

# Atividade Antimicrobiana de Dentifrícios Fitoterápicos Contra *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus*

## Antimicrobial Activity of Phytotherapeutic Toothpastes against *Streptococcus mutans* and *Staphylococcus aureus*

Aryelle Thaysa Muniz Pinto<sup>a\*</sup>; Daniela de Jesus Silva<sup>a</sup>; Ana Santos Coutinho Ribeiro<sup>a</sup>; Iza Teixeira Alves Peixoto<sup>a</sup>

<sup>a</sup>Faculdade de Tecnologia e Ciências, Curso de Odontologia, BA, Brasil

\*E-mail: thaysamp\_31@hotmail.com

Recebido: 01 de junho de 2013; Aceito: 10 de outubro de 2013

### Resumo

O dentifrício é o meio mais racional para a liberação de agentes antimicrobianos na cavidade oral. O objetivo desse trabalho foi avaliar *in vitro* a atividade antimicrobiana de diferentes dentifrícios fitoterápicos disponíveis no mercado, contra cepas de referência de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213). Os dentifrícios utilizados foram Colgate Herbal Branqueador<sup>®</sup>, Even<sup>®</sup> Juá e Hortelã, Malvatricin<sup>®</sup>, Parodontax<sup>®</sup> e os controles Closeup<sup>®</sup>, que contém flúor, Colgate<sup>®</sup> Total 12, que contém flúor associado à triclosan e gel de Clorexidina<sup>®</sup> 2%. A técnica utilizada foi por difusão em Ágar, padronizada pelo FDA (Food and Drugs Administration), na qual os dentifrícios foram colocados em três orifícios equidistantes no meio de cultura. Após incubação a 37 °C por 48 horas, os halos de inibição de crescimento bacteriano foram mensurados com régua milimetrada. Dentre os dentifrícios fitoterápicos avaliados, Malvatricin<sup>®</sup>, que contém extrato de Malva em sua composição, e Colgate Total 12<sup>®</sup> foram os mais efetivos para as espécies bacterianas testadas. Assim, apesar de todos os dentifrícios fitoterápicos terem apresentado halo de inibição, o Malvatricin<sup>®</sup> mostrou resultado mais eficaz, podendo atuar no combate a infecções bacterianas bucais.

**Palavras-chave:** Dente. Dentifrícios. Fitoterapia. Higiene Bucal.

### Abstract

The toothpaste is the most rational method for releasing antimicrobial agents in the oral cavity. The aim of this study was to evaluate the *in vitro* antimicrobial activity of different herbal toothpastes available in the market against the reference strains of *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) and *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213). The toothpastes were Colgate Herbal Whitening<sup>®</sup>, Even Juá<sup>®</sup> and Mint, Malvatricin<sup>®</sup>, Parodontax<sup>®</sup> and the controls Closeup<sup>®</sup> as it contains fluoride, and Colgate Total<sup>®</sup> 12, which contains fluoride associated with triclosan and chlorhexidine gel<sup>®</sup> 2%. Agar diffusion method standardized by the FDA (Food and Drug Administration) was used. The toothpastes were placed at three equidistant holes in the culture medium, followed by incubation at 37 °C for 48 hours. Then, the inhibition halo of bacterial growth was measured with a millimeter ruler. Among the herbal toothpastes evaluated, Malvatricin<sup>®</sup> containing Mallow extracts in its composition, and Colgate Total<sup>®</sup> 12 were the most effective for the bacterial species tested. Thus, despite all the herbal toothpastes have shown inhibition zone, the Malvatricin<sup>®</sup> showed more effective results, and can prevent and fight oral bacterial infections.

**Keywords:** Tooth. Dentifrices. Phitotherapy. Oral Hygiene.

### 1 Introdução

A fitoterapia, *phyton* (planta) e *therapia* (tratamento) é descrita como uma prática antiga, com o primeiro relato manuscrito datado em 1500 a.C. O crescimento mundial da fitoterapia entre os programas preventivos e curativos tem estimulado pesquisas que avaliam os extratos de plantas, devido à busca por novos produtos com maior atividade terapêutica, baixo custo, biocompatibilidade e menor toxicidade<sup>1,2</sup>. Os Fitoterápicos são medicamentos regulamentados no Brasil que devem apresentar critérios similares de qualidade e segurança aos convencionais. São obtidos através das substâncias que funcionam como princípio ativo dos vegetais, utilizadas nas mais variadas fórmulas, como cápsulas, comprimidos, géis e pomadas<sup>3</sup>.

