

Eficácia microbiológica de um fio dental impregnado com clorexidina: estudo *in vitro*.

GIOVANNA BERTOLLO TAMBARA¹; IGOR FRANZ SANTA BARBARA²; PEDRO PAULO DE ALMEIDA DANTAS³; RAFAEL GUERRA LUND⁴; FRANCISCO WILKER MUSTAFA GOMES MUNIZ⁵

¹Universidade Federal de Pelotas – giovannabertollo2@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – igorfranzsb@gmail.com

³Universidade Federal de Pelotas – pedro15_paulo@hotmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas – rafael.lund@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas – wilkermustafa@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

O biofilme dental consiste em comunidades sésseis e complexas de microrganismos que se aderem a superfícies dentárias, organizando-se em um arranjo estrutural característico, envoltos por substâncias autoproduzidas, como açúcares e proteínas. Esses microrganismos formam um ecossistema interdependente, facilitando sua nutrição e comunicação (STOODLEY, 2002; KRZYŚCIAK, et al., 2014; VESTBY, 2020). A cárie dentária, por sua vez, é uma doença oral dependente de biofilme, causada por patógenos cariogênicos, como *Streptococcus mutans*, e está associada à exposição frequente a dietas ricas em açúcar e à má higiene oral (CAI; KIM, 2023). Esta bactéria possui características que contribuem para sua virulência, como ser anaeróbica facultativa, sobreviver em ambientes ácidos e interagir com outros microrganismos do biofilme (KRZYŚCIAK, et al., 2014).

Para manter a higiene bucal e prevenir doenças orais, pode-se utilizar a combinação do controle mecânico e químico do biofilme. O controle mecânico, considerado padrão-ouro, inclui escovação, higiene interdental e dos tecidos moles da boca (VAN DER WEIJDEN; HIOE, 2005). O fio dental atua como complemento à escovação, auxiliando na redução do biofilme dental e da inflamação gengival (SHAMSODDIN, 2022). No controle químico, podem ser utilizados colutórios, como cloreto de cetilpiridínio, clorexidina e óleos essenciais. Entre eles, a clorexidina se destaca como a mais eficaz, sendo o padrão-ouro dos antissépticos. Estudos indicam que seu uso reduz significativamente o biofilme dental (JAMES, 2017).

Além disso, há evidências de que o uso de fio dental impregnado com clorexidina a 2% apresenta benefícios adicionais no controle de placa e gengivite (MUNIZ; DA SILVA LIMA; RÖSING; MARTINS et al., 2018). Esse fio dental é impregnado com clorexidina em estufa a temperatura controlada, porém nenhum estudo verificou se a clorexidina é retida no fio após a impregnação, nem elucidou seu efeito microbiológico. Portanto, são necessários ensaios *in vitro* para avaliar a eficácia microbiológica desse fio dental.

2. METODOLOGIA

Para fins de padronização, foram utilizados fios dentais estéreis, não encerados, de 1 cm (Clinical Fio Dental, Powerdent®, São Paulo, Brasil). Após essa etapa, as amostras foram imersas em 15 ml de uma solução de digluconato de clorexidina a 2% e mantidas em estufa microbiológica a 37°C por 24 horas. Após isso, a clorexidina foi removida do tubo e as amostras permaneceram na estufa por mais 24 horas para secagem. Esse protocolo de impregnação dos fios dentais está descrito em ensaios clínicos randomizados publicados previamente (MUNIZ et al., 2015; MUNIZ et al., 2018). Os ensaios microbiológicos foram realizados uma semana depois da preparação das amostras.

