicrobiano mais bem estudado e mais eficaz na higiene dental, sendo considerado como padrão ouro em estudos de observação da redução antimicrobiana em odontologia^{19,20}.

Vários fabricantes de dentifrícios incorporaram bicarbonato de sódio (BS) em suas formulações. Este é um sal composto de íons de sódio e íons de bicarbonato, não tóxico e suave aos tecidos moles da gengiva e mucosa oral. Nos dentifrícios comerciais, o BS serve principalmente como agente abrasivo, sendo uma substância alcalina capaz de neutralizar ácidos^{19,20}. Como tal, potencialmente, pode reduzir o processo de desenvolvimento de lesões de cárie, neutralizando os ácidos produzidos pelas bactérias na boca²⁹. O BS também neutraliza componentes ácidos de produtos químicos comuns que mancham os dentes, como os cromógenos do chá e o vinho tinto³⁰, diminuindo assim o seu potencial de coloração. Em relação à ação antimicrobiana sobre *C. albicans*, o dentifrício D2 apresentou bons resultados na diluição de 1:1 (20,2 mm) com HICM superior ao obtido com a solução de CHX a 2% (controle positivo),

que foi de 19,5 mm. Para *S. mutans*, os resultados não foram significativos.

Anushree et al.²⁵ (2015) testaram a eficiência de cremes dentais fitoterápicos e concluíram que a aplicação regular de dentifrícios com extrato de ervas durante 42 dias proporcionou redução significativa do acúmulo de biofilme e alguns sinais de inflamação gengival, como sangramento gengival. Constataram que esses agentes possuem atividade bactericida contra a maioria dos patógenos periodontais, sem influência negativa na microflora normal, recomendando o uso destes para adultos com gengivite, para controle do biofilme e para reduzir a inflamação gengival.

Aloe vera tem sido incorporada a dentifrícios orais por ter efeitos bactericidas. Valkenburg et al.¹⁹ (2019) realizaram uma revisão sistemática e relataram que o uso coadjuvante da *aloe vera* em dentifrícios orais, em pacientes com gengivite, teve eficácia semelhante em comparação com os dentifrícios de controle³¹. No presente estudo, o D5 teve um potencial de inibição do *S. mutans* considerável, na diluição de 1:1, apresentando HICM de 29,5 mm. Hujoel et al.³² (2018) realizaram uma revisão sistemática de ensaios clínicos randomizados, na qual alegaram que a higiene dental pessoal na ausência de fluoretos não conseguiu mostrar um benefício em termos de redução da incidência de cárie dentária. Diante da divergência dos resultados, percebemos que a presença de fitoterápicos (extrato de *aloe vera* e própolis) no dentifrício D5 foi o que contribuiu para a sua ação antimicrobiana.

O fluoreto de estanho (SnF) é um agente bem conhecido que tem sido usado em formulações de dentifrícios desde o início da década de 1940. Além de um potencial de remineralização que reduz a incidência de cárie dentária, também tem efeitos antimicrobianos^{19,20,33}. Abdulwahab e Al-Kholani³³ (2011) avaliaram um dentifrício com 1.400 ppm de flúor, na forma de fluoreto de sódio (NaF), com bicarbonato de sódio e cinco extratos vegetais, o qual foi eficaz para a redução do biofilme dentário. Sinais de inflamação gengival reduziram significativamente em ambos os grupos de teste à base de plantas em comparação com o grupo convencional. Neste estudo, o mesmo dentifrício foi testado, sendo o D2, o qual apre-

sentou boa capacidade de inibição de *C. albicans*, apresentando um HICM de 20 mm, equivalente ao controle positivo, o qual apresentou HICM de 19,5 mm sobre *C. albicans*. Para *S. mutans*, os dados não puderam ser avaliados, devendo ser repetidos os testes laboratoriais. Marinho³⁴ (2009) observou que dentifrícios com fluoreto de sódio (1.000 ppm) como ingrediente ativo apresentam efeito antibacteriano máximo contra *S. mutans*. O diâmetro médio de inibição foi avaliado em 16,01±2,68 mm, o que é significativo. Em nosso estudo, D6 apresentou os melhores resultados com HICM de 22,2 mm na diluição de 1:1 relacionada à *C. albicans*, sendo superior ao obtido com a solução de CHX a 2% (controle positivo), que foi de 19,5 mm e 27,0 mm na diluição de 1:1 em relação ao *S. mutans*, demonstrando ser inferior ao triclosan e à clorexidina.