O conhecimento popular e a crescente utilização de produtos fitoterápicos disponíveis no mercado tem incentivado a avaliação da atividade desses produtos para o controle do

biofilme, que é o fator determinante para o desenvolvimento das doenças cárie e periodontal<sup>4</sup>.

Alguns agentes são incorporados aos dentifrícios como flúor, triclosan, citrato de zinco, gantrez, xilitol e substâncias naturais como Malva, Juá, Hortelã, ou Eucalipto, a fim de potencializar sua eficiência antimicrobiana<sup>5,6</sup>. A partir de novas formulações de dentifrícios disponíveis no mercado, metodologias científicas foram sucedendo para uma comprovação da sua eficácia. A incorporação de substâncias pode trazer benefícios tais como remoção de manchas, ação antisséptica e adição de sabor, e tem, como objetivo principal, melhorar a ação antimicrobiana dos dentifrícios<sup>7</sup>. Esses dentifrícios podem atuar de forma eficaz contra os microrganismos bucais, contribuindo para o equilíbrio da cavidade oral<sup>8</sup>.

Na Odontologia, produtos fitoterápicos com atividade antimicrobiana, antifúngica e antiinflamatória vêm sendo testados. Levando em conta que a maioria das afecções bucais

é de origem microbiana, estas substâncias vegetais que tenham efeito sobre cárie, doenças periodontais e candidoses têm sido associadas a dentifrícios com o objetivo de potencializar a atividade antimicrobiana<sup>3</sup>

Assim, pesquisas estão sendo realizadas para avaliação antimicrobiana de dentifrícios fitoterápicos, com o intuito de combater *Streptococcus mutans*, principal agente etiológico da cárie<sup>2</sup> e *Staphylococcus aureus*, que pode ser isolado de quadros infecciosos como abscessos dentários<sup>9</sup>.

Este trabalho teve como objetivo avaliar *in vitro* a atividade antimicrobiana de dentifrícios fitoterápicos disponíveis no mercado contra *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus*.

## 2 Material e Métodos

Esta pesquisa foi realizada na Faculdade de Tecnologia e Ciências (FTC) Campus Paralela, Salvador-BA, no laboratório de pesquisa de microbiologia. Nesse estudo foram utilizados seis dentifrícios disponíveis no mercado (Colgate® Herbal Branqueador, Even® Juá e Hortelã, Malvatricin®, Parodontax®, Closeup®, Colgate® Total 12, e Clorexidina® 2%) para avaliar *in vitro* a ação antimicrobiana sobre as cepas de referência dos microrganismos *S. mutans* (ATCC 25175) e *S. aureus* (ATCC 29213). O Quadro 1 mostra os dentifrícios utilizados e seus componentes ativos.

**Quadro 1:** Dentifrícios e seus princípios ativos.

Dentifrício	Ingrediente Ativo
Colgate® Herbal	Monofluorofosfato de sódio
Colgate® Total 12	Fluoreto de Sódio e Triclosan
Closeup®	Fluoreto de sódio
Even® Juá e Hortelã	Monofluorofosfato de sódio
Malvatricin®	Tirotricina, Quinosol, Fluoreto de Sódio
Parodontax®	Bicarbonato de sódio

Como controles positivos, foram selecionados, o Gel de Clorexidina a 2% por possuir comprovada ação antimicrobiana, e os adicionais Colgate® Total 12 por apresentar flúor e Triclosan, e Closeup® por apresentar flúor apenas. O meio BHI-Caldo (Brain Heart Infusion), previamente fundido, preparado e esterilizado, foi resfriado a 45-50 °C sobre uma superfície nivelada, colocado nas placas de Petri a uma profundidade de 4 mm (medida interna). As placas foram resfriadas com as tampas inclinadas para permitir evaporação do excesso de umidade. Foi preparado o inóculo com uma alça microbiana, transferindo microrganismos a partir de uma cultura pura para um tubo contendo 5 ml de BHI-Caldo. Em seguida, o tubo foi incubado a 35-37 °C por 12 horas, tempo suficiente para produzir uma suspensão bacteriana de turbidez moderada. Nas placas, foram realizados três orifícios equidistantes com auxílio de tubo de Durhan (7 mm de diâmetro). Em seguida, foi colocado na placa 100 µL do inóculo com auxílio de pipeta automática e então semeado com alça de Drigalsk.

