

# Avaliação *in vitro* do potencial antimicrobiano de cinco tipos diferentes de vernizes de flúor e clorexidina

## *In vitro* evaluation of the antimicrobial potential of five different types of fluorine and chlorhexidine varnish

Kátia Lumi Tanikawa-Vergilio<sup>1</sup>; Elaine Márcilio Santos<sup>2</sup>; Carolina Cardoso Guedes<sup>3</sup>; Lara Jansiski Motta<sup>4</sup>; Sandra Kalil Bussadori<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Professora de Cariologia, Periodontia e Microbiologia – Uninove

<sup>2</sup> Professora de Odontopediatria – Universidade de Mogi das Cruzes

<sup>3</sup> Professora de Cariologia e Prevenção em Odontologia – Universidade Braz Cubas

<sup>4</sup> Professora de Radiologia – Universidade Metropolitana de Santos.

<sup>5</sup> Professora do Mestrado em Ciências da Reabilitação – Uninove

### ENDEREÇO PARA CORRESPONDÊNCIA

São Paulo, SP [Brasil]

katialumi@gmail.com

### RESUMO

No contexto de promoção de saúde, há métodos eficazes de prevenção da doença cárie, entre os quais os agentes quimioterápicos, o flúor e a clorexidina. Neste estudo, avaliou-se “*in vitro*” o potencial antimicrobiano de quatro vernizes de flúor e um de clorexidina. Amostras de dentina infectada de 30 molares decíduos foram cultivadas em BHI e semeadas em quatro meios de cultivo, nos quais foram colocados discos de papel-filtro com os vernizes testados. O Cervitec® apresentou maior atividade bactericida e bacteriostática e o Flúor Protector®, a menor ação antimicrobiana. Neste estudo, sugere-se que o método mais eficaz na prevenção da cárie é a combinação dos métodos educacionais de orientação à higiene oral e a aplicação de vernizes de flúor e clorexidina, pois têm gerado resultados otimistas na manutenção da saúde oral.

**Descritores:** Clorexidina; Flúor; Microbiologia.

### ABSTRACT

In the context of promoting health, there are effective methods of preventing the disease carie, among them are the chemotherapeutic agents fluorine and clorexidina. The objective, in this study, was to evaluate the *in vitro* antimicrobial potential of four fluoride varnishes and one of veneer of clorexidina. From samples of infected dentin, 30 deciduous molars were grown on BHI and sown in four means of cultivation in which were placed discs of filter paper with the varnishes tested. Among the tested varnishes, the Cervitec® presented more bactericidal activity and bacteriostatic, while the fluorine Protector® presented the lowest antimicrobial action. In this study, it is suggested that the most effective method in preventing carie is the combination of educational guidance methods towards oral hygiene and the application of fluorine varnishes and clorexidina, for they have generated optimistic results in the maintenance of oral health.

**Key words:** Chlorhexidine; Fluorine; Microbiology.

## INTRODUÇÃO

A prevenção de doenças e a promoção da saúde são o foco principal da odontologia moderna. Atualmente, o acesso a esse tipo de tratamento é enfatizado nas populações infantil e adolescente, considerando a maior chance de prevenir, principalmente, a doença cárie, por meio da orientação sobre as medidas de controle de biofilme dental e pela correta higiene bucal diária.

O controle do biofilme ainda representa o maior desafio clínico, independentemente do tipo de tratamento a ser realizado. Os tradicionais métodos mecânicos para manutenção da higiene oral, não podem ser substituídos, porém os cuidados e a cooperação individual do paciente devem ser levados em consideração quando há dificuldades em controlar a formação patogênica do biofilme. Nesses casos, o uso de agentes químicos pode ser alternativa coadjuvante em diversos tipos de tratamentos. Nesse contexto de promoção de saúde, existem métodos eficazes de prevenção da doença cárie, entre os quais se enquadram os agentes quimioterápicos flúor e clorexidina<sup>1</sup>.

A presença do biofilme dental é um dos fatores predisponentes para a maioria das patologias bucais, envolvendo dentes e os tecidos adjacentes à cavidade oral. O biofilme dental compreende a deposição de diversas populações de microrganismos residentes, suplementares e transitórios da microbiota bucal humana aderidos à película adquirida do esmalte do elemento dentário. Entre as espécies bacterianas participantes, o grupo *Streptococcus mutans* tem papel determinante na instalação desse biofilme, relacionando sua presença à etiologia da cárie dentária. No processo evolutivo da lesão de cárie, os microrganismos envolvidos na patogenia seguem seu desenvolvimento e progressão em sucessões microbianas autogênicas nas camadas de esmalte e dentina, sendo verificada a detecção das principais espécies cariogênicas também em camada de dentina infectada.

