

Atividade antimicrobiana de um gel dental não-fluoretado contendo Própolis Verde 7%

Palavras-Chave: Periodontite. Própolis verde. Gel dental. Odontologia.

Autores(as):

Ana Clara Leal Machado [FCF]
Prof^(a). Dr^(a). Bruno Bueno Silva [FOP]

Colaboradores:

Me. Larissa Pavanello Pandolfo [FOP]

INTRODUÇÃO:

A etiologia de diversas doenças bucais relaciona-se com a presença de biofilmes orais e com a disbiose microbiana, como cárie dental, gengivite, doenças endodônticas, candidíase orais e periodontite (Sedghi, et al., 2021). A periodontite, por exemplo, é uma condição inflamatória crônica, que acomete os tecidos de suporte dos dentes, incluindo tecido gengival, ligamento periodontal (LPD) e o osso alveolar e é considerada um problema de saúde pública (Nazir et al., 2020).

Dessa maneira, visando mitigar tal problemática, novas substâncias químicas têm sido propostas como terapias complementares no tratamento periodontal, a exemplo do emprego de agentes químicos derivados de plantas em formulações e materiais dentários.

Assim, destaca-se a própolis que tem sido utilizada em diferentes especialidades devido às suas propriedades farmacológicas, incluindo endodontia, odontologia restauradora, implantodontia, etc. A atividade antimicrobiana da própolis verde é atribuída aos compostos flavonoides, como destaque o ácido cinâmico que mostrou potente eficácia contra diversas bactérias, como *Bacillus* spp., *Streptococcus pyogenes*, *Aeromonas* spp. *Micrococcus flavus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Enterobacter cloacae* (Guzman, 2014, Yilmaz et al., 2018).

Desse modo, atualmente os cremes dentais de agentes químicos derivados de plantas estão comercializados com sua caracterização parcial e/ou sem estudos in

vitro e in vivo para comprovar sua eficácia e segurança clínica, considerando apenas os efeitos da substância natural. Frente a isto, este estudo objetiva investigar o efeito antimicrobiano de um gel dental não-fluoretado contendo 7% de própolis verde (DentalPrópolis®) em bactérias orais relacionadas a periodontite.

METODOLOGIA:

Produto e grupos experimentais

O gel dental contendo 7% de Própolis Verde (Dental Própolis®) foi testado quanto a sua propriedade antimicrobiana. Os grupos experimentais foram o Grupo teste: gel dental + microrganismos + meio de cultura. Grupo padrão: gel dental Oral B + bactéria + meio de cultura. Grupo controle positivo: microrganismos + meio de cultura. Controle negativo: gel dental + meio de cultura. Controle de contaminação: meio de cultura.

Microrganismo e condições de cultivo

Foi utilizada a cepa de *Streptococcus mutans* (UA 159) e o microrganismo foi cultivado em Agar Triptona de Soja (TSA) sob condições aeróbias (5% de CO₂) por 18 horas. Após o cultivo, a espécie foi transferida (2 – 3 colônias) para um tubo de vidro contendo Brain Heart Infusion (BHI) e incubou-se nas mesmas condições descritas por 24 horas.

Após o período de incubação em BHI caldo, a densidade ótica (DO) da suspensão bacteriana foi ajustada para 10⁸ células/mL (DO ~ 0,1, comprimento de onda = 660 nm). Em seguida, a suspensão foi diluída para obtenção do inóculo final de biofilme, contendo 10⁴ células/mL. Uma alíquota de 150 µL do inóculo final foi adicionada por poço em placas de 96 de poliestireno de fundo chato e a placa foi incubada a 37°C sob condições aeróbicas com formação do biofilme por 7 dias.

O tratamento com o gel dental de própolis teve início após 48 h de formação do biofilme. Em que foi lavado 2 vezes com 200 µL de solução (1% de PBS) e o gel dental foi adicionado. A exposição do biofilme ao gel dental foi de 1 min, 2 vezes por dia até o sexto dia de formação. Posteriormente, biofilmes tratados foram novamente lavados com solução de lavagem e 200 µL de BHI caldo foi adicionado à placa e incubados.

Avaliação da atividade antimicrobiana do gel dental

A atividade antimicrobiana do gel dental foi avaliada por meio da atividade metabólica do biofilme e contagem de Unidades Formadoras de Colônia por mL.

Além disso, a ação inibitória foi determinada através da avaliação da atividade metabólica do biofilme, usando XTT sodium salt e espectrofotometria. Para avaliar, o biofilme foi lavado duas vezes e adicionou-se a solução de XTT a 1%. As placas foram incubadas, portanto, em condições aeróbicas durante 4 h a 37 °C e a conversão XTT apresentou a leitura a 485 nm usando um espectrofotômetro de fluorescência (Soares et al., 2015).

UFC/mL

Para obtenção das Unidades formadoras de colônia (UFC/mL), alíquotas (100 µL) de todos os poços dos grupos teste e padrão foram diluídas em série em solução salina estéril e plaqueadas (10 µL) em BHI agar. A incubação ocorreu sob condições aeróbicas por 48 horas.

Análise estatística

Os dados foram analisados pelo software GraphPad Prism 9 (GraphPad Software Inc Califórnia, EUA), considerando o nível de significância de 5% ($\alpha = 0,05$). A normalidade foi verificada através do teste Shapiro-Wilks. As comparações estatísticas entre os grupos foram feitas pelo teste Kruskal-Wallis seguida dos testes *post hoc* de Dunn.