A cepa bacteriana utilizada foi *Streptococcus mutans* (UA159), proveniente da bacterioteca do Laboratório de Microbiologia (LAMICRO) da Faculdade de Odontologia da UFPel. A reativação da cepa foi feita em placas de Petri com meio *ágar Brain Heart Infusion (BHI)* em anaerobiose (37°C, 10% CO₂) por 48h. A atividade antimicrobiana das amostras foi avaliada pelo método de difusão em meio sólido, através da determinação do halo de inibição formado ao redor do fio dental impregnado com solução de clorexidina a 2%. Três grupos de diferentes amostras foram testados e dispostos na placa de Petri contendo meio de cultura *Ágar Mueller Hinton (MH)* e uma suspensão do inóculo bacteriano padronizado na escala de turbidez 0,5 da escala nefelométrica de MacFarland, sendo eles: grupo teste (contendo 3 amostras de fio dental impregnados com clorexidina), controle positivo (disco de antibiótico, clorexidina pura 2%) e grupo controle negativo (um fio dental comum, sem qualquer impregnação). Para o crescimento bacteriano, as placas foram incubadas em jarras de microaerofilia com discos de Anaerobac® (PROBAC, São Paulo, Brasil). As bactérias, cultivadas em meio *ágar Mueller Hinton (MH)*, foram mantidas nesse ambiente controlado (37°C, 10% CO₂) por 48 horas.

As mensurações dos halos de inibição foram realizadas com o software ImageJ (Rasband, W.S., ImageJ, U.S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA) por uma pesquisadora previamente treinada. Para fins de padronização, foi utilizada a medida do diâmetro, em horizontal, para considerar a espessura do fio e desconsiderar o comprimento de altura do fio, que poderia sofrer variações. As amostras dos três ensaios foram comparadas estatisticamente utilizando o teste de Kruskal-Wallis, adotando-se um valor de $p < 0,05$ para determinar a significância estatística. Comparações por pares foram feitas por meio do teste de Mann-Whitney com correção de Bonferroni.

3. RESULTADOS

O presente ensaio demonstra a ação antimicrobiana de um fio dental impregnado com uma solução de digluconato de clorexidina a 2%, utilizando o método de difusão em meio sólido para avaliar a formação de halos de inibição ao redor da bactéria *Streptococcus mutans*. Os resultados indicam que o *S. mutans* foi sensível à clorexidina presente no fio dental, com a criação de halos de inibição semelhantes aos do controle positivo (disco antibiótico), enquanto o controle negativo (fio dental sem solução de clorexidina) não exibiu qualquer atividade antimicrobiana.

Estudos presentes na literatura demonstram que a clorexidina é o quimioterápico mais potente contra *S. mutans* e a doença cárie, por isso é utilizada até mesmo como controle positivo para testes de potencial anticariogênico de outros medicamentos (Kidd, 1991; Emilson, 1994).

Em dois estudos anteriores do nosso grupo de pesquisa, feitos com uma população de estudantes de Odontologia e em um terceiro estudo do grupo (no prelo), feito com uma população não-estudante de Odontologia demonstram melhora no acúmulo de biofilme bacteriano na área interproximal de dentes em indivíduos que utilizaram o fio impregnado com clorexidina (MUNIZ et al., 2015; MUNIZ et al., 2018).

Os resultados após a comparação pelos testes de Mann-Whitney com correção de Bonferroni identificaram diferença estatisticamente significativa entre os grupos ($p=0,04$). O teste entre pares identificou que o disco de antibiótico (clorexidina 2%) (controle positivo) é mais eficaz do que o fio dental impregnado com clorexidina 2% (grupo teste) ($p=0,013$). Quando comparado com o controle negativo (fio dental comum) o fio dental impregnado é mais eficaz no que diz respeito ao efeito antibacteriano e bactericida ($p=0,012$). A comparação entre controle positivo e negativo também apresentou diferença estatística ($p=0,037$).

A análise estatística confirmou a existência de diferenças significativas entre os grupos. O grupo controle positivo apresentou um halo maior, indicando maior sensibilidade da bactéria à clorexidina no disco antibiótico em comparação ao fio dental impregnado. No entanto, o fio dental ainda demonstrou resultados notáveis, com halos de inibição superiores a 18 mm, o que sugere uma atividade antimicrobiana relevante.