O flúor, utilizado há décadas na odontologia na forma de gel dentifrício, solução, verniz ou espuma, possui ação reconhecidamente efetiva no

combate à cárie. O flúor em verniz foi criado para aumentar a eficiência e a permanência desse elemento quando em contato com a superfície dental, ocorrendo liberação lenta e contínua de fluoreto<sup>2</sup>.

Vernizes fluoretados são agentes com capacidade de prolongar o período de contato do flúor com o esmalte dentário. Possuem alta concentração de flúor, sendo bastante eficazes na remineralização da estrutura dentária e indicados para casos de hipersensibilidade dentinária e na prevenção de cáries em adultos e crianças<sup>3</sup>.

Além do flúor, a clorexidina, conhecido agente quimioterápico utilizado contra bactérias periodontopatogênicas, vem sendo empregada nos programas de prevenção como opção à redução da atividade bacteriana. De todos os agentes químicos de controle de biofilme dentário, o digluconato de clorexidina tem provado ser o mais efetivo e seguro<sup>4</sup>.

A clorexidina tem diversas aplicações clínicas, atua na desinfecção de canais radiculares e superfícies dentárias, possui efeito antimicrobiano no controle de biofilme e gengivites, colaborando na prevenção e tratamento de doenças periodontais e controlando o crescimento e colonização de *Streptococcus mutans*, além de prevenir o aparecimento de lesões de cárie e de possíveis infecções sistêmicas por essa bactéria. Esse produto é apresentado na forma de soluções colutórias, vernizes, e combinado a outros materiais odontológicos<sup>1,4</sup>.

A clorexidina é um potente antimicrobiano com alta especificidade contra bactérias cariogênicas. Quando utilizada em altas concentrações, tem efeito bactericida imediato, pois penetra na parede da célula bacteriana e leva à precipitação do citoplasma. Em baixas concentrações, tem efeito bacteriostático. No entanto, não tem capacidade de manter supressão significativa de *Streptococcus mutans* por um período maior que seis meses após sua última utilização, embora seja superior ao flúor – que só mantém o efeito cariostático durante sua utilização – nesse aspecto<sup>5,6</sup>.

A utilização de vernizes como veículo de liberação local de agentes antimicrobianos como a clorexidina tem sido desenvolvida e investigada durante os últimos trinta anos.

Piovano et al.<sup>7</sup> comprovaram a eficácia do verniz de clorexidina com timol associado à aplicação de orientação de técnicas de higiene bucal em cultura bacteriológica, verificando a redução da contagem de *S. mutans* em amostras de saliva e biofilme dental supragengival de crianças de 6 a 13 anos de idade, com alto risco de cárie.

Os resultados dos estudos realizados por Araújo et al.<sup>8</sup> sugerem que o Cervitec® (1% clorexidina e 1% timol, verniz de timol) reduz os níveis de *Streptococcus mutans* no biofilme dental de molares permanentes em erupção e pode diminuir significativamente a incidência de cáries.

Ribeiro e Bussadori<sup>9</sup> observaram que o verniz de fluoreto de sódio 2,26% (Duraphat®) apresentou eficácia estatisticamente significativa em relação ao digluconato de clorexidina 0,2% (Plak Out Gel), na redução de *Streptococcus mutans* em amostras de saliva.

Garcia et al.<sup>6</sup>, em estudo sobre a evolução longitudinal do efeito de um verniz de clorexidina na atividade proteolítica de cárie de dentina *in vivo*, demonstraram que os vernizes de clorexidina detêm a atividade de cárie *in vivo* e inibem a atividade proteolítica nessas lesões. Isso fortalece a indicação racional da clorexidina em todas as estratégias de tratamento para pacientes com alta atividade de cárie.

