

## ATIVIDADE DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA CONTRA A FORMAÇÃO DE BIOFILME DE *Streptococcus mutans* ATCC 700610 EM ESCOVAS DENTAIS

**Ariadne Silva Maciel**, graduanda em Farmácia, UEG/CET, [adnemaciel30@aluno.ueg.br](mailto:adnemaciel30@aluno.ueg.br)  
**Roseane Alves Barbosa**, graduada em Farmácia, UEG/CET, [roseanealvesbarbosa@hotmail.com](mailto:roseanealvesbarbosa@hotmail.com)  
**Maria José Barbaresco**, graduada em Farmácia, UEG/CET, [mariajbarbaresco@gmail.com](mailto:mariajbarbaresco@gmail.com)  
**Lorena Cristina da Mata**, mestranda CAPS, UEG/CET, [damatalc@gmail.com](mailto:damatalc@gmail.com)  
**Luciana Rebelo Guilherme**, professora, UEG/CET, [luciana.guilherme@ueg.br](mailto:luciana.guilherme@ueg.br)  
**Plínio Lázaro Faleiro Naves**, professor, UEG/CET, [plinionaves@ueg.br](mailto:plinionaves@ueg.br)

**Resumo:** As cáries são causadas por *Streptococcus mutans* associados a biofilmes aderidos às superfícies dentárias e representam um desafio para a manutenção da saúde bucal. Escovas dentais podem ser contaminadas durante o uso por vários micro-organismos. Contudo, a escovação pode ter sua eficácia reduzida por falhas nas técnicas de utilização e armazenamento. Nesse contexto, as nanopartículas de prata (AgNPs) surgem como uma alternativa promissora devido à possibilidade de impregnação e à sua ação bactericida. No presente estudo avaliamos a eficácia da AgNP-1 e AgNP-2 na inibição da adesão e na formação do biofilme de *S. mutans* ATCC 700610 em escovas dentais. A AgNP-1 foi mais eficaz na redução do número de bactérias aderidas. Apesar da atividade anti-biofilme de ambas nanopartículas de prata ter sido discreta, novos estudos sobre a otimização da formulação podem aumentar sua eficácia na impregnação em escovas dentais e contribuir com a manutenção da saúde bucal.

**Palavras-chave:** *Streptococcus mutans*; cárie dentária; nanopartículas de prata; biofilme bacteriano; antissépticos.

### INTRODUÇÃO

O equilíbrio nas funções do microbioma oral é crucial para a manutenção da saúde bucal. A higienização com escova e fio dental asseguram a limpeza de todas as superfícies dos dentes, controlando a formação de biofilmes que desencadeiam doenças periodontais e cáries (Menezes *et al.*, 2020).

A placa dentária e a cárie são formadas por biofilmes, destacando-se o *Streptococcus mutans* como principal agente etiológico (Bittencourt *et al.*, 2022). Biofilmes são comunidades microbianas envoltas por uma matriz extracelular constituída por polissacarídeos, proteínas e ácidos nucleicos que confere adesão, suporte estrutural, proteção, agregação intercelular e nutrição aos micro-organismos (Gao *et al.*, 2024).

Os *S. mutans* são cariogênicos, capazes de se aderir a superfícies sólidas, colonizar e sobreviver às condições ácidas da cavidade oral. Vários fatores têm papel significativo na produção de biofilme relacionado ao *S. mutans* como a ingestão e metabolismo de carboidratos, aciduricidade e acidogenicidade (Lemos *et al.*, 2018).

A escovação dentária, com técnica adequada, é eficaz na remoção do biofilme e na redução do crescimento microbiano, sendo essencial para a saúde bucal (Rode *et al.*, 2012; Menezes *et al.*, 2020). Entretanto, embora as escovas dentais sejam produzidas livres de micro-organismos, elas podem ser contaminadas durante o uso e armazenamento por diversas bactérias, leveduras e vírus da cavidade oral e do ambiente externo e podendo formar biofilmes (Chellappa *et al.*, 2021).

O uso de nanopartículas de prata tem sido utilizado como uma alternativa na prevenção da formação de biofilmes, como revestimentos antibacterianos em implantes dentários, curativos de feridas, implantes cardiovasculares, catéteres e implantes ortopédicos (Sousa *et al.*, 2022). Nesse contexto, o presente trabalho tem como objetivo avaliar a atividade de nanopartículas de prata (AgNPs) na formação de biofilme de *Streptococcus mutans* em escovas dentais.