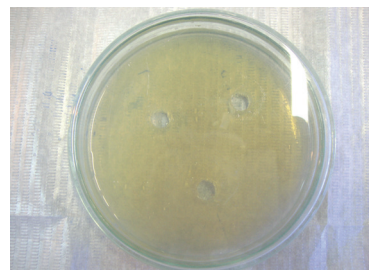
A seguir, foi introduzido o dentifrício nas placas, e então

foram levadas à incubadora a uma temperatura constante na faixa de 37 °C por 48 horas. A leitura das placas foi realizada com auxílio de uma régua milimetrada, medindo-se e anotando-se o diâmetro de cada halo, lendo até o ponto da inibição completa. A base para o julgamento de sensibilidade é o tamanho real do halo de inibição. A quantidade do inóculo foi medida por meio de diluição e posterior contagem de UFC (Unidade Formadora de Colônia) nas placas de BHI- Ágar.

O passo a passo dos materiais e métodos utilizados está apresentado nas Figuras 1 a 6.



**Figura 1:** Dentifrícios empregados no estudo



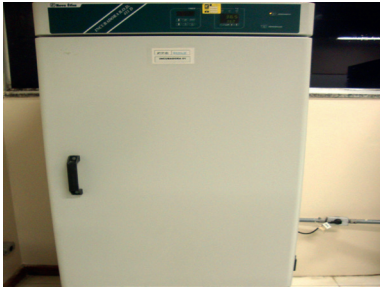
**Figura 2:** Orifícios realizados com tubo de Durhan no meio BHI-Ágar



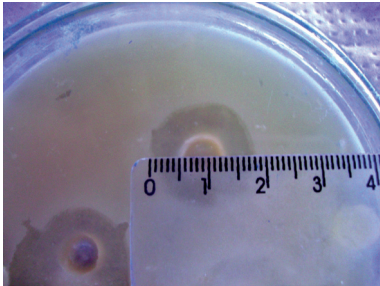
**Figura 3:** Inóculo semeado com alça de Drigalsk



**Figura 4:** Introdução do dentifrício nos orifícios da placa



**Figura 5:** Incubação das amostras à temperatura de 37 °C



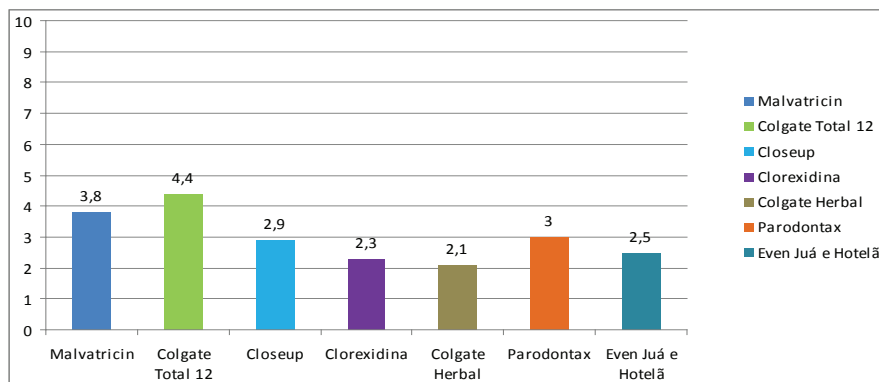
**Figura 6:** Análise dos resultados, medindo e anotando-se os halos de inibição com régua milimetrada

### 3 Resultados e Discussão

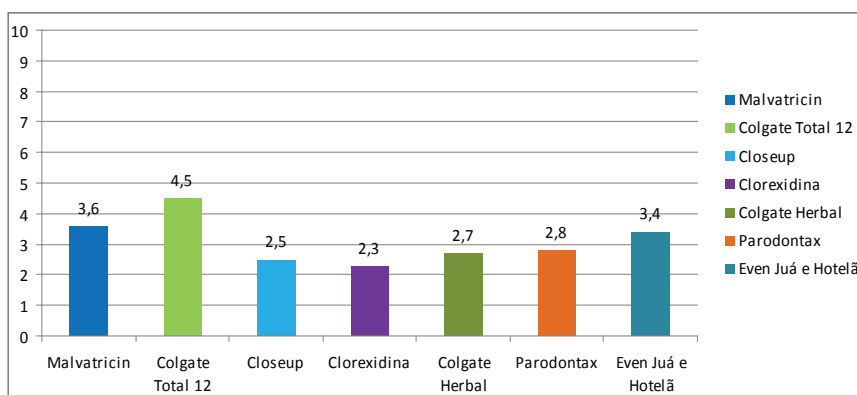
No presente estudo, a quantidade do inóculo utilizada por placa foi de  $1,5 \times 10^{10}$  UFC/ml e  $3,59 \times 10^{10}$  UFC/ml para *Streptococcus mutans* e *Staphylococcus aureus*, respectivamente. Pode-se verificar que os dentífrícios mais efetivos em inibir o crescimento de *S. mutans* foram Malvatricin®, que apresentou halo de 3,8 mm, bem como o Colgate® Total 12 grupo controle, com halo de 4,4 mm, pois formaram os maiores halos de inibição microbiana.

