

**U. PORTO**



**FACULDADE DE  
MEDICINA DENTÁRIA  
UNIVERSIDADE DO PORTO**

Mestrado Integrado em Medicina Dentária  
Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto

MONOGRAFIA DE INVESTIGAÇÃO

**Atividade de soluções comerciais de diaminaflureto de  
prata contra agentes patogénicos da cavidade oral**

*Activity of commercial solutions of silver diamine fluoride against pathogens of  
the oral cavity*

**FILIPA ALEXANDRA GONÇALVES FERNANDES**

up201806026@edu.fmd.up.pt

Porto

Maio, 2023



Mestrado Integrado em Medicina Dentária  
Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto  
MONOGRAFIA DE INVESTIGAÇÃO

**Atividade de soluções comerciais de  
diaminofluoreto de prata contra agentes patogénicos da  
cavidade oral**

*Activity of commercial solutions of silver diamine fluoride against pathogens of  
the oral cavity*

**ESTUDANTE:**

Nome Completo: Filipa Alexandra Gonçalves Fernandes  
Nº de Estudante: 201806026  
Correio eletrónico: up201806026@edu.fmd.up.pt

**ORIENTADORA:**

Nome Completo: Liliana do Carmo dos Santos Grenho  
Grau Académico: Doutoramento  
Título Profissional: Professora Auxiliar Convidada da Faculdade de Medicina  
Dentária da Universidade do Porto

**COORIENTADORA:**

Nome Completo: Maria Helena Fernandes  
Grau Académico: Doutoramento  
Título Profissional: Professora Catedrática da Faculdade de Medicina Dentária  
da Universidade do Porto



“Acho que nada acontece por acaso, sabes? Que no fundo as coisas têm o seu plano secreto, embora nós não o entendamos. Tudo faz parte de qualquer coisa que não conseguimos perceber, mas que nos possui.”

Carlos Ruiz Zafón



## **AGRADECIMENTOS**

À minha orientadora, Liliana Grenho, por ter aceite trabalhar comigo, por toda a paciência e dedicação, mesmo quando eu entrei em pânico e enviei múltiplos e-mails. Não fazia sentido concluir o meu mestrado sem ter a professora Liliana a alinhar neste projeto ao qual nos dedicamos inteiramente.

À minha coorientadora, Maria Helena Fernandes, a quem eu admiro, tanto a nível profissional como a nível pessoal, pelo seu carisma, amor pela área, empenho e força diária.

À minha mãe adotiva no sentido mais carinhoso da palavra, que me viu chorar, deu-me a mão para continuar a caminhar e fez da sua família também minha. És um exemplo de vida para mim, a minha luz.

Aos meus sobrinhos de coração, Inês, Sofia e Duarte que sempre me fazem rir e sorrir, dão os melhores abraços e procuram o meu colo para dormir. Não sou só eu que vos dou carinho, vocês também me dão. Eu amo-vos profundamente.

Ao meu tio Neiva, por todos os douradinhos no forno e conversas no carro, varanda ou na areia da praia de Faro. A ti que me lês só de olhar para mim, que entendes o meu coração apertado e que me consegues acalmar. Por todos os desafios que me viste a ultrapassar e por todas as palavras e conselhos que me deste, por acreditares sempre em mim. É graças a ti que o dia de hoje acontece.

À Rafa, a minha maninha mais nova, gostava de escrever o orgulho que tenho em ti e agradecer-te por estares sempre ao meu lado, ajudares-me fisicamente e mentalmente, quer com o fazer o jantar, quer com o facto de veres vídeos de cães a cair e dançares comigo nos dias em que estou mais triste. Já são 21 anos na vida uma da outra e eu não sei viver sem ti (nem quero).

Aos meus pais, patrocinadores oficiais das minhas loucuras e que, por algum motivo desconhecido, acreditaram em mim e em todos os meus planos, por mais rebuscados que fossem. Obrigada por me terem ajudado a crescer, educado e protegido para ser a Filipa que sou hoje.

Aos meus padrinhos de batismo por terem confirmado por mim de que iria viver imersa na fé de Deus, que cumpriram o seu papel e sempre, mas sempre, me deram a mão para caminhar neste caminho irregular.

Ao meu melhor amigo Luís, por toda a cura, energia e partilha naqueles momentos que são só nossos.

À minha melhor amiga Cláudia, desde o berço, e à sua família que sempre acreditou genuinamente em mim e nos meus objetivos. Não tenho palavras para vocês.

Às minhas chefes, Quica e Sílvia, por todas as vezes que me ouviram falar sobre a faculdade, por todas as vezes que me viram a ir trabalhar só com 2h de sono e que ficam tão ou mais felizes por mim quando os meus resultados são positivos. Vocês foram as minhas primeiras chefes, as que acreditaram em mim e me deixaram fazer das vossas empresas também família.

A todas as minhas alunas do Pointe, por todos os desenhos, abraços, gargalhadas, por todos os colos que me pediram, por me terem permitido ajudar-vos a crescer e ensinar-vos a dançar. Pointe é mais do que um trabalho, é uma família, o local onde voltei a dançar e fiz amizades para a vida toda.

Às minhas fadas madrinhas, Ana Sofia e Cátia, que estão sempre presentes 24h por dia, 7 dias por semana, que me conheceram com todos os sonhos do mundo e acreditaram que eu os ia alcançar, mesmo quando perdi o rumo. São o meu apoio ao cliente.

À Sara, a minha companheira, partner da dança e do gym, por todas as conversas, mensagens, desabafos, karaokes. És a prova que há amigas que não são desde sempre, mas que são para sempre.