## PROCEDIMENTOS DE TRABALHO

Alíquotas de *S. mutans* ATCC 700610 foram previamente reativadas em ágar CPS elite em jarra de microaerofilia incubada em estufa a 37 °C por 72 h. Após o crescimento, colônias foram dissolvidas em solução fisiológica estéril (SFE) e a densidade óptica ajustada com a escala 0,5 de McFarland. Em seguida, 1,5 mL do inóculo ajustado foi transferido para tubo Falcon com 13,5 mL de caldo infusão de cérebro e coração bovinos adicionado com 2% de sacarose (BHIS) com uma escova previamente esterilizada e após a homogeneização em vórtex por 30 segundos, 100 µL do caldo foram transferidos para Eppendorf com 900 µL de SFE e a amostra foi diluída e plaqueada para contagem do inóculo inicial. Em seguida os Falcon foram incubados para a realização dos ensaios com 1 h de incubação a temperatura ambiente (TA) para as amostras de adesão inicial e 48 h de incubação em estufa a 37 °C para a formação de biofilme maduro (Figura 1).

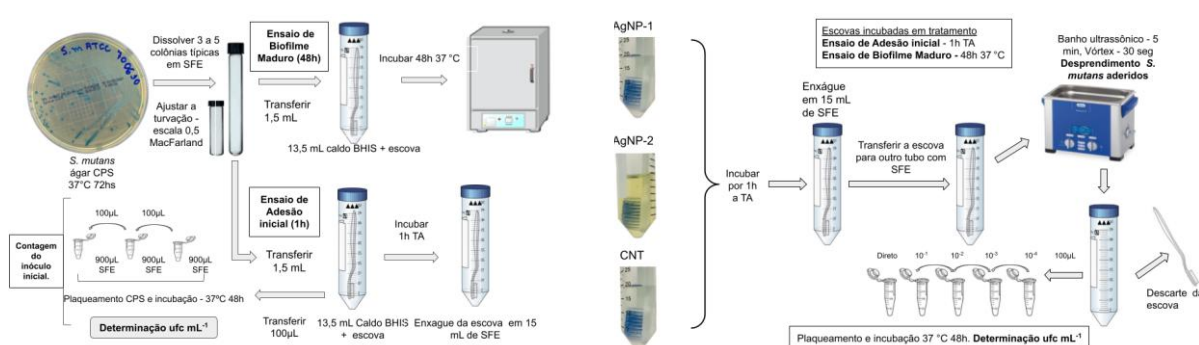


Figura 1: Processamento das escovas para a determinação das ufc mL<sup>-1</sup> dos *S. mutans* ATCC 700610 aderidos às escovas.

As nanopartículas AgNP-1 e AgNP-2 foram obtidas em um trabalho prévio da equipe (Barbaresco *et al.*, 2024). No tratamento as escovas foram enxaguadas em 15 mL de SFE para o desprendimento dos micro-organismos não aderidos e em seguida foram transferidas para tubo Falcon com os tratamentos AgNP-1, AgNP-2 com hidróxido de amônio e controle não tratado (CNT), foram mantidos por mais 1 hora imersas nos tubos com as nanopartículas. Foram submetidas ao enxágue em SFE e transferidas para tubo Falcon com 15 mL de SFE para serem submetidas ao banho ultrassônico 40 KHz por 5 minutos e agitação em vórtex por 30 segundos para o desprendimento das bactérias aderidas às escovas. Após o descarte das escovas, a suspensão bacteriana foi diluída com a transferência de 100  $\mu$ L para Eppendorf contendo 900  $\mu$ L de SFE. Foram feitas diluições até  $10^{-4}$ , as suspensões foram plaqueadas em ágar CPS e as placas foram incubadas em jarra de anaerobiose a 37 °C por 48 h para contagem das colônias e cálculo dos *S. mutans* aderidos às escovas. Os ensaios foram realizados em triplicatas independentes e os valores organizados como média e desvio padrão. As contagens dos micro-organismos foram comparadas com as nanopartículas e o controle não tratado.

## RESULTADOS

O inóculo inicial dos *S. mutans* ATCC 700610 foi quantificado em  $3,29 \times 10^6$  ufc mL<sup>-1</sup> e após a exposição às escovas dentais durante 1h a TA,  $2,18 \times 10^4$  ufc mL<sup>-1</sup> dos estreptococos se aderiram. As escovas incubadas a 37 °C para a formação de biofilme maduro durante 48 h apresentaram contagem de  $8,87 \times 10^6$  ufc mL<sup>-1</sup> de células viáveis associadas.