Mádlena, Márton e Nagy<sup>5</sup>, em estudo sobre o efeito antibacteriano do verniz de clorexidina Cervitec®, durante o tratamento ortodôntico, concluíram que os resultados obtidos demonstraram alta proporção de amostras de biofilme dental com baixa contagem de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* sp; no entanto, as amostras de saliva não sofreram mudanças significativas na contagem de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* sp até o final do período de estudo. Os resultados demonstraram que o verniz com clorexidina efetivamente reduziu o número de *Streptococcus mutans* no biofilme dentário ao redor dos aparatos ortodônticos.

Johari e Adenubi<sup>10</sup> colheram amostras de biofilme das superfícies oclusais e saliva de pacientes escolares de sete a oito anos e de 12 a 14 anos, na Arábia Saudita, e verificaram a eficácia do verniz

de clorexidina na redução do aparecimento de cáries em fóssulas e fissuras em crianças.

Zaura-Arite e Ten Cate<sup>11</sup> compararam, por meio de microrradiografia, a porcentagem de *Streptococcus mutans* e lactobacilos no biofilme dental e dentina desmineralizada infectada, sob efeito dos vernizes de clorexidina (Cervitec®), de flúor (Flúor Protector) e placebo. Em biofilme dental, não houve diferenças consideráveis entre os grupos. Na dentina infectada, o efeito inibitório de perda mineral produzido pelo verniz de flúor foi significativamente maior que o de clorexidina e o de placebo. Porém, a clorexidina mostrou efeito inibitório em todas as amostras de crescimento bacteriano. O verniz de flúor apresentou maior efeito local na desmineralização, e a clorexidina, periférico. O tratamento com a combinação dos dois vernizes poderia ser ótimo método para prevenção de cárie.

Ogaard et al.<sup>12</sup> estudaram o efeito da aplicação dos vernizes antimicrobianos e de flúor combinados em pacientes portadores de aparelho ortodôntico fixo, na redução de mancha branca, na ocorrência de gengivite e na formação de biofilme dental. O verniz antimicrobiano diminuiu significativamente o número de *Streptococcus mutans* durante as primeiras 48 semanas do tratamento, porém, esse resultado não reduziu o surgimento de manchas brancas nas superfícies vestibulares, como havia ocorrido com o grupo submetido a aplicações de verniz de flúor. A combinação dos dois vernizes mostrou maior efetividade na redução do aparecimento de novas lesões. Não houve significativa diferença entre os grupos quanto à gengivite e à formação de biofilme dental.

Assim, a associação da utilização de vernizes de flúor e clorexidina à higiene bucal e a orientação de dieta fazem-no método de eleição quando se pensa na prevenção de cárie em programas públicos e privados de promoção de saúde.

## PROPOSIÇÃO

O objetivo, neste estudo, foi avaliar “*in vitro*” o potencial antimicrobiano de quatro vernizes de flúor (Duraphat-Colgate® 2,26% F,

Duraflur-Herpo/Dentsply® 2,26% F, Dufluoride-FGM® 2,26% F e Flúor Protector® – Vivadent 1% F) e um de clorexidina (Cervitec® – Vivadent 1% clorexidina / 1% timol).

## MATERIAL E MÉTODO

Após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa, da Universidade Metropolitana de Santos (UNIMES, parecer nº 007/02), foram selecionados 30 molares decíduos de 25 pacientes. A coleta de dentina infectada foi realizada com auxílio de curetas otoscópicas. Após a coleta, o material foi cultivado em BHI e semeado em 100 placas de Petri, divididas igualmente em quatro meios: Ágar Mitis Salivarius; Ágar-sangue; Müeller-Hinton e Ágar Mitis Salivarius com bacitracina. Em cada meio, foram colocados cinco discos de papel-filtro (5 cm), sendo cada um embebido em um dos vernizes testados. Após 24 horas, avaliou-se o comprimento do halo inibitório formado ao redor de cada disco. A estatística foi realizada por análise inferencial (análise de variância para medidas repetidas), complementada pelo teste exato de Fisher, verificando se as diferenças observadas foram ou não significativas.

## RESULTADOS

Os resultados obtidos com a avaliação do crescimento bacteriano indicaram que, de forma geral, o verniz Cervitec® apresentou os melhores índices, resultando em maior atividade bacteriostática no meio Müeller-Hinton (16%) e maior atividade bactericida nos demais meios (A. Mitis – 40%; A. Sangue – 76%; A. Mitis + Bacitracina – 95,8%).