À Rosa, que me mostrou que as coisas boas chegam e chegam no tempo certo, por todas as palavras de incentivo e de força.

Aos afilhados, Ana, Catarina, Francisca, Inês, Isabel, Joana e João Henrique que me escolheram para ser a pessoa que os ia guiar na vida académica, mas, na verdade, foram vocês que me guiaram.

À Rute, à Isabel, à Chanel, à minha Maria fotografia, à minha Martinha, à minha Ana, adoro-vos imensamente.



## RESUMO

**Introdução:** O diaminofluoreto de prata (SDF), de fórmula química  $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ , é uma solução alcalina e incolor composta por flúor e iões de prata, que formam um complexo com a amônia. O uso de soluções SDF tem uma longa história na Medicina Dentária no tratamento da hipersensibilidade e no controlo da cárie dentária. Existem numerosos estudos que avaliaram a eficácia anticariogénica de diferentes produtos comerciais à base de SDF. No entanto, o uso de diferentes configurações experimentais torna difícil comparar a eficácia dos mesmos. Além disso, poucos estudos avaliaram o potencial desses produtos na atividade antimicrobiana de outros patogénicos orais, para além do *Streptococcus mutans*, como por exemplo o *Enterococcus faecalis* e a *Candida albicans*.

**Objetivos:** O objetivo deste estudo é avaliar e comparar a atividade antimicrobiana de quatro marcas comerciais diferentes de SDF contra os microrganismos, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans* e *Candida albicans*.

**Metodologia:** Os produtos comerciais (*i.e.*, Carioestop<sup>®</sup> 30%, Carioestop<sup>®</sup> 12%, Advantage Arrest<sup>®</sup> e RivaStar<sup>®</sup>), na sua forma pura, foram incubados com os microrganismos pelo teste de difusão em agar. Após 24 h de incubação, determinou-se o diâmetro dos halos de inibição. Adicionalmente, biofilmes de 24 horas para *E. faecalis* e *C. albicans* e 48 horas para *S. mutans* foram expostos a soluções diluídas dos produtos comerciais (*i.e.*, 3, 1 e 0.3%). Após 24 horas de exposição, fez-se a quantificação da população séssil remanescente através do número de bactérias cultiváveis.

**Resultados:** Pelo método de difusão em agar, o composto RivaStar<sup>®</sup> mostrou ter maior atividade antimicrobiana para o *S. mutans*, enquanto os compostos Advantage Arrest<sup>®</sup> e Carioestop<sup>®</sup> 30% tiveram maior efeito na levedura. O biofilme de *E. faecalis* diminui com o aumento da concentração de SDF testada, independentemente da marca comercial utilizada. O biofilme de *C. albicans* foi eliminado na sua totalidade com Carioestop<sup>®</sup> 30%, Advantage Arrest<sup>®</sup> e RivaStar<sup>®</sup>, a uma concentração de 3%. O biofilme de *S. mutans* foi eliminado na sua totalidade, mas este resultado carece de confirmação.

**Conclusões:** Os produtos à base de SDF têm potencial para serem mais estudados de forma a expandir as suas aplicações clínicas na prática Médico-Dentária.

**Palavras-chave:** SDF; *Enterococcus faecalis*; *Streptococcus mutans*; *Candida albicans*; Atividade antimicrobiana; Biofilme.

## ABSTRACT

**Introduction:** Silver diamine fluoride (SDF), with the chemical formula  $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ , is an alkaline, colorless solution composed of fluoride and silver ions, which form a complex with ammonia. SDF solutions have a long history in dentistry to treat hypersensitivity and caries control. Numerous studies have evaluated the anti-cariogenic efficacy of different commercial SDF-based products; however, the use of different experimental setups makes it challenging to compare the efficacy of these products. Additionally, few studies have evaluated the potential of these products to be active against other oral pathogens, in addition to *Streptococcus mutans*, such as *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*.

**Objectives:** The main objective of this study is to evaluate and compare the antimicrobial activity of four different commercial brands of SDF against *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans*, and *Candida albicans*.

**Methodology:** The commercial products (*i.e.*, Carioestop<sup>®</sup> 30%, Carioestop<sup>®</sup> 12%, Advantage Arrest<sup>®</sup> e RivaStar<sup>®</sup>), in their pure form, were incubated with the microorganisms by the agar diffusion test. After 24 h of incubation, the diameter of the inhibition areas was determined. Additionally, 24-h biofilms of *E. faecalis* and *C. albicans* and 48-h of *S. mutans* were exposed to diluted solutions of the commercial products (*i.e.*, 3, 1, and 0,3%). After 24 hours of exposure, the remaining sessile population was quantified through the number of cultivable bacteria.

**Results:** By the agar diffusion method, RivaStar<sup>®</sup> was shown to have greater antimicrobial activity for *S. mutans*, while Advantage Arrest<sup>®</sup> and Carioestop<sup>®</sup> 30% had a greater effect on *C. albicans*. *E. faecalis* biofilm decreased with increasing SDF concentration, regardless of the commercial brand used. *C. albicans* biofilm was completely eliminated with Carioestop<sup>®</sup> 30%, Advantage Arrest<sup>®</sup> and RivaStar<sup>®</sup> at a concentration of 3%. *S. mutans* biofilm was completely eliminated, with all concentrations addressed, but this result needs to be further confirmed.

**Conclusions:** SDF-based products have the potential to be further studied in order to expand their clinical applications in dental practice.