Em relação ao *S. aureus*, o dentífrício Colgate® Total 12 que teve halo de 4,5 mm e Malvatricin® que teve halo 3,6 mm obtiveram os maiores halos de inibição, sendo os mais efetivos, inclusive em comparação ao Clorexidina Gel 2% (controle positivo).

No controle negativo, não houve crescimento microbiano, indicando que os dentífrícios não estavam contaminados, portanto não provocaram crescimento microbiano. Pôde-se observar que todos os dentífrícios testados apresentaram halo de inibição. A média dos diâmetros dos halos de inibição do crescimento microbiano produzidos pelos diferentes dentífrícios e o gel de Clorexidina 2% estão apresentados nas Figuras 7 e 8.



**Figura 7:** Valores médios (mm) dos halos de inibição de crescimento de *S. mutans* para os dentífrícios: Malvatricin®, Colgate® Total 12, Closeup®, Clorexidina 2%, Colgate® Herbal, Parodontax®, Even® Juá e Hortelã.



**Figura 8:** Valores médios (mm) dos halos de inibição de crescimento de *S. aureus* para os dentífrícios: Malvatricin®, Colgate® Total 12, Closeup®, Clorexidina 2%, Colgate® Herbal, Parodontax®, Even® Juá e Hortelã.

O dentifrício fluoretado é o meio mais racional de utilização de fluoretos, pois associa a desorganização do biofilme dentário à exposição da cavidade bucal ao flúor. Vários estudos afirmam que a escovação com dentifrício fluoretado resulta em significativa diminuição do desenvolvimento de cárie, independentemente do composto fluoretado adicionado<sup>10</sup>. Todos os dentifrícios utilizados neste estudo apresentavam flúor em sua composição.

Através dos resultados obtidos, pode-se observar que os dentifrícios que apresentaram maior halo de inibição frente aos microrganismos testados foram aqueles que apresentavam em sua composição monofluorofosfato de sódio ou fluoreto de sódio, além de outros princípios ativos.

O flúor é capaz de se acumular no interior das bactérias e alterar metabolicamente sua atividade, pela via glicolítica, inibindo a formação de polímeros intracelulares e diminuindo sua adesão a hidroxiapatita<sup>11</sup>.

O fluoreto é um agente antimicrobiano que atua como inibidor de diversas enzimas bacterianas responsáveis pela metabolização de açúcares<sup>12</sup>.

No estudo de Souza Gugelmim *et al.*<sup>12</sup>, os dentifrícios contendo fluoreto de sódio apresentaram ação antimicrobiana mais eficaz do que os dentifrícios contendo monofluorofosfato de sódio. No presente estudo, os dentifrícios que tiveram os melhores resultados apresentaram na sua formulação fluoreto de sódio, que foram Malvatricin® e Colgate® Total 12.

Rosell *et al.*<sup>7</sup> ressaltam, ainda, a importância da adição de flúor como agente terapêutico nas formulações das pastas dentais. Em seu estudo, oito das nove pastas testadas continham flúor na mesma quantidade, 1.500 ppm. A única pasta que não continha flúor em sua composição era a marca Pródente®, que continha própolis e não desenvolveu halos de sensibilidade no meio de cultura, evidenciando ação ineficaz sobre a inibição de *S. mutans*.

Por sua vez, o dentifrício Sorriso® Herbal, que possui própolis, malva, canela e menta junto com flúor apresentou halo de inibição de crescimento microbiano de 21,4%, bem como o dentifrício Gessy Cristal®, que contém juá e cálcio<sup>7</sup>. Estes mesmos autores<sup>7</sup>, em experimento *in vitro* com cepas de *S. mutans*, verificaram que o extrato de juá nas concentrações de 1% desestabilizou o biofilme, exercendo atividade sobre as bactérias causadoras da cárie.