Na Tabela 1 são apresentados os resultados das contagens das bactérias viáveis inicialmente aderidas às escovas nas condições testadas.

Tabela 1: Contagem dos *S. mutans* ATCC 700610 aderidos nas escovas após 1 h de incubação a temperatura ambiente

| Escovas         | Aderência Inicial - 1h<br>(ufc mL <sup>-1</sup> ) |                        |
|-----------------|---------------------------------------------------|------------------------|
|                 | MED                                               | DP                     |
| Não impregnadas | <b>2,18 x 10<sup>4</sup></b>                      | 8,74 x 10 <sup>3</sup> |
| AgNP-1          | <b>9,07 x 10<sup>3</sup></b>                      | 2,72 x 10 <sup>3</sup> |
| AgNP-2          | <b>1,63 x 10<sup>4</sup></b>                      | 8,62 x 10 <sup>3</sup> |

Os números de células viáveis associadas ao biofilme maduro são mostrados na Tabela 2

Tabela 2: Contagem dos *S. mutans* ATCC 700610 associados aos biofilmes maduros nas escovas após 48h de incubação.

| Escovas         | Biofilme maduro - 48h<br>(ufc mL <sup>-1</sup> ) |                        |
|-----------------|--------------------------------------------------|------------------------|
|                 | MED                                              | DP                     |
| Não impregnadas | <b>8,87 x 10<sup>6</sup></b>                     | 9,02 x 10 <sup>5</sup> |
| AgNP-1          | <b>1,07 x 10<sup>6</sup></b>                     | 3,92 x 10 <sup>5</sup> |
| AgNP-2          | <b>1,13x10<sup>6</sup></b>                       | 5,41 x 10 <sup>5</sup> |

### DISCUSSÃO

As nanopartículas de prata reduziram a aderência inicial dos *S. mutans* nas escovas dentais. A AgNP-1 foi a mais eficiente, reduzindo em 58,4% o número de bactérias viáveis e pode representar uma interessante estratégia para a impregnação comercial de escovas.

As nanopartículas de prata podem reduzir a adesão de biofilmes e melhorar a entrega de agentes antimicrobianos. As nanopartículas podem interferir nos mecanismos de comunicação bacteriana (*quorum sensing*), essenciais para a formação e manutenção de biofilmes, interferindo na formação inicial de biofilmes (Zhao *et al.*, 2023).

Em um trabalho prévio, as AgNPs inibiram significativamente a adesão bacteriana e a capacidade de crescimento e adesão dos *S. mutans* nas superfícies de braquetes ortodônticos, com reduções superiores a 98% em todos os cenários testados, com a eficiência superior à obtida em nosso estudo (Nafarrate-Valdez *et al.*, 2022).

Por outro lado, a AgNP-2 não reduziu a adesão inicial dos *S. mutans* em nosso estudo. As interações entre as nanopartículas de prata e os micro-organismos dependem de suas características físico-químicas, como tamanho hidrodinâmico, carga de superfície, agregação e disponibilidade de taxa de liberação de prata iônica (Vazquez-Muñoz *et al.*, 2020).

As AgNP-1 e AgNP-2 apresentaram diferentes propriedades físico-químicas, tais como tamanho e índice de polidispersão. A AgNP-1 mede 7,11 nm e é polidispersa, enquanto a AgNP-2, sintetizada com hidróxido de amônio, mede 11,40 nm e é monodispersa. As características diferenciais entre as AgNPs podem ter influenciado no desempenho tanto na aderência inicial quanto no biofilme maduro (Barbaresco *et al.*, 2024).

Em relação à atividade antibiofilme, ambas nanopartículas apresentaram resultados semelhantes e não foram capazes de inibir as bactérias viáveis associadas ao biofilme de maneira significativa quando comparadas ao controle não tratado. Em outro estudo realizado com nanopartículas de prata derivadas de placa de titânio, a prata não apresentou atividade

antibiofilme significativa apesar da atividade antibacteriana. Esse resultado pode ser explicado pela presença de polissacarídeos extracelulares do biofilme que podem ter diminuído a disponibilidade da nanopartícula para atingir o seu efeito anti-biofilme (Salai *et al.*, 2023).