Valkengurg et al.²⁰ (2010) relataram alta capacidade do flúor para inibir ou mesmo reverter o início e a progressão da cárie dentária. Os autores analisaram a eficácia antibacteriana de nanosilver, quitosana e flúor como ingredientes dos dentifrícios contra cepas de *S. mutans* e concluíram que o creme dental com flúor associado à desorganização do biofilme dentário ajuda a prevenir a cárie dentária com segurança e eficácia. Os fluoretos são abundantemente usados em muitos produtos de saúde bucal, incluindo cremes dentais e enxaguatórios bucais e seu uso está descrito há muitos anos.

Campos et al.³⁵ (2011) avaliaram, *in vitro*, a atividade antimicrobiana de 29 dentifrícios fluoretados encontrados no comércio frente a cepas de *S. mutans* e buscaram verificar a eficiência desses dentifrícios, quando usados puros e diluídos em água destilada, na proporção 1:3, que corresponde à diluição que ele pode sofrer na cavidade bucal (diluição do dentifrício que ocorre com a saliva). Os autores observaram que todos os dentifrícios mostraram atividade antimicrobiana frente ao *S. mutans*, mas concluíram que os dentifrícios fluoretados *in natura* apresentaram os melhores resultados. No presente estudo, nenhum dentifrício apresentou ação antimicrobiana sobre *C. albicans* e *S. mutans* nas diluições de 1:4 e 1:8, demonstrando que a diluição reduz a capacidade de inibição microbiana do dentifrício.

O dentifrício manipulado sem agentes ativos não teve ação antimicrobiana sobre *C. albicans* e *S. mutans* em nenhuma das diluições testadas no estudo, indicando que a adição de agentes com potencial de inibição microbiana pode contribuir para o controle da microbiota bucal.

A diversidade de produtos para o controle do biofilme dental demonstra que a capacidade de controle químico dos microrganismos é limitada. A rápida recolonização sobre as estruturas dentárias reforça a importância do controle mecânico do biofilme dental para a manutenção do equilíbrio da microbiota bucal, reduzindo a ocorrência das doenças periodontal e cárie³⁶. Esta, mais especificamente, sendo uma doença açúcar-biofilme-dependente, exige atenção dos profissionais para orientação e controle da dieta dos indivíduos, a qual contribui para evitar a disbiose no biofilme dental, evitando a doença cárie e contribuindo para a melhoria da saúde geral.

Conclusão

O estudo demonstrou que *S. mutans* foi mais sensível aos dentifrícios testados. *C. albicans* mostrou ser mais resistente aos mesmos produtos. Conforme ocorre a diluição dos dentifrícios, a capacidade antimicrobiana vai sendo praticamente anulada, reforçando a importância da remoção mecânica do biofilme dental associado a medidas de controle de dieta para o controle das doenças dentais. Portanto, neste estudo, o tipo de dentifrício demonstrou ter importância limitada para a manutenção da saúde bucal.

Abstract

Introduction: this study analyzed the antimicrobial activity in seven national dentifrices with antiplaque or antimicrobial substances in their composition, according the manufacturer, on the oral pathogens *Streptococcus mutans* and *Candida albicans*. Methods: the dentifrices antimicrobial effect evaluation was carried out by agar diffusion test. *S. mutans* and *C. albicans*. Padronized microbial suspension was cultured on Petri dishes containing *Brain Heart Agar* and *Sabourad Agar*, respectively. Wells were prepared in the cultured agar and filled with 1:1, 1:2, 1:4 and 1:8 dilutions of dentifrice solutions, and besides positive