**Keywords:** SDF; *Enterococcus faecalis*; *Streptococcus mutans*; *Candida albicans*; Antimicrobial activity; Biofilm

# ÍNDICE

<b>RESUMO .....</b>	<b>IX</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>XI</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS .....</b>	<b>XV</b>
<b>ÍNDICE DE TABELAS .....</b>	<b>XVI</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Formação da placa dentária .....</b>	<b>1</b>
<b>1.2. Cárie dentária.....</b>	<b>2</b>
<b>1.3. Tratamento da cárie .....</b>	<b>3</b>
<b>1.4. SDF .....</b>	<b>5</b>
1.4.1. Mecanismos de ação .....	5
1.4.2. Vantagens .....	6
1.4.3. Desvantagens .....	6
1.4.4. Outras aplicações clínicas .....	7
<b>2. MATERIAIS E MÉTODOS.....</b>	<b>8</b>
<b>2.1. Produtos comerciais com SDF .....</b>	<b>8</b>
<b>2.2. Microrganismos e condições de cultura.....</b>	<b>9</b>
<b>2.3. Avaliação da atividade antimicrobiana pelo método de difusão em agar...9</b>	
<b>2.4. Avaliação da atividade antimicrobiana do SDF na eliminação do biofilme de <i>E. faecalis</i>, <i>S. mutans</i> e <i>C. albicans</i>.....</b>	<b>9</b>
2.4.1. Formação do biofilme.....	9
2.4.2. Adição dos produtos comerciais com SDF.....	10
Quantificação da população séssil .....	10
<b>2.5. Análise estatística.....</b>	<b>11</b>
<b>3. RESULTADOS.....</b>	<b>12</b>
<b>3.1. Atividade antimicrobiana pelo método de difusão em agar .....</b>	<b>12</b>

3.2. Atividade do SDF na eliminação do biofilme de <i>E. faecalis</i> , <i>S. mutans</i> e <i>C. albicans</i> .....	14
4. <b>DISCUSSÃO</b> .....	16
5. <b>CONCLUSÃO</b> .....	19
6. <b>REFERÊNCIAS</b> .....	20
<b>ANEXOS</b> .....	24
<b>DECLARAÇÃO DE AUTORIA</b> .....	25
<b>PARECER DO ORIENTADOR</b> .....	26
<b>PARECER DO COORIENTADOR</b> .....	27
<b>DECLARAÇÃO</b> .....	28

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - White spot lesion na superfície do esmalte dentário (adaptado de <sup>(11)</sup> ).....	2
Figura 2 - Lesões de cárie num estado avançado, localizadas no cervical da coroa do dente (adaptado de <sup>(12)</sup> ). ....	3
Figura 3 - Presença de uma lesão de cárie secundária na transição entre dois materiais restauradores (obtida em <a href="http://luisgustavoleite.com.br/blog/restauracao-infiltrada-com-infiltracao/">http://luisgustavoleite.com.br/blog/restauracao-infiltrada-com-infiltracao/</a> , consultado a 21/05/23, sem autorização do autor).....	4
Figura 4 – Produtos comerciais utilizados no estudo: a) Carioestop® 30%, b) Carioestop® 12%, c) Advantage Arrest®, e d) RivaStar® .....	8
Figura 5 - Eppendorfs com os produtos comerciais utilizados e diluídos à concentração de 3%, 1% e 0,3%. ....	10
Figura 6 - Placa de 96 poços com as diluições da população séssil destacada, para cada condição experimental. ....	11
Figura 7 - Registo fotográfico dos halos de inibição obtidos após exposição do <i>E. faecalis</i> , <i>S. mutans</i> e <i>C. albicans</i> aos produtos comerciais contendo SDF, pelo método de difusão em agar. As soluções de CHX foram utilizados como controlo.....	13
Figura 8 - Avaliação do efeito das soluções diluídas dos produtos comerciais contendo SDF na eliminação de um biofilme de 24 h de <i>E. faecalis</i> (*p<0,05, comparativamente ao controlo - linha pontilhada). ....	14
Figura 9 - Avaliação do efeito das soluções diluídas dos produtos comerciais contendo SDF na eliminação de um biofilme de 24 h de <i>C. albicans</i> (*p<0,05, comparativamente ao controlo - linha pontilhada). ....	15

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Produtos comerciais que contém SDF utilizados no estudo e as respectivas composições, lote e fabricante..... 8

Tabela 2 - Diâmetro das zonas de inibição para os microrganismos estudados..... 12



## 1. INTRODUÇÃO

A saúde oral integra a saúde geral do indivíduo. As doenças orais consistem nas doenças não transmissíveis mais disseminadas e afetam 45% da população mundial, ao longo de toda a sua vida. Todas as doenças orais são de natureza crónica, progressiva e cumulativa e, combinadas com a sua alta prevalência, os seus impactos são vivenciados de forma repetida. <sup>(1)</sup>

Considerando os dados epidemiológicos presentes no Programa Nacional de Promoção da Saúde Oral, publicado em 2019 pela Direção-Geral da Saúde, em Portugal, a cárie dentária é a doença oral mais prevalente, podendo atingir quase 100% da população adulta. <sup>(2)</sup>

### 1.1. Formação da placa dentária

A cavidade oral é um ecossistema diverso e dinâmico, que possui uma numerosa população de microrganismos. É considerado o segundo microbioma mais complexo do corpo humano. <sup>(3)</sup>