## CONCLUSÕES

Concluimos que, embora as AgNPs apresentam potencial antibacteriano, sua eficácia na prevenção do biofilme precisa ser melhor investigada. Estudos futuros devem explorar modificações na formulação das nanopartículas para otimizar sua ação e avaliar possíveis impactos na microbiota oral e na segurança a longo prazo. Assim, esta pesquisa contribui para o avanço no uso de nanopartículas na odontologia, abrindo caminho para novas estratégias antimicrobianas mais eficazes.

## REFERÊNCIAS

BARBARESCO, M. J. **Impacto das nanopartículas de prata na formação de biofilmes de *Candida sp.* e *Streptococcus mutans* isolados da cavidade bucal**. 2024. 128 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Aplicadas a Produtos para a Saúde) – Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, 2024.

BITTENCOURT, P. F. S.; BARBOSA, C. B.; DAMÉ-TEIXEIRA, N. *Streptococcus mutans* e seu metabolismo a nível molecular no contexto ecológico da doença cárie. **Revista da Faculdade de Odontologia de Porto Alegre**, v. 63, n. 1, p. 106–120, 2022. Acesso em: 02 abr. 2025.

CHELLAPPA, L. R. *et al.* Effectiveness of alternate methods of toothbrush disinfection: a systematic review. **Journal of Research in Medical and Dental Science**, v. 9, n. 1, p. 260–266, 2021.

GAO, Z. *et al.* New strategies and mechanisms for targeting *Streptococcus mutans* biofilm formation to prevent dental caries: a review. **Microbiological Research**, v. 278, p. 127526, 2024. Disponível em: <<https://doi.org/10.1016/j.micres.2023.127526>>. Acesso em: 04 abr. 2025.

LE MOS, J. A. *et al.* The biology of *Streptococcus mutans*. **Microbiology Spectrum**, v. 7, n. 1, p. e0051-2018, 2019. Disponível em: <<https://doi.org/10.1128/microbiolspec.gpp3-0051-2018>>. Acesso em: 18 abr. 2024.

MENEZES, M. L. F. V. *et al.* A importância do controle do biofilme dentário: uma revisão da literatura. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, n. 55, p. e3698, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.25248/reas.e3698.2020>>. Acesso em: 02 abr. 2025.

MORE, P. R. *et al.* Silver nanoparticles: bactericidal and mechanistic approach against drug resistant pathogens. **Microorganisms**, v. 11, n. 2, p. 369, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/microorganisms11020369>>. Acesso em: 04 abr. 2025.

NAFARRATE-VALDEZ, R. A. *et al.* Anti-Adherence and Antimicrobial Activities of Silver Nanoparticles against Serotypes C and K of *Streptococcus mutans* on Orthodontic Appliances. **Medicina**, v. 58, n. 7, p. 877, 2022. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/medicina58070877>>. Acesso em: 04 abr. 2025.

RODE, S. M. *et al.* Daily biofilm control and oral health: consensus on the epidemiological challenge – Latin American Advisory Panel. **Brazilian Oral Research**, v. 26, n. 1, p. 133–143, 2012. Disponível em: <<https://doi.org/10.1590/S1806-83242012000700020>> Acesso em: 04 abr. 2025.

SALAI, R. N. *et al.* Antibacterial activity of dissolved silver fractions released from silver-coated titanium dental implant abutments: a study on *Streptococcus mutans* biofilm formation. **Antibiotics (Basel)**, v. 12, n. 7, p. 1097, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.3390/antibiotics12071097>>. Acesso em: 03 abr. 2025.

SOUZA, A. *et al.* Nanopartículas de prata. **Revista Ciência Elementar**, v. 10, n. 3, p. 040, 2022. Disponível em: <<http://doi.org/10.24927/rce2022.040>>. Acesso em: 02 abr. 2025.

VAZQUEZ-MUÑOZ, R.; BOGDANCHIKOVA, N.; HUERTA SAQUERO, A. Beyond the nanomaterials approach: influence of culture conditions on the stability and antimicrobial activity of silver nanoparticles. **ACS Omega**, v. 5, p. 28441–28451, 2020. Disponível em: <<https://doi.org/10.1021/acsomega.0c02007>>. Acesso em: 04 abr. 2025.

ZHAO, A.; SUN, J.; LIU, Y. Understanding bacterial biofilms: from definition to treatment strategies. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 13, p. 1137947, 2023. Disponível em: <<https://doi.org/10.3389/fcimb.2023.1137947>>. Acesso em: 04 abr. 2025.