Os resultados menos favoráveis indicaram o verniz Flúor Protector®, que apresentou menor atividade bacteriostática em todos os meios testados, exceto no Ágar Mitis Salivarius com bacitracina (25%) (Gráfico 1).

No meio Müeller-Hinton, todos os vernizes apresentaram atividade bacteriostática e, no meio Ágar Mitis Salivarius com bacitracina, verificou-se a atividade bactericida do Cervitec®, do Duraphat® e do Duraflur®.

Com relação ao diâmetro dos halos, observou-se que o Cervitec® foi o que registrou as melhores médias (maior diâmetro dos halos), de 18,63 (A. Mitis com bacitracina) a 10,36 (A. Sangue). O Flúor Protector® foi o que produziu os piores resultados em todos os meios (de 7,00 – A. Mitis com bacitracina) a 5,20 (A. Mitis). O Duraphat®, Duraflur® e o Duofluorid XII® mostraram perfil similar (Tabela 1).

Relacionando os dados de crescimento bacteriano e o diâmetro de halo, observou-se que dos vernizes testados, o Cervitec® apresentou maior atividade bactericida e bacteriostática. O Duraflur® mostrou comportamento semelhante ao Duraphat® com relação à atividade bactericida e bacteriostática (Gráfico 2).

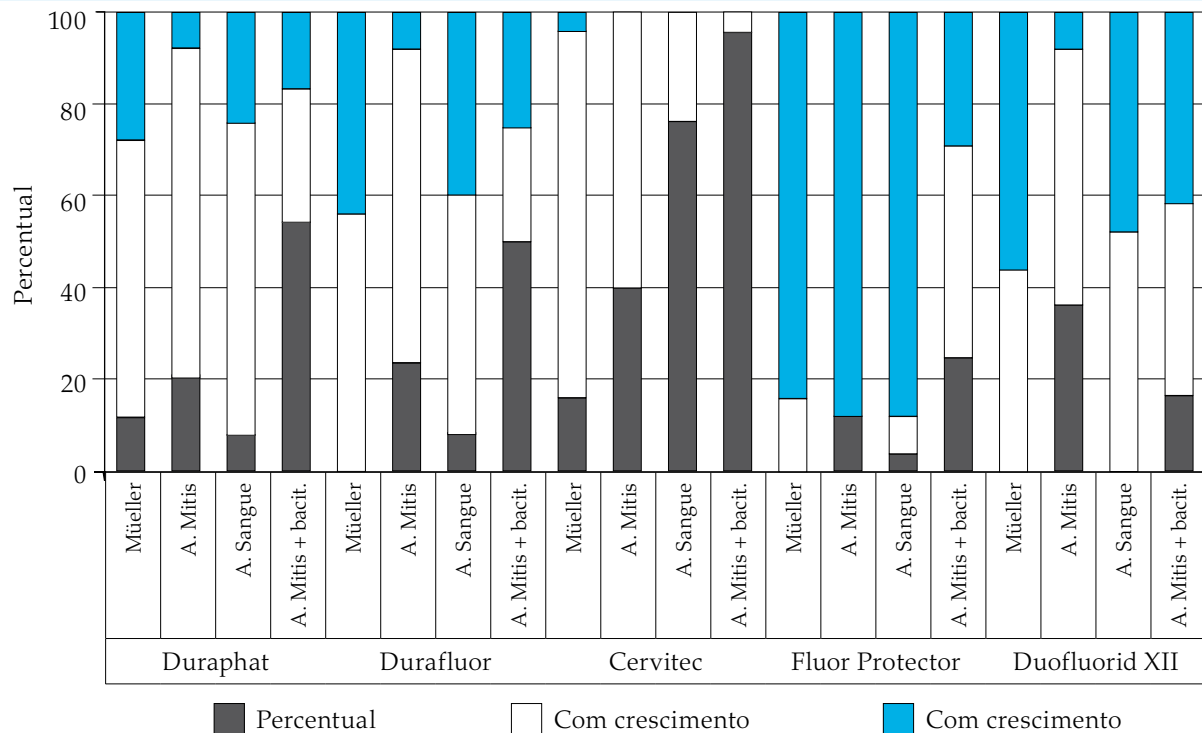
## DISCUSSÃO

Os resultados obtidos com a avaliação do crescimento bacteriano indicam que, de forma geral, o verniz Cervitec® apresentou os melhores índices, resultando em maior atividade bacteriostática no meio Müeller-Hinton e maior atividade bactericida nos demais meios, corroborando os relatos de Garcia et al.<sup>6</sup>, que afirmam que o verniz de clorexidina detém a atividade de cárie *in vivo* e inibe a atividade proteolítica na lesão.