Os microrganismos que constituem a placa bacteriana, onde se incluem as espécies *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus mutans* e *Candida albicans*, têm a capacidade de, quando aderidos a uma superfície, produzir uma matriz composta por polissacarídeos, proteínas e restos celulares, com característica viscosa, que favorece a fixação dos microrganismos à superfície do esmalte, bem como o processo de agregação e coesão microbiana. Esta estrutura é designada de biofilme. No interior do biofilme os microrganismos estão protegidos do sistema imunitário bem como de agentes antimicrobianos. <sup>(4)</sup>

Uma vez instalados, os microrganismos desenvolvem a sua atividade metabólica normal, utilizando restos alimentares presentes na cavidade oral. Os subprodutos do seu metabolismo são ácidos que atacam a superfície dentária, nomeadamente o esmalte. <sup>(5)</sup>

## 1.2. Cárie dentária

A cárie dentária é uma doença oral altamente prevalente que tem a bactéria *S. mutans* como um dos principais agentes etiológicos causadores desta patologia. <sup>(6)</sup>

A cárie dentária afeta os dentes, tanto ao nível da coroa (cárie coronária) como ao nível da raiz (cárie radicular), e o seu desenvolvimento depende da coexistência do biofilme microbiano formado na superfície dentária, da presença de hidratos de carbono, da composição da saliva e da genética do indivíduo. Estes fatores interagem de forma complexa, ao longo do tempo. <sup>(7)</sup>

Os subprodutos ácidos do metabolismo dos microrganismos presentes na placa bacteriana, desencadeiam um conjunto de interações químicas com os minerais do esmalte, conduzindo ao seu enfraquecimento. <sup>(8)</sup>

Quando o esmalte começa a desmineralizar, isto é, quando se inicia o processo de dissolução dos seus minerais (principalmente do cálcio e do fosfato), é possível visualizar a presença de manchas brancas (*white spot lesions*) (Fig. 1). Este é um indício de que se está a iniciar a formação de uma lesão cáriosa. Se a desmineralização persistir e não for tratada, as *white spot lesions* evoluem para cavidades dentárias, devido à permanência do ataque ácido ao esmalte (Fig. 2). <sup>(9,10)</sup>



Figura 1 - *White spot lesion* na superfície do esmalte dentário (adaptado de (11)).



Figura 2 - Lesões de cárie num estado avançado, localizadas no cervical da coroa do dente (adaptado de (12)).

### 1.3. Tratamento da cárie

O tratamento da cárie dentária pode realizar-se recorrendo a tratamentos restauradores ou não restauradores. Os tratamentos não restauradores são aplicados numa fase inicial da doença, perante, por exemplo, uma *white spot lesion*. É uma terapêutica que se foca no tratamento da lesão cariosa na sua fase inicial através da aplicação tópica de compostos fluoretados que induzem o processo de remineralização do esmalte. A aplicação de flúor, para além de modificar o metabolismo das bactérias produtoras de ácido, através da inibição de processos enzimáticos, promove a formação de cristais de fluorapatite, que são mais estáveis à ação dos ácidos bacterianos. <sup>(10,13,14)</sup>

Quando o tratamento não restaurador não é suficiente para travar a progressão da doença (ou já não estão reunidas as condições para a sua aplicação), a alternativa passa por um tratamento restaurador. Este tratamento foca-se na remoção mecânica da lesão cariosa e posterior restauração com um biomaterial adequado à situação clínica. <sup>(15)</sup>

Na Medicina Dentária, ainda não existe um material restaurador que reúna todas as condições necessárias. O material de eleição universal é aquele que seria capaz de tratar a cárie de forma permanente. <sup>(16)</sup>

Assim, uma das principais dificuldades perante o sucesso de um tratamento de cárie é evitar a recidiva da lesão previamente tratada, isto é, evitar o desenvolvimento de uma cárie secundária. <sup>(17)</sup>

A cárie secundária é um processo complexo que envolve múltiplos fatores, pois para além de envolver a desmineralização do esmalte, envolve, também, a dissolução enzimática do componente orgânico do material restaurador existente. Pode ter como causa a existência de uma restauração defeituosa, traduzindo-se na existência de lacunas entre a restauração e o dente, o que permite aos fluídos ácidos e ao biofilme entrarem na interface existente (Fig. 3). <sup>(18)</sup>

Desta forma, a principal dificuldade nos materiais restauradores é eliminar os fatores que promovam o aparecimento de uma lesão de cárie secundária. <sup>(16)</sup>

A chegada de novos produtos ao mercado ou mesmo a criação de novas abordagens clínicas e preventivas são uma mais valia no controlo e na prevenção desta doença.



*Figura 3 - Presença de uma lesão de cárie secundária na transição entre dois materiais restauradores (obtida em <http://luisgustavoleite.com.br/blog/restauracao-infiltrada-com-infiltracao/>, consultado a 21/05/23, sem autorização do autor).*

Dado este facto, é necessário o contínuo estudo de novas soluções antimicrobianas para diminuir o risco de insucesso do tratamento e aumentar a longevidade dentária.

