

Atividade antimicrobiana de um novo biomaterial utilizado na remoção químico-mecânica da cárie

*Carolina Carvalho BORTOLETTO^a, Junia Carolina Linhares FERRARI^b,
Cristiane MOTISUKI^c, Denise Madalena Palomari SPOLIDORIO^d,
Lourdes dos SANTOS-PINTO^e*

^a*Aluna do curso de graduação, Faculdade de Odontologia,
UNESP, 14801-903 Araraquara - SP*

^b*Mestrando em Ciências Odontológicas, Área de Odontopediatria,
Faculdade de Odontologia, UNESP, 14801-903 Araraquara - SP*

^c*Doutorando em Ciências Odontológicas, Área de Odontopediatria,
Faculdade de Odontologia, UNESP, 14801-903 Araraquara - SP*

^d*Departamento de Fisiologia e Patologia, Faculdade de Odontologia, UNESP,
14801-903 Araraquara - SP*

^e*Departamento de Clínica Infantil, Faculdade de Odontologia, UNESP,
14801-903 Araraquara - SP*

Bortoletto CC, Ferrari JCL, Motisuki C, Spolidorio DMP, Santos-Pinto L. Antimicrobial activity of a new biomaterial used for chemomechanical caries removal. Rev Odontol UNESP. 2005; 34(4): 199-201.

Resumo: O objetivo deste trabalho foi avaliar, in vitro, a capacidade antimicrobiana do Papacárie[®], para *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus*, por meio da técnica de difusão em agar. Trezentos microlitros de *Streptococcus mutans* foram inseridos em 15 mL de meio de cultura BHI-ágar e dispensados em seis placas de Petri. O mesmo procedimento foi realizado para *Lactobacillus acidophilus*. Após endurecimento do meio, foram confeccionados seis poços por placa, sendo o material experimental inserido alternadamente com gel de gluconato de clorexidina a 1% (controle positivo). As placas foram mantidas à temperatura ambiente por duas horas para pré-difusão do material e posteriormente incubadas a 37°C por 24 horas em microaerofilia. Após esse período, o halo de inibição formado ao redor do poço foi medido com o auxílio de paquímetro digital. A análise dos dados obtidos revelou que o Papacárie[®] não apresentou propriedades antimicrobianas para *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus*.

Palavras-chave: *Streptococcus mutans; Lactobacillus acidophilus; papaina.*

Abstract: The aim of this in vitro study was to evaluate the antimicrobial potential of Papacárie[®], for *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus*, with the agar diffusion test. Three hundred microliters of *Streptococcus mutans* were introduced in 15 mL of BHI-ágar culture media and transferred to six Petri plates. The same procedure was done for *Lactobacillus acidophilus*. After the culture media set, six wells per plate were done and the experimental material was inserted alternately with 1% gluconate chlorhexidine gel (positive control). The plates were maintained at room temperature during two hours for pre-diffusion of the material, and then incubated at 37°C for 24 hours in candlejars. After this period, the inhibition halo formed around the wells was measured with a digital caliper. The data analysis revealed that Papacárie[®] did not present antimicrobial properties for *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus acidophilus*.

Keywords: *Streptococcus mutans; Lactobacillus acidophilus; papain.*

Introdução

Os *Streptococcus* e os *Lactobacillus* são os principais microrganismos da cavidade bucal responsáveis pelo desenvolvimento e pela progressão da lesão de cárie¹. Por esse motivo, é importante que, durante o tratamento dessa doença, um maior número dessas bactérias seja eliminado juntamente com o tecido dentário desestruturado e sem condições de reparo.

Um novo material, o Papacárie® (Fórmula e Ação, São Paulo, SP, Brasil), foi desenvolvido inicialmente com o propósito de atuar apenas na dentina cariada desorganizada, facilitando a sua remoção por meio de cureta sem corte. Esse produto apresenta-se na forma de gel, composto por papaína, cloramina, azul de toluidina, sais e espessante. Seus principais componentes ativos, a papaína e a cloramina, possuem propriedades bacteriostáticas, bactericidas e anti-inflamatórias²⁻⁵.

Supõe-se que, por conter substâncias antimicrobianas, o Papacárie® poderia auxiliar na redução de microrganismos cariogênicos durante a sua aplicação no tratamento das lesões de cárie. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar, in vitro, a capacidade antimicrobiana do Papacárie®, para *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus*, por meio da técnica de difusão em ágar.

Material e método

Para este estudo foram utilizadas suspensões bacterianas de *Streptococcus mutans* (ATCC 232434) e *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 232323), cultivadas a 37°C por 24 horas em microaerofilia, que apresentavam turvação semelhante à do tubo número três da escala de MacFarland. Trezentos microlitros de *Streptococcus mutans* foram inseridos em 15 mL de meio de cultura BHI-ágar (Bacto™, Difco, Laboratories, Detroit, MI, USA) e dispensados em seis placas de Petri (20 mm x 100 mm). O mesmo procedimento foi realizado para os *Lactobacillus acidophilus*. Após o endurecimento do meio, foram confeccionados seis poços por placa em pontos equidistantes, utilizando-se a extremidade de canudos plásticos com 4 mm de diâmetro. O material experimental foi inserido alternadamente com gel de gluconato de clorexidina a 1% (Farmácia Santa Paula, Araraquara, SP, Brasil) (controle positivo), com auxílio de uma seringa de insulina, em quantidade suficiente para preenchimento do poço. No centro de cada placa, foi colocado um disco de papel embebido em 25 µL de solução salina como controle negativo. As placas foram mantidas à temperatura ambiente por duas horas para pré-difusão do material e posteriormente incubadas a 37°C por 24 horas em microaerofilia. Após esse período, os halos de inibição formados ao redor dos poços foram medidos com o auxílio de paquímetro digital.