Entre os agentes de controle de biofilme, o digluconato de clorexidina tem provado ser o mais efetivo e seguro. Matthijs e Adriaens<sup>4</sup> testaram três diferentes vernizes com clorexidina e verificaram a eficácia desse antimicrobiano no controle das doenças bucais por alterar as microbiotas cariogênicas e periodontopatogênicas.

O verniz de clorexidina pode interferir no desenvolvimento da atividade de cárie, sendo método preventivo eficaz nos achados microbiológicos apresentados por Araújo et al.<sup>8</sup> em biofilme e saliva, meios que apresentam similaridade de populações bacterianas. Matthijs e Adriaens<sup>4</sup> relataram que a redução ou erradicação dos *Streptococcus mutans* da microbiota oral é necessária para a efetiva prevenção da doença cárie.

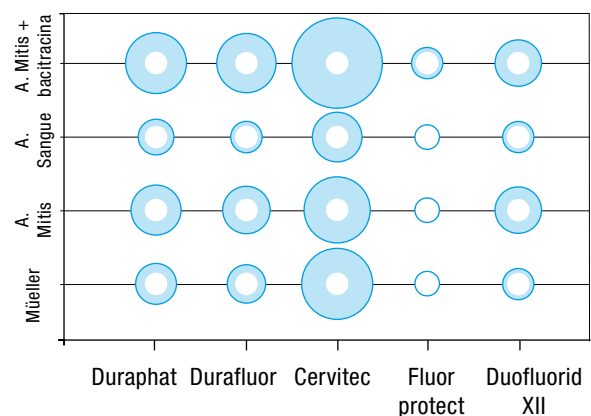
Mádlena, Márton e Nagy<sup>5</sup> também consideraram que amostras de biofilme oral bac-



**Gráfico 1:** Distribuição porcentual dos vernizes quanto ao crescimento bacteriano

**Tabela 1:** Médias e desvios-padrão (entre parêntesis) para os diâmetros dos halos

Verniz	Meio			
	Müller	A. Mitis	A. Sangue	A. Mitis + bacitracina
Duraphat	8,88 (2,55)	10,56 (2,93)	7,52 (2,35)	12,88 (4,48)
Duraflur	8,04 (3,26)	10,28 (2,97)	6,92 (2,43)	12,63 (5,10)
Cervitec	14,64 (4,25)	13,64 (3,19)	10,36 (3,01)	18,63 (3,84)
Fluor Protector	5,48 (1,33)	5,20 (0,58)	5,32 (1,07)	7,00 (1,69)
Duofluorid XII	6,96 (2,35)	9,44 (2,26)	7,00 (2,78)	10,08 (5,35)



**Gráfico 2:** Média do diâmetro dos halos de inibição

teriano, submetidas ao verniz de clorexidina – Cervitec<sup>®</sup> –, tiveram a quantidade de *S. mutans* e *Lactobacillus* sp reduzida, demonstrando que o verniz de clorexidina Cervitec<sup>®</sup> efetivamente reduziu o número de *S. mutans* no biofilme dental. Com relação ao diâmetro dos halos, observou-se que o Cervitec<sup>®</sup> apresentou as melhores médias

(maior diâmetro dos halos), de 18,63 (A. Mitis com bacitracina) a 10,36 (A. Sangue). O Fluor Protector<sup>®</sup> produziu os piores resultados em todos os meios (de 7,00 – A. Mitis com bacitracina) a 5,20 (A. Mitis). O Duraphat<sup>®</sup>, o Duraflur<sup>®</sup> e o Duofluorid XII<sup>®</sup> apresentaram perfil similar.

Relacionando os dados de crescimento bacteriano e diâmetro de halo, observou-se que dos vernizes testados, o Cervitec® apresentou maior atividade bactericida e bacteriostática, corroborando os achados de Mádlena, Márton e Nagy<sup>5</sup> e Garcia et al.<sup>6</sup>.