#### **1.4. SDF**

O diaminofluoreto de prata (*silver diamine fluoride*, SDF), com a fórmula química  $\text{Ag}(\text{NH}_3)_2\text{F}$ , é uma solução alcalina e incolor composta por iões de flúor e prata, que formam um complexo com a amónia. <sup>(19)</sup> O uso de soluções à base de SDF tem um longo histórico na Medicina Dentária no tratamento da hipersensibilidade e no controlo da cárie. <sup>(20)</sup> Contudo, apenas em 2014, a agência americana *Food and Drug Administration* aprovou o primeiro produto à base de SDF para o tratamento da sensibilidade dentária, sendo o seu uso no controlo da cárie uma aplicação *off-label*. <sup>(21–23)</sup>

Atualmente, o SDF encontra-se na Lista de Medicamentos Essenciais da Organização Mundial da Saúde. <sup>(24)</sup>

Alguns estudos *in vivo* e *in vitro* indicam que o SDF pode apresentar uma ação cariostática e bactericida, isto é, promove a inativação das lesões de cárie e induz a morte bacteriana. A ação cariostática está ao encargo do flúor enquanto a ação bactericida da prata. <sup>(15)</sup> A combinação destas duas ações permite evitar o desenvolvimento de lesões cariosas e tratar lesões de cárie ativas sem recorrer a procedimentos invasivos. Desta forma, o SDF é um composto que tanto pode ser usado na fase de prevenção como na fase de tratamento.

##### **1.4.1. Mecanismos de ação**

A forte atividade antimicrobiana do SDF contra biofilmes, compostos por uma ou mais espécies cariogénicas, é atribuída à presença dos iões de prata. <sup>(25)</sup>

Ao nível molecular, os iões de prata interferem com as proteínas e o DNA microbiano, inibindo os processos respiratórios, interrompendo o potencial

elétrico da membrana plasmática, a síntese da parede celular e a divisão celular, o que inevitavelmente conduz à morte dos microrganismos. <sup>(19)</sup>

Adicionalmente à atividade antimicrobiana, a aplicação do SDF na superfície dentária promove o processo de remineralização, pois o flúor presente neste composto reage com a hidroxiapatita formando fluoreto de cálcio que ajuda na elevação do pH e na formação de reservatórios de fluoreto. A subsequente dissolução do fluoreto de cálcio facilita a formação de fluorapatite insolúvel.<sup>(19)</sup>

O processo de remineralização reduz ainda a sensibilidade dentária ao produzir uma camada sobre a dentina exposta, obstruindo parcialmente os túbulos dentinários, devido à deposição de prata no seu interior, conduzindo à diminuição do deslocamento dos fluidos dentinários <sup>(19)</sup>.

#### **1.4.2. Vantagens**

O SDF apresenta um conjunto de vantagens adicionais que favorecem o seu uso na prática clínica, nomeadamente: (i) baixo custo, quando comparado com outros produtos existentes no mercado, tornando-o acessível na maioria das comunidades; (ii) fácil aplicação – particularmente importante para o uso em crianças de pouca idade/pacientes com necessidades especiais ou em condições de trabalho limitadas, (iii) elevada eficácia – a aplicação única do produto reduz a acidogénese e o número dos microrganismos da dentina cariada; e apresenta (iv) ação residual até 6 meses.<sup>(15)</sup>

#### **1.4.3. Desvantagens**

Em contrapartida, apresenta como desvantagens: (i) escurecimento da lesão de cárie, condicionando a sua aplicação em dentes anteriores; (ii) sabor metálico desagradável; (iii) possibilidade de irritação pulpar; (iv) lesões reversíveis na mucosa oral (gengivite descamativa ou mucosite); e (v) não poder ser administrado em doentes com alergia à prata, em grávidas nem em mulheres que estejam em processo de amamentação. <sup>(15)</sup>

#### 1.4.4. Outras aplicações clínicas

*C. albicans* é um fungo patogénico oportunista causador de infeções fúngicas, tanto sistémicas como locais. A prevalência deste fungo como oportunista é maior em doentes portadores de dispositivos protéticos. Estudos realizados mostram que os iões de prata conseguem interromper o potencial da membrana, formando poros que provocam desequilíbrio nas trocas iónicas, conduzindo à apoptose. <sup>(26)</sup> Uma vez que o SDF possui iões de prata na sua composição, pode ser passível o estudo da sua utilização como desinfetante de dispositivos protéticos, reduzindo a incidência das infeções fúngicas.

A lesão cariosa (tanto primária como secundária) pode invadir o tecido pulpar e tornar-se numa lesão irreversível. Nesta situação, é necessário avançar para um tratamento endodôntico radicular que implica a desinfeção dos canais radiculares para posterior obturação. <sup>(15)</sup> Perante uma infeção canal, a bactéria patogénica prevalente é o *E. faecalis* e o sucesso do tratamento passa pela sua eliminação. <sup>(27)</sup> Uma das principais consequências do insucesso do tratamento endodôntico passa pela capacidade do *E. faecalis* sobreviver, após o tratamento primário, proliferar e recolonizar os canais. A taxa de insucesso aumenta com o aumento da resistência da bactéria aos agentes de irrigação. <sup>(28,29)</sup> Conhecendo as propriedades antibacterianas do SDF, poderá ser um potencial agente irrigador canal.

A rapidez com que os microrganismos sofrem mutações, confere-lhe resistência aos fármacos utilizados contra a sua atividade, o que exige estudos constantes e desenvolvimento de novos agentes antimicrobianos. <sup>(30)</sup> Atualmente, poucos estudos avaliam o potencial destes produtos contra outros agentes patogénicos da cavidade oral.

Neste sentido, esta investigação tem como objetivo avaliar e comparar a atividade antimicrobiana de diferentes produtos comerciais contendo SDF na sua composição, contra diferentes agentes patogénicos da cavidade oral, nomeadamente *Streptococcus mutans*, *Enterococcus faecalis* e *Candida albicans*.