(2% chlorhexidine solutions) and negative controls (dentifrices without active ingredients). After 48h/37°C incubation, the microbial growing inhibition zones were measured with a paquimeter and a millimeter rule, being the final zone results obtained in millimeters. Results and conclusion: on 1:1 dilution, all dentifrices were effective on *C. albicans* and *S. mutans*, except one with vegetal extract and sodium bicarbonate composition, which did not inhibit *S. mutans*. In 1:2 dilution, only triclosan-containing dentifrice inhibited *C. albicans*, while all dentifrices presented some inhibition potential on *S. mutans*. There were no inhibition zones for both microorganisms in other dilutions. We concluded that *C. albicans* showed to be more resistant to antimicrobial agents tested in the dentifrices, in this study. *S. mutans* showed to be more sensitive to tested dentifrices, however, the product dilution during toothbrushing reduces the expected inhibitory action, strengthening the importance of the mechanical removal of dental biofilm.

Keywords: Dentifrices. Antimicrobial action. *Streptococcus mutans*. *Candida albicans*.

Referências

1. Dewhirst FE, Chen T, Izard J, Paster BJ, Tanner AC, Yu WH, et al. The human oral microbiome. *J Bacteriol* 2010; 192(19):5002-17.
2. Marsh PD, Zaura E. Dental biofilm: ecological interactions in health and disease. *J Clin Periodontol* 2017; 44(Suppl 18):S12-S22.
3. Marsh PD. In Sickness and in Health-What Does the Oral Microbiome Mean to Us? Na Ecological Perspective. *Adv Dent Res* 2018; 29(1):60-5.
4. Rosier BT, Marsh PD, Mira A. Resilience of the Oral Microbiota in Health: Mechanisms That Prevent Dysbiosis. *J Dent Res* 2018; 97(4):371-80.
5. Tanner ACR, Kressirer CA, Rothmiller S, Johansson I, Chalmers NI. The Caries Microbiome: Implications for Reversing Dysbiosis. *Adv Dent Res* 2018; 29(1):78-85.
6. Marsh PD. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Adv Dent Res* 1994; 8(2):263-71.
7. Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol* 2005; 43(11):5721-32.
8. Bowden GHW. The microbial ecology of dental caries. *Microb Ecol Health Dis* 2000; 12(3):138-48.
9. Filoche S, Wong L, Sissons CH. Oral biofilms: emerging concepts in microbial ecology. *J Dent Res* 2010; 89(1):8-18.
10. Arweiler NB, Netuschil L. The Oral Microbiota. *Adv Exp Med Biol* 2016; 902:45-60.
11. Rocha EF, Seibel AB, Nogueira NA, Rocha VCF. Envelhecimento humano e desenvolvimento da doença periodontal. *Rev Elet Acervo Saúde* 2009; 26:e775.
12. Fine DH, Furgang D, Markowitz K, Sreenivasan PK, Klimpel K, Vizio DW. The antimicrobial effect of a triclosan/copol-