RESULTADOS E DISCUSSÃO:

Inicialmente, é relevante destacar que o desenvolvimento do presente trabalho não teve continuidade, em razão da mudança de curso de graduação e de localidade por parte da discente. Tais fatores inviabilizaram a sequência do projeto e a realização de testes adicionais em duplicata ou triplicata, conforme recomendado por Riu e Rius (1996), os quais permitem estimativas mais precisas do desvio padrão do erro e a obtenção de resultados mais precisos e detalhados. Dessa forma, os dados aqui apresentados são preliminares, embora já possibilitem algumas considerações e conclusões relevantes.

Atividade metabólica do biofilme

Em análise dos dados quantitativos do experimento foi possível observar que o gel dental à base de própolis 7% reduziu significativamente ($p \leq 0,05$) a absorvância (nm) em relação ao grupo padrão e o controle positivo. A redução foi de aproximadamente 63%. Não houve diferença estatística entre o grupo padrão e o controle positivo ($p \geq 0,05$).

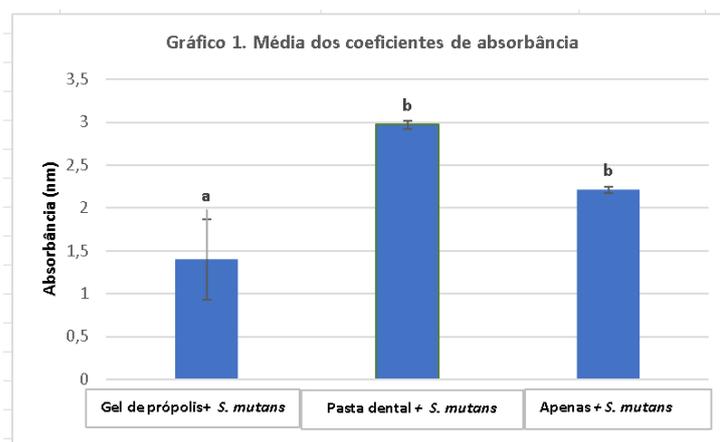


Gráfico 1. Média e desvio padrão da atividade metabólica dos biofilmes de *S. mutans*. Letras diferentes significam diferença estatisticamente significativa (Kruskal-Wallis/post hoc de Dunn ($p \leq 0,05$)).

Tal resultado nos demonstrou uma efetiva ação sinérgica da própolis de modo que a redução da absorvância observada reflete a menor densidade microbiana no meio. Tal fator pode ser discutido, portanto, devido seu mecanismo de ação inibitório da própolis contra o crescimento de *Streptococcus mutans*, e, ainda, é possível relacionar a sua atividade com à presença desses flavonoides, ácidos fenólicos, ácidos diterpênicos e compostos aromáticos supracitados (Guzman, 2014, Yilmaz et al., 2018).

Ademais, embora os tratamentos convencionais mantenham seu papel na prevenção e controle de infecções orais, os resultados do presente estudo evidenciam suas limitações frente à formulação com própolis. Assim, destaca-se a importância da realização de mais análises e, também, incentiva ao desenvolvimento de alternativas terapêuticas naturais, com igual ou maior eficácia antimicrobiana e menor potencial de efeitos adversos, como forma de ampliar as opções disponíveis para a saúde bucal.

UFC/mL

No presente estudo não foi possível quantificar as UFC/mL do grupo tratado com o gel de própolis, pois indícios de contaminação fúngica- colônias filamentosas - foram detectados. Assim, urge discutir possíveis agentes de tal resultado como contaminação acidental durante a manipulação ou, ainda, presença de contaminante no próprio gel de própolis.

Embora a contaminação fúngica identificada não tenha se manifestado nos demais grupos analisados, sua presença impediu a análise sobre a efetividade do gel. Diante disso, reforça-se a necessidade de procedimentos mais rigorosos de controle de qualidade e assepsia na preparação dos géis, bem como a repetição dos ensaios em condições padronizadas, a fim de garantir a confiabilidade e a reprodutibilidade dos resultados obtidos.

CONCLUSÃO:

Infere-se, portanto, que o gel dental à base de própolis apresenta atividade antimicrobiana, evidenciada pela inibição da atividade metabólica de *Streptococcus mutans* após dois tratamentos diários de um minuto cada. No entanto, a comparação com o dentifrício padrão não pôde ser efetivamente realizada, uma vez que o ensaio de contagem de unidades formadoras de colônia (UFC/mL) foi comprometido por contaminação microbiológica, impossibilitando a obtenção de dados confiáveis para esse grupo e, assim, impede conclusões comparativas quanto à eficácia relativa dos tratamentos testados.

BIBLIOGRAFIA

Sedghi L, DiMassa V, Harrington A, Lynch SV, Kapila YL. The oral microbiome: Role of key organisms and complex networks in oral health and disease. *Periodontol 2000- 2021*.

Nazir M, Al-Ansari A, Al-Khalifa K, Alhareky M, Gaffar B, Almas K. Global Prevalence of Periodontal Disease and Lack of Its Surveillance. *ScientificWorldJournal*. 2020

SILVEIRA, G.R.; CAMPELO, K.A.; LIMA, G.R.S.; CARVALHO, L.P.; SAMARÃO, S.S.; VIEIRA-DA-MOTTA, O.; MARIA, E.J. In vitro anti-Toxoplasma gondii and antimicrobial activity of amides derived from cinnamic acid.

SOARES, C.B. et al. Revisão integrativa: Conceitos e métodos utilizados na enfermagem. *Revista da Escola de Enfermagem da USP*, v. 48, p. 335-345, 2015.