## 2. MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1. Produtos comerciais com SDF

Neste estudo foram utilizados quatro produtos comerciais que contêm SDF na sua composição nomeadamente, Carioestop® 30%, Carioestop® 12%, Advantage Arrest® e RivaStar® (Fig. 4). As especificações dos produtos utilizados estão apresentadas na Tabela 1.

*Tabela 1 - Produtos comerciais que contêm SDF utilizados no estudo e as respetivas composições, lote e fabricante.*

Material	Composição	Lote	Fabricante
<b>Carioestop® 30%</b>	Ácido fluorídrico; nitrato de prata; hidróxido de amónia e água	397/19	Biodinâmica
<b>Carioestop® 12%,</b>	Ácido fluorídrico; nitrato de prata; hidróxido de amónia e água	171/19	Biodinâmica
<b>Advantage Arrest®</b>	Flúor; prata; amónia	18291	Elevate Oral Care
<b>RivaStar®</b>	Unidade 1: prata; flúor; amónia Unidade 2: potássio; iodeto; metacrilato	1139872	SDI



*Figura 4 – Produtos comerciais utilizados no estudo: a) Carioestop® 30%, b) Carioestop® 12%, c) Advantage Arrest®, e d) RivaStar®*

## **2.2. Microrganismos e condições de cultura**

Para os estudos da atividade antimicrobiana foram utilizadas as bactérias *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 e *Streptococcus mutans* DSM 20523 e a levedura *Candida albicans* ATCC 10231. As bactérias foram cultivadas em meio líquido ou agar de Infusão Cérebro e Coração (*Brain Heart infusion*, BHI, Liofilchem), e a levedura foi cultivada em meio líquido ou agar de *Sabouraud Dextrose* (Liofilchem).

## **2.3. Avaliação da atividade antimicrobiana pelo método de difusão em agar**

Inicialmente, prepararam-se suspensões dos microrganismos acima descritos, nos respectivos meios líquidos, à densidade de  $10^8$  CFU/mL, através da determinação da absorvância por espectrofotometria a 600 nm (Jenway 6300). Com o auxílio de uma zaragatoa estéril, a suspensão microbiana foi espalhada de forma uniforme na superfície das placas de agar de forma a se obter uma inoculação homogênea. De seguida, discos absorventes foram carregados com 10 µL do produto comercial puro e colocados gentilmente na superfície das placas inoculadas. As condições experimentais foram realizadas em triplicado. As placas foram incubadas a 37 °C durante 24 h para *E. faecalis* e *C. albicans* e 48 h para *S. mutans*. Após o período de incubação, foi determinado o diâmetro das zonas de inibição recorrendo a uma régua calibrada.

## **2.4. Avaliação da atividade antimicrobiana do SDF na eliminação do biofilme de *E. faecalis*, *S. mutans* e *C. albicans***

### **2.4.1. Formação do biofilme**

Inicialmente, prepararam-se suspensões dos microrganismos acima descritos, nos respectivos meios líquidos, à densidade de  $10^8$  CFU/mL, através da determinação da absorvância por espectrofotometria a 600 nm (Jenway 6300). De seguida, as suspensões foram inoculadas em placas de 96 poços (100

$\mu\text{L}$ /poço) e incubadas a 37 °C e 120 rpm durante 24 h para *E. faecalis* e *C. albicans* e 48 h para o *S. mutans*, para permitir a formação do biofilme, de modo a simular as condições biológicas existentes na cavidade oral.

#### 2.4.2. Adição dos produtos comerciais com SDF

Após a formação do biofilme, o meio de cada poço foi removido e o biofilme formado foi lavado com 100  $\mu\text{L}$  de NaCl a 0,9% (B. Braun) a fim de eliminar as bactérias não aderentes ou as bactérias fracamente aderidas. Posteriormente, os biofilmes foram expostos a 100  $\mu\text{L}$  dos produtos com SDF diluídos, no respetivo meio líquido do microrganismo, à concentração de 3%, 1% e 0,3% (Fig. 5). Adicionalmente, utilizou-se como controlo a incubação do biofilme com 100  $\mu\text{L}$  do respetivo meio líquido do microrganismo. As condições experimentais foram realizadas em triplicado. As placas foram incubadas a 37 °C e 120 rpm, durante 24 h.

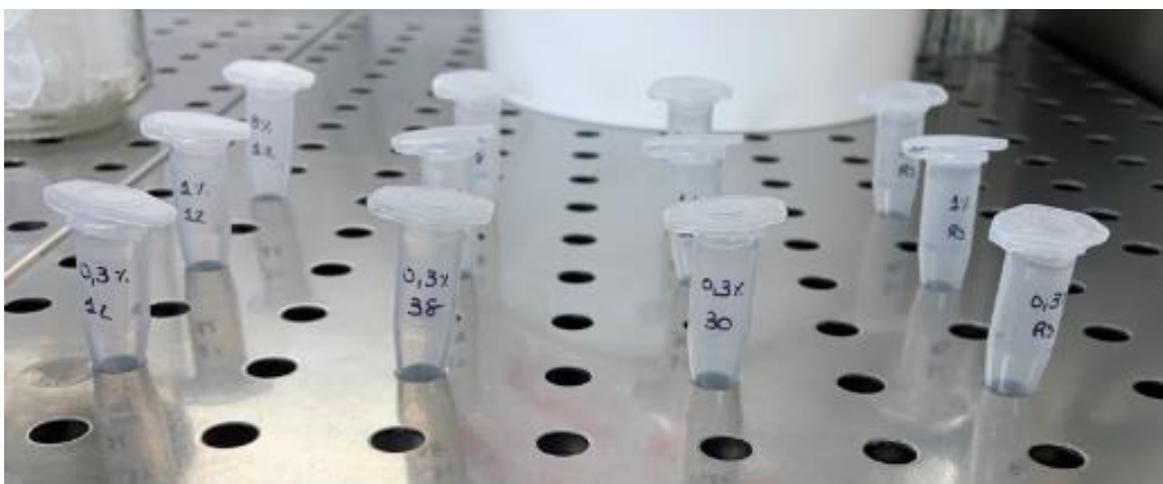


Figura 5 - Eppendorfs com os produtos comerciais utilizados e diluídos à concentração de 3%, 1% e 0,3%.