No presente estudo, o dentifrício Even® juá e hortelã teve efeito antimicrobiano, porém menor que outros dentifrícios.

O dentifrício Malvatricin®, que apresenta, como princípio ativo, quinosol, tirotricina e fluoreto de sódio, obteve resultado similar ao Colgate® Total 12, que não contém componentes fitoterápicos em sua formulação. Ambos dentifrícios apresentaram maior halo frente a *S. aureus*, com halo de 3,6 mm e 4,5 mm, respectivamente.

O presente estudo mostrou que o extrato de malva presente no dentifrício Malvatricin® apresentou atividade antimicrobiana eficaz. Já no estudo de Souza *et al.*<sup>12</sup>, o dentifrício que continha malva apresentou baixa atividade

antimicrobiana, com incidência de 56% contra *S. mutans*.

Outro estudo *in vitro* também demonstrou ausência de efeito antimicrobiano da tintura de malva, quando avaliada sobre *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus*<sup>13</sup>.

Um estudo *in vitro* sobre a atividade antimicrobiana das tinturas de malva sobre *S. mutans* concluiu que a malva não apresenta ação inibitória da proliferação bacteriana<sup>14</sup>.

Moreira *et al.*<sup>15</sup> relatam que a tirotricina é um agente ativo presente nos produtos Malvatricin® colutório e dentifrício, e que para ter ação bactericida ou bacteriostática, depende da concentração, atuando sobre bactérias Gram-negativas. No presente estudo, os resultados obtidos mostraram ação antimicrobiana também contra bactérias Gram-positivas.

A literatura específica tem atribuído a esta substância ações antisséptica, antibacteriana, antifúngica e propriedades desodorantes. Contudo, não foram encontrados na literatura estudos que relatem o efeito do quinosol sobre microrganismos da cavidade bucal<sup>13</sup>.

Uma alternativa bastante interessante para uma ação mais efetiva dessas pastas herbais poderia ser a associação de vários componentes naturais tais como o própolis, juá, menta, malva, canela entre outros, com substâncias como o triclosan, com o objetivo de aumentar a ação antimicrobiana das pastas herbais<sup>7</sup>.

O dentifrício Colgate® Total 12, que tem como princípio ativo o triclosan, foi o dentifrício que apresentou os melhores resultados frente às bactérias testadas. No estudo *in vitro* de Aquino *et al.*<sup>16</sup>, o triclosan também apresentou a maior capacidade de inibição para *S. mutans*.

Os dentifrícios contendo triclosan associado a copolímeros, como exemplo o gantrez e citrato de zinco, atendem às especificações de reduzir o biofilme dentário, melhorando também os quadros inflamatórios da gengivite<sup>10,16</sup>.

A Clorexidina gel 2% usada como controle é utilizada há anos como padrão ouro no controle do biofilme dental. Neste estudo, o gel de clorexidina 2% apresentou resultados similares aos dentifrícios testes para *S. mutans*, e resultados inferiores quando testado contra inibição do crescimento *S. aureus*. Trata-se de um composto pouco encontrado em princípios ativos dos dentifrícios, pois alguns componentes da fórmula podem ser incompatíveis, reduzindo sua ação<sup>10</sup>.

A ação antimicrobiana da clorexidina se deve à sua ligação com glicoproteínas da saliva, originando um composto denominado cloridrato de clorexidina. Este composto aumenta a permeabilidade da parede celular do microrganismo, permitindo sua penetração e consequente ação antimicrobiana<sup>16</sup>.

Segundo Aquino *et al.*<sup>16</sup>, estudos *in vitro* podem fornecer uma referência a cerca do potencial de ação dos agentes antimicrobianos, pois as bactérias presentes no biofilme da cavidade oral podem ser mais resistentes.

Vale ressaltar que os fabricantes não informam nas embalagens das pastas quais as concentrações desses produtos, nem esclarecem suas respectivas funções no conjunto da

pasta dental. As informações existentes sobre as propriedades biológicas podem ser encontradas em livros de fitoterapia ou artigos da literatura específica<sup>7</sup>.

No presente estudo, avaliou-se dentifrícios que apresentavam componentes naturais como juá, malva, hortelã, juntamente com o componente flúor, que continha em todos os dentifrícios testados, além de um dentifrício contendo triclosan. O presente estudo sugere que as substâncias naturais presentes no dentifrício Malvatricin® (tirotricina, quinosol, fluoreto de sódio, e álcool etílico) podem aumentar a ação antimicrobiana e o desempenho da tintura de malva.