4. CONCLUSÕES

O fio dental impregnado com solução de digluconato de clorexidina a 2%, embora tenha sido menos eficaz em comparação ao disco de clorexidina pura, mostrou-se superior ao controle negativo (fio dental comum), que não formou nenhum halo de inibição. O fio dental tratado formou um halo de inibição significativo, demonstrando eficácia contra as bactérias da cepa *S. mutans*.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANGST, P. D. M.; GOMES, S. C.; OPPERMAN, R. V. Do controle de placa ao controle do biofilme supragengival: o que aprendemos ao longo dos anos?. **Revista da Associação Paulista de Cirurgiões-Dentistas**, v. 69, n. 3, p. 252-259, 2015. ISSN 0004-5276.

CAI, J.-N.; KIM, D. Biofilm ecology associated with dental caries: understanding of microbial interactions in oral communities leads to development of therapeutic strategies targeting cariogenic biofilms. In: GADD, G. M.; SARIASLANI, S. (Ed.). **Advances in Applied Microbiology. Academic Press**, v. 122, p. 27-75, 2023.

EMILSON CG. Potential efficacy of chlorhexidine against mutans streptococci and human dental caries. **J Dent Res.** 1994 Mar;73(3):682-91. doi: 10.1177/00220345940730031401. PMID: 8163738.

JAMES, P.; WORTHINGTON, H. V.; PARNELL, C. et al. **Chlorhexidine mouthrinse as an adjunctive treatment for gingival health**. Cochrane Database of Systematic Reviews, v. 3, n. 3, p. CD008676, mar. 2017.

KIDD EAM. Role of chlorhexidine in the management of dental caries. **Int DentJ** 41:279-286. 1991.

KRZYŚCIAK, W.; JURCZAK, A.; KOŚCIELNIAK, D.; BYSTROWSKA, B.; SKALNIAK, A. The virulence of *Streptococcus mutans* and the ability to form biofilms. **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases**, v. 33, n. 4, p. 499-515, abr. 2014.

MUNIZ, F. W.; SENA, K. S.; DE OLIVEIRA, C. C.; VERÍSSIMO, D. M.; CARVALHO, R. S.; MARTINS, R. S. Efficacy of dental floss impregnated with chlorhexidine on reduction of supragingival biofilm: a randomized controlled trial. **International Journal of Dental Hygiene**, v. 13, n. 2, p. 117-124, maio 2015.

MUNIZ, F. W. M. G.; DA SILVA LIMA, H.; RÖSING, C. K.; MARTINS, R. S.; MOREIRA, M. M. S. M.; CARVALHO, R. S. Efficacy of an unwaxed dental floss impregnated with 2% chlorhexidine on control of supragingival biofilm: A randomized, clinical trial. **Journal of Investigative and Clinical Dentistry**, v. 9, n. 1, 2018.

OPPERMANN, R. V.; RÖSING, C. K. **Periodontia Laboratorial e Clínica: Série Abeno: Odontologia Essencial-Parte Clínica**. Artes Médicas Editora, 2013.

SHAMSODDIN, E. Dental floss as an adjuvant of the toothbrush helps gingival health. **Evidence-Based Dentistry**, v. 23, n. 3, p. 94-96, 23 set. 2022.

SMULOW, J. B.; TURESKEY, S. S.; HILL, R. G. The effect of supragingival plaque removal on anaerobic bacteria in deep periodontal pockets. **Journal of the American Dental Association**, v. 107, n. 5, p. 737-742, nov. 1983.

STOODLEY, P.; SAUER, K.; DAVIES, D. G.; COSTERTON, J. W. Biofilms as complex differentiated communities. **Annual Review of Microbiology**, v. 56, p. 187-209, 2002.

VAN DER WEIJDEN, G. A.; HIOE, K. P. A systematic review of the effectiveness of self-performed mechanical plaque removal in adults with gingivitis using a manual toothbrush. **J Clin Periodontol**, v. 32, n. Suppl 6, p. 214-228, 2005.

VESTBY, L. K.; GRØNSETH, T.; SIMM, R.; NESSE, L. L. Bacterial biofilm and its role in the pathogenesis of disease. **Antibiotics (Basel)**, v. 9, n. 2, p. 59, 2020.