#### Quantificação da população séssil

Após 24 horas de exposição aos produtos comerciais diluídos, determinou-se o número de microrganismos cultiváveis no biofilme remanescente. Inicialmente, os poços foram lavados com 100  $\mu\text{L}$  de NaCl a 0,9% e, de seguida, adicionou-se 100  $\mu\text{L}$  de NaCl a 0,9% para se efetuar a raspagem

do poço a fim de dispersar a população séssil aderida ao fundo do poço. Efetuaram-se diluições decimais dos respectivos poços (Fig. 6) e o seu plaqueamento em placas de BHI agar ou Sabouraud agar, de acordo com o microrganismo em estudo. As placas foram incubadas a 37 °C por um período de 24 h para *E. faecalis* e *C. albicans*, e 48 h para *S. mutans*. Após o período de incubação, procedeu-se à contagem do número de colónias e ao cálculo das CFU/mL para cada condição experimental.

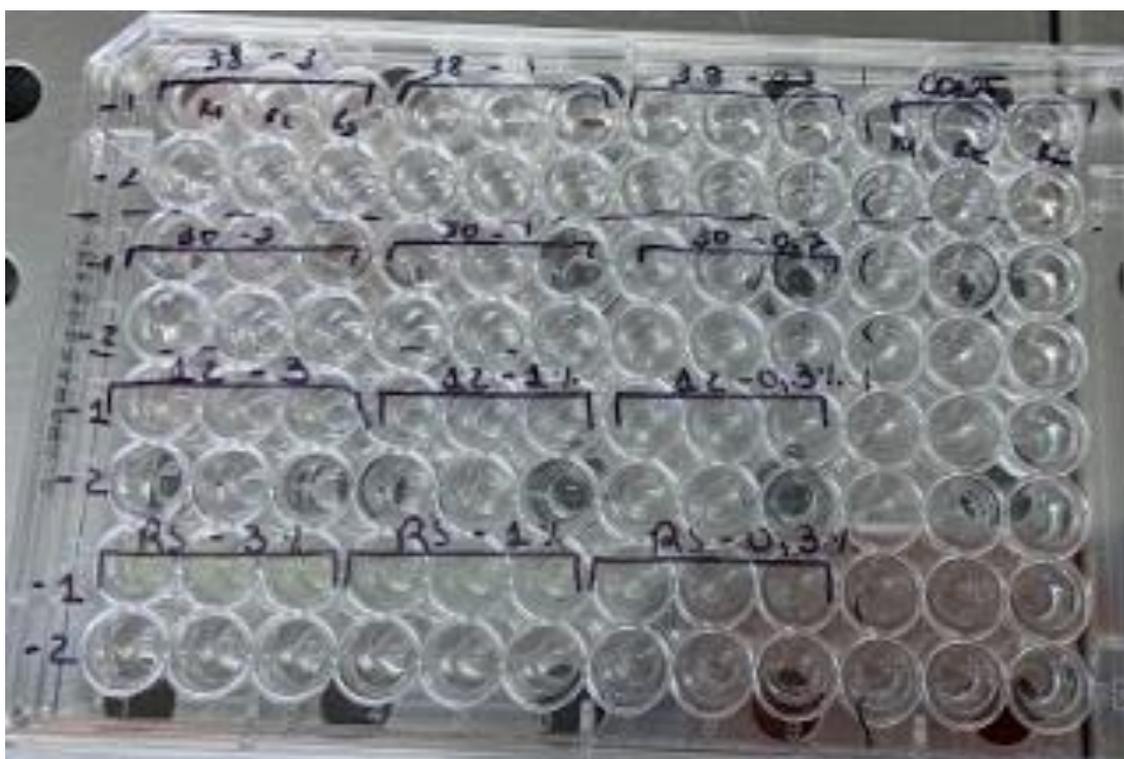


Figura 6 - Placa de 96 poços com as diluições da população séssil destacada, para cada condição experimental.

## 2.5. Análise estatística

Os resultados obtidos estão apresentados sobre a forma de média  $\pm$  desvio-padrão, de três réplicas para cada condição experimental. A análise estatística foi realizada com o software IBM® SPSS® *Statistics* (vs. 28.01, SPSS, EUA). Foi aplicada a análise de variância (ANOVA – *one way*) seguida pelo teste *post-hoc* de Tukey HSD para determinar as diferenças significativas ( $p < 0,05$ ).

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Atividade antimicrobiana pelo método de difusão em agar

Com o objetivo de avaliar se os produtos comerciais com SDF, na sua forma pura, apresentavam atividade antibacteriana contra *E. faecalis* e *S. mutans* e atividade antifúngica contra *C. albicans*, realizou-se o método de difusão em agar. A presença de um halo de inibição, *i.e.*, ausência de crescimento microbiano, bem como a sua dimensão, são indicativos da capacidade antimicrobiana dos produtos.