#### 4 Conclusão

Os dentifrícios testados apresentaram diferentes resultados contra as cepas de *S. mutans* e *S. aureus in vitro*.

Dentre os dentifrícios comercialmente disponíveis, o Colgate® Total 12 apresentou o maior halo de inibição, seguido do dentifrício Malvatricin®, para as duas cepas testadas.

Os dentifrícios Clousep®, Parodontax®, Even® Juá e Hortelã, Colgate® Herbal Branqueador, e Clorexidina Gel 2% mostraram-se efetivos, porém os halos de inibição foram inferiores quando comparados ao Colgate® Total 12 e Malvatricin®.

#### Referências

1. Francisco KSF. Fitoterapia: uma boa opção para o tratamento odontológico. Rev Saúde 2010;4(1):18-24.
2. Pinheiro MA, Brito DBA, Cavalcanti W, Padilha WVN. Efeito antimicrobiano de tinturas de produtos naturais. Rev Bras Promoção Saúde 2012;25(2):197-201.
3. Rates SMK. Promoção do uso racional de fitoterápicos: uma abordagem no ensino de farmacognosia. Rev Bras Farm 2001;11(2):57-69.
4. Buffon MCM, Lima MLC, Galarda L, Cogo L. Avaliação da eficácia dos extratos de malva sylvestris, calendula officinalis, plantago major e cúrcuma zedoarea no controle do crescimento das bactérias da placa dentária. Estudo "in vitro". Rev Visão Acadêmica 2001;2(1):31-8.
5. Campos ASC, Fonseca L, Simões FXPC, Juiz PJJ. Atividade antimicrobiana de dentifrícios fluoretados sobre *Streptococcus mutans*: estudo in vitro. Rev Bras Pesquisa Saúde 2011;13(1):4-10.
6. Drumond MRS, Castro RD, Almeida RVD, Pereira MSV, Padilha WVN. Estudo comparativo *in vitro* da atividade antibacteriana de produtos fitoterápicos sobre bactérias cariogênicas. Pesqui Bras Odontopediatria Int 2004;4(1):33-8.
7. Rosell FL, Valsecki Júnior A, Silva SRC, Oliveira Junior LG. Atividade antimicrobiana de substâncias naturais em dentifrícios. Rev Saúde 2004;14(6):39-44.
8. Ditterich RG, Marissol CO, Romanelli V, Rastelli C, Portero PP, Santos EB. Atividade antimicrobiana "in vitro" de substâncias naturais presentes nos dentifrícios. Odontol Clín Cient 2007; 6(4):303-7.
9. Uzeda, M. Microbiologia oral: etiologia da cárie, doença periodontal e infecções endodônticas. Rio de Janeiro: Medsi; 2002.
10. Martins RS, Macedo JB, Muniz FWMG, Carvalho RS, Moreira MMSM. Princípios ativos e indicações clínicas dos dentifrícios: uma revisão de literatura entre 1989 e 2011. J Health Sciences Inst 2012;30(3):287-91.
11. Jardim Júnior EG, Souza RE, Lauton DS, Mariano F. Atividade inibitória de dentifrícios sobre bactérias anfibionticas da cavidade bucal. Rev Odontol UNESP 1998; 27(1):193-205.
12. Souza Gugelmim MCM, Silva FWGP, Queiroz AM, Amaral THA. Avaliação da atividade antimicrobiana de dentifrícios infantis: Estudo *in vitro*. Rev Faculdade Odontol Porto Alegre, 2006;47(3):10-3.
13. Moreira MJS, Ferreira MBC, Hashizume LN. Atividade antimicrobiana dos componentes de um enxaguatório bucal contendo malva. Pesquisa Bras Odontop Clín Int 2012;12(4):505-9.
14. Gebara ECE, Zardetto CGC, Mayer MPA. Estudo *in vitro* da ação antimicrobiana de substâncias naturais sobre *S. mutans* e *S. sobrinus*. Rev Odontol Univ São Paulo 1996;10(4):251-6.
15. Moreira ACA, Pereira MHQ, Porto MR, Rocha LAP, Nascimento BC, Andrade PM. Avaliação *in vitro* da atividade antimicrobiana de antissépticos bucais. Rev Ciênc Méd Biol 2009;8(2):153-61.
16. Aquino DR, Cortelli JR, Faria IS, Siqueira AF, Cortelli SC. Atividade antimicrobiana do triclosan sobre microbiota cariogênica. Rev Biociência 2004;10(12):79-86.