Os resultados deste estudo também se relacionam com os de Zaura-Arite e Ten Cate<sup>11</sup>, nos quais os vernizes de flúor apresentaram, de maneira significativa, maior efeito inibitório de perda mineral que o Cervitec® e o placebo. Entretanto, a clorexidina mostrou efeito inibitório em todas as amostras em crescimento. Os vernizes de flúor apresentaram maior efeito local na dentina infectada, e a clorexidina, periférico, sugerindo o tratamento de eleição com a combinação dos dois vernizes como método de ótima prevenção da cárie dentária. A combinação dos dois vernizes apresenta maior efetividade na redução do aparecimento de novas lesões<sup>12</sup>.

O Flúor Protector® foi o verniz que apresentou menor ação antimicrobiana, e o Duraflur®, comportamento semelhante ao Duraphat®, com relação à atividade bactericida e bacteriostática, corroborando os resultados de Ekenback et al.<sup>13</sup>, em que os vernizes de flúor e de timol não demonstraram redução significativa das respectivas populações bacterianas.

Em vários estudos, a clorexidina tem mostrado efeito inibitório em amostras de crescimento bacteriano. Os vernizes de flúor apresentam maior efeito local na desmineralização, e a clorexidina no periférico, e o tratamento com a combinação dos dois vernizes poderia demonstrar maior efetividade na redução do aparecimento de novas lesões, sendo ótima prevenção de cárie<sup>11,12</sup>.

Diante das considerações apresentadas neste estudo, sugere-se que o método mais eficaz na prevenção da cárie seja a combinação dos métodos educacionais de orientação à higiene oral e a aplicação de vernizes de flúor e clorexidina, utilizada em modelos de promoção de saúde bucal, uma vez que o efeito antibacteriano da clorexidina associado ao potencial remineralizador do flúor tem gerado resultados otimistas na manutenção da saúde oral.

## REFERÊNCIAS

1. Bastos JRM, Bardal PAP, Castro RFM, Mendes HJ, Vilhena FV. Chlorhexidine use at dentistry. *Salusvita*. 2004;23(1):15-24.
2. Bawden JW. Fluoride varnish: a useful new tool for public health dentistry. *J Public Health Dent*. 1998; 58(4):266-9.
3. Fuga TR, Pizante CR, Ramos NB. Verniz fluoretado: um importante método tópico na prevenção da cárie dentária. *Rev Inst Ciênc Saúde*. 2003;21(1):97-100.
4. Matthijs S, Adriaens PA. Chlorhexidine varnishes: a review. *J Clin Perio*. 2002;29(1):1-8.
5. Mádlena M, Márton S, Nagy G. Effect of chlorhexidine varnish on bacterial levels in plaque and saliva during orthodontic treatment. *J Clin Dent*. 2000; 11(2):42-6.
6. Garcia MB, Nör JE, Schneider LG, Bretz WA. A model for clinical evaluation of the effect of antimicrobial agents in carious dentin. *Am J Dent*. 2001;14(3):119-22.
7. Piovano S, Marcantoni M, Doño R, Bellagamba H. Effect of a chlorhexidine varnish on *Streptococcus mutans* in saliva. *Acta Odontol Latinoam*. 2005;18(1):7-13.
8. Araújo AM, Naspitz GM, Chelotti A, Cai S. Effect of cervitec on mutans streptococci in plaque and in caries formation on occlusal fissures of erupting permanent molars. *Caries Res*. 2002;36(5):373-6.
9. Ribeiro SK, Bussadori SK. Comparação entre o gel de clorexidina e o verniz de flúor na contagem salivar de *S. mutans*. *Rev Paul Odontol*. 2000; 22(4):48-52.
10. Johari RM, Adenubi JO. Prevention of pit and fissure caries using an antimicrobial varnish: 9 month clinical evaluation. *J Dent*. 2001;29(4):247-54.
11. Zaura-Arite E, Ten Cate JM. Effects of fluoride and chlorhexidine-containing varnishes on plaque composition and on desmineralization of dental grooves in situ. *Eur J Oral Sci*. 2000;108(2):154-61.
12. Ogaard B, Larsson E, Henriksson T, Birkhed D, Bishara SE. Effects of combined application of antimicrobial and fluoride varnishes in orthodontic patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2001; 120(3):279.
13. Ekenback SB, Linder LE, Lonnie H. Effect of four dental varnishes on the colonization of cariogenic bacteria on exposed sound root surfaces. *Caries Res*. 2000;34(1):70-4.