- lymer dentifrice on oral microorganisms in vivo. *J Am Dent Assoc* 2006; 137(10):1406-13.
13. Marinho BVS, Araújo ACS. Uso dos enxaguatórios bucais sobre a gengivite e biofilme dental. *Int J Dent* 2007; 6(4):124-31.
 14. Modesto A, Lima K. C, Uzeda M. Atividade antimicrobiana de três dentifícios utilizados na higiene oral de bebês: estudo in vitro. *Rev Assoc Paul Cir Dent* 2001; 55(1):43-8.
 15. Lippert F. An introduction to toothpaste – its purpose, history and ingredients. *Monogr Oral Sci* 2013; 23:1-14.
 16. Priya S, Uma E, Reddy MKR. Effect of different types of tea on *Streptococcus mutans*: An in vitro study. *Indian J Dent Res* 2012; 23(1):43-8.
 17. Prasanth M. Antimicrobial Efficacy of Different Toothpastes and Mouthrinses: An In Vitro Study. *Dent Res J* 2011; 8(2):85-94.
 18. Valkenburg C, Kashmour Y, Dao A, Van der Weijden FGA, Slot DE. The efficacy of baking soda dentifrice in controlling plaque and gingivitis: A systematic review. *Int J Dent Hyg* 2019; 17(2):99-116.
 19. Valkenburg C, Van der Weijden FA, Slot DE. Plaque control and reduction of gingivitis: The evidence for dentifrices. *Periodontol 2000* 2019; 79(1):221-32.
 20. Tenuta L, Cury J. Fluoride: its role in dentistry. *Bras Oral Res* 2010; 24(1):9-17.
 21. Magalhães HIC. Efeitos do flúor na saúde humana. Porto. Dissertação [Mestrado em Ciências Farmacêuticas] - Universidade Fernando Pessoa; Faculdade de Ciências da Saúde; 2018.
 22. Kidd E, Fejerskov O. What constitutes dental caries? Histopathology of carious enamel and dentin related to the action of cariogenic biofilms. *J Dent Res* 2004; 83(C):C35-C38.
 23. Paes Leme AF, Koo H, Bellato CM, Bedi G, Cury JA. The role of sucrose in cariogenic dental biofilm formation--new insight. *J Dent Res* 2006; 10(85):878-87.
 24. Nogueira-Filho GR, Duarte PM, Toledo S, Tabchoury CP, Cury JA. Effect of triclosan dentifrices on mouth volatile sulphur compounds and dental plaque trypsin-like activity during experimental gingivitis development. *J Clin Periodontol* 2002; 29(12):1059-64.
 25. Anushree B, Fawaz MA, Narahari R, Shahela T, Syed A. Comparison of Antimicrobial Efficacy of Triclosan-Containing, Herbal and Homeopathy Toothpastes - An In vitro Study. *J Clin Diagn Res* 2015; 9(10):DC05-DC08.
 26. Gunsolley JC. A meta-analysis of six-month studies of antiplaque and antigingivitis agents. *J Am Dent Assoc* 2006; 137(12):1649-57.
 27. Davies RM, Ellwood RP, Davies GM. The effectiveness of a toothpaste containing triclosan and polyvinyl-methyl ether maleic acid copolymer in improving plaque control and gingival health: a systematic review. *J Clin Periodontol* 2004; 31(12):1029-33.
 28. Putt MS, Weijden GA, Kleber CJ, Saxton CA. Validation of a 21-day, partial-mouth gingivitis model for evaluating chemotherapeutic dentifrices. *J Periodontol Res* 1993; 28:301-7.
 29. Van der Weijden GA, Slot, DE. Oral hygiene in the prevention of periodontal diseases: the evidence. *Periodontol 2000* 2011; 55(1):104-23.
 30. Van der Weijden GA, Slot DE. Efficacy of homecare regimens for mechanical plaque removal in managing gingivitis – a meta review. *J Clin Periodontol* 2015; 42(suppl 16):S77-S91.
 31. Dhingra K. Aloe vera herbal dentifrices for plaque and gingivitis control: a systematic review. *Oral Dis* 2014; 20:254-67.
 32. Hujoel PP, Hujoel MLA, Kotsakis GA. Personal oral hygiene and dental caries: A systematic review of randomised controlled trials. *Gerodontology* 2018; 35(4):282-9.
 33. Abdulwahab I, Al-Kholani L. Comparison between the Efficacy of Herbal and Conventional Dentifrices on Established Gingivitis. *Dent Res J (Isfahan)* 2011; 8(2):57-63.
 34. Marinho VC. Cochrane reviews of randomized trials of fluoride therapies for preventing dental caries. *Eur Arch Paediatr Dent* 2009; 10(3):183-91.
 35. Campos ASC, Fonseca L, Simões FXPC, Juiz PJJ. Atividade antimicrobiana de dentifícios fluoretados sobre *Streptococcus mutans*: estudo in vitro. *Rev Bras Pesq Saúde* 2011; 13:4-10.
 36. Matos BM, Komiyama EY, Balducci I, Koga-ito CY. Atividade antifúngica do extrato alcóolico de *Menthapiperita* sobre *Candida albicans* e *C. tropicalis*. *Rev Odontol Unesp* 2009; 38:244-8.

Endereço para correspondência:

Daniela Jorge Corralo – Universidade de Passo Fundo
 BR 285, São José, Prédio A7
 CEP: 99052-900 – Passo Fundo, RS, Brasil
 E-mail: danicorralo@upf.br

Recebido: 17/02/2020. Aceito: 18/02/2020.