Os dados obtidos foram analisados por meio de estatística descritiva (SPSS Realease 10.0 Copyright Inc.).

Resultado

Para o material experimental não houve presença de halo inibitório em nenhum dos grupos, enquanto para o gel de clorexidina a 1% foi observada uma média de 17,74 mm ($\pm 0,45$) para *Streptococcus mutans* e de 19,91 mm ($\pm 0,85$) para *Lactobacillus acidophilus*.

Discussão

A capacidade antimicrobiana de um determinado material pode ser determinada, in vitro, pelo teste de difusão em ágar. Esse método é uma prova qualitativa adequada para estudar a sensibilidade das bactérias de crescimento rápido, sendo, por isso, utilizado em nosso estudo. O diâmetro do halo de inibição expressa a difusão do agente, determinando o poder antimicrobiano do material testado.

O Papacárie®, material empregado neste estudo, apresenta em sua composição a cloramina e a papaína, que são substâncias com propriedades antimicrobianas comprovadas¹⁻⁶. No entanto, na presente análise, não houve a formação de um halo inibitório ao redor do material experimental, fato que sugere um baixo poder de difusão do produto, o que dificultaria a sua ação sobre as bactérias ou simplesmente evidenciaria a ausência de propriedade bactericida do Papacárie®.

A cloramina é uma substância amplamente empregada em soluções anti-sépticas por causa de suas propriedades microbicidas. Russo et al.⁵, em 2003, utilizaram a combinação de cloramina 0,5% e álcool 50% na desinfecção da pele íntegra e observaram a eficácia da fórmula contra bactérias, patógenos virais e fungos clinicamente importantes. Pitten, Kramer³, em 1999, também verificaram a capacidade antimicrobiana da cloramina, que quando empregada em enxaguatórios bucais, exerceu um efeito forte e prolongado sobre a redução da contagem bacteriana da saliva. Apesar de não terem sido reveladas pelo fabricante a concentração e a porcentagem da cloramina presente no Papacárie®, os resultados obtidos demonstraram que ela não foi capaz de inibir o crescimento de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus*.

Outro componente do Papacárie®, a papaína, é uma enzima proteolítica extraída da casca do mamão verde caracterizada pela capacidade de digerir células mortas, atuando seletivamente sobre tecido necrótico⁷. Essa enzima é empregada na indústria alimentícia, em laboratórios de microbiologia, bioquímica e em medicina, onde é usada amplamente no processo de cicatrização de feridas e queimaduras de pele⁶.

A atividade antimicrobiana da papaína também vem sendo estudada. Ferreira et al.², em 1999, demonstraram que um gel contendo 0,4% da enzima apresentou ação bactericida sobre *S. mutans*. Rajashekhara et al.⁴, em 1990, observaram atividade inibitória de solução de papaína

em diferentes concentrações sobre *Staphylococcus albus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* e *Streptococcus faecalis*. No presente estudo, a concentração de papaína no gel Papacárie® não é conhecida e este produto não apresentou atividade antimicrobiana para os microrganismos empregados.

Assim, a ausência de atividade inibitória do Papacárie® sobre *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus*, apesar de apresentar em sua composição duas substâncias com propriedades antimicrobianas, pode ser devida ao fato de a concentração presente no produto ser muito baixa, não suficiente para exercer uma ação bactericida ou para promover uma possível interação da cloramina e da papaína, levando a uma inativação de suas propriedades. Outro fator que também poderia explicar os resultados obtidos seria a possibilidade de um baixo poder de difusão do produto, o que dificultaria a ação da cloramina e da papaína sobre as bactérias.

Conclusão

Pelos resultados apresentados por este trabalho, concluiu-se que o Papacárie® não apresentou propriedades antimicrobianas para *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus* de acordo com o teste realizado e que novas investigações devem ser realizadas para a comprovação da ação bactericida do produto.

Referências

1. Wolinsky LE. Caries and cariology. In: Nisengard RJ, Newman NG. Oral microbiology and immunology. Philadelphia: WB Saunders Company; 1994. p.341-359.
2. Ferreira CM, Bonifacio KC, Froner IC, Ito IY. Evaluation of the antimicrobial activity of three irrigating solutions in teeth with pulpal necrosis. Braz Dent J. 1999;10(1):15-21.
3. Pitten FA, Kramer A. Antimicrobial efficacy of antiseptic mouthrinse solutions. Eur J Clin Pharmacol. 1999; 55: 95-100.
4. Rajashekhara E, Tippannavar CM, Sreenivasa NN, Sharma JS. Inhibitory activity of papain on facultative pathogens. Zentral Mikrobiol. 1990; 145: 455-6.
5. Russo A, Viotti PL, Vitali M, Clementi M. Antimicrobial activity of a new intact skin antiseptis formulation. Am J Infect Control. 2003; 31: 117-23.
6. Starley IF, Mohammed P, Schneider G, Bickler SW. The treatment of paediatric burns using topical papaya. Burns. 1999; 25: 636-9.
7. Flindt M. Health and safety aspects of working with enzymes. Process Biochem. 1978; 13 (8):3-7.