Tabela 2 - Diâmetro das zonas de inibição para os microrganismos estudados.

	Zona de inibição (cm)		
	(média ± desvio-padrão)		
	<i>E. faecalis</i>	<i>S. mutans</i>	<i>C. albicans</i>
Carioestop® 30%	1,66 ± 0,38	0,40 ± 0,12**	2,40 ± 0,34**
Carioestop® 12%	1,06 ± 0,05	0,27 ± 0,04**	1,74 ± 0,25**
Advantage Arrest®	1,27 ± 0,13	0,16 ± 0,05**	3,28 ± 0,20**
RivaStar®	1,41 ± 0,13	1,50 ± 0,08**	0,60 ± 0,07
CHX 0,20%	1,02 ± 0,08	0,83 ± 0,06	0,80 ± 0,00
CHX 0,12%	1,08 ± 0,06	0,77 ± 0,06	0,66 ± 0,08

\*p<0,05, diferenças significativas comparativamente com a condição CHX 0,20%

#p<0,05, diferenças significativas comparativamente com a condição CHX 0,12%

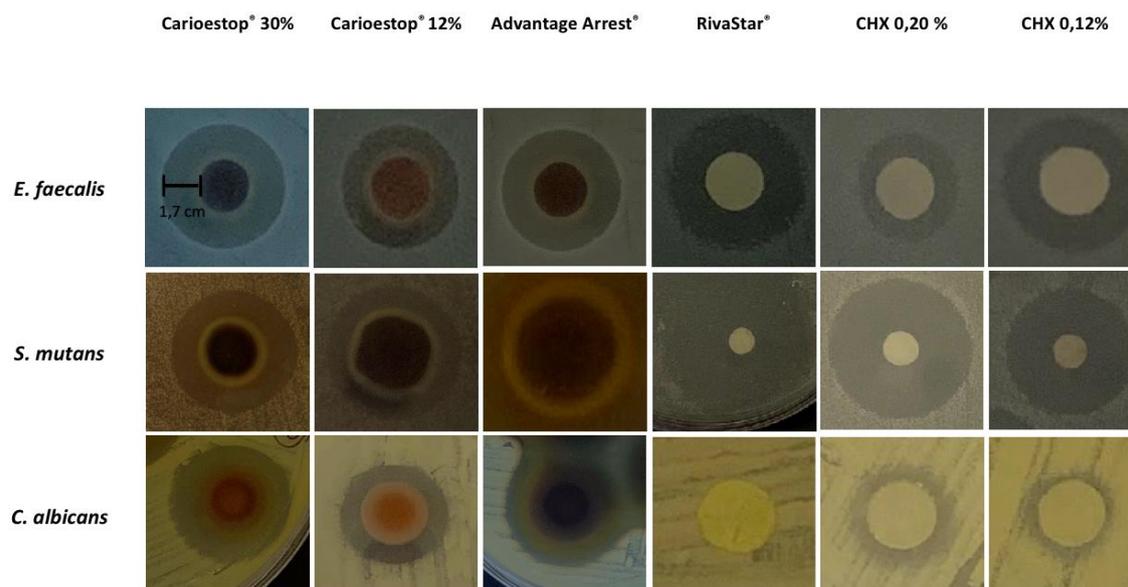


Figura 7 - Registo fotográfico dos halos de inibição obtidos após exposição do *E. faecalis*, *S. mutans* e *C. albicans* aos produtos comerciais contendo SDF, pelo método de difusão em agar. As soluções de CHX foram utilizados como controlo.

Perante a análise da tabela 2, verificou-se que o *E. faecalis* apresentou um perfil de suscetibilidade semelhante para todos os produtos testados, sem diferenças estatisticamente significativas comparativamente aos controlos utilizados (CHX 0,12 e 2,0%). Por outro lado, *C. albicans* exibiu diferentes suscetibilidades consoante o produto testado. À exceção da marca comercial RivaStar®, essas suscetibilidades foram significativamente maiores do que as registadas para ambos os controlos. A levedura mostrou maior sensibilidade ao Advantage Arrest®, seguido do Carioestop® 30% e, por fim, Carioestop® 12%. *S. mutans* apresentou um perfil de suscetibilidade aos produtos testados significativamente diferente dos controlos, contudo a suscetibilidade observada foi baixa e semelhante entre eles, à exceção do produto RivaStar®, para o qual a bactéria mostrou uma sensibilidade significativamente maior. Na figura 7 é possível observar a presença das diferentes áreas de inibição obtidas para as três espécies microbianas, com todas as marcas comerciais testadas. O diâmetro do halo formado para os controlos CHX 0,20% e CHX 0,12% são semelhantes entre si, de acordo com a espécie microbiana testada.

Face a esta análise, verificou-se que o composto RivaStar® teve um forte efeito inibitório para *S. mutans*, enquanto os compostos Advantage Arrest® e Carioestop® 30% tiveram maior efeito na levedura.

### 3.2. Atividade do SDF na eliminação do biofilme de *E. faecalis*, *S. mutans* e *C. albicans*

Para averiguar a capacidade do SDF na eliminação de biofilmes, quantificou-se o número remanescente de microrganismos cultiváveis após 24 horas de exposição do biofilme aos produtos comerciais previamente diluídos. Os resultados obtidos estão presentes nas Figuras 8 e 9 para as espécies *E. faecalis* e *C. albicans*, respetivamente. No caso do *S. mutans* não se obteve crescimento microbiano após a exposição aos compostos, carecendo este resultado de confirmação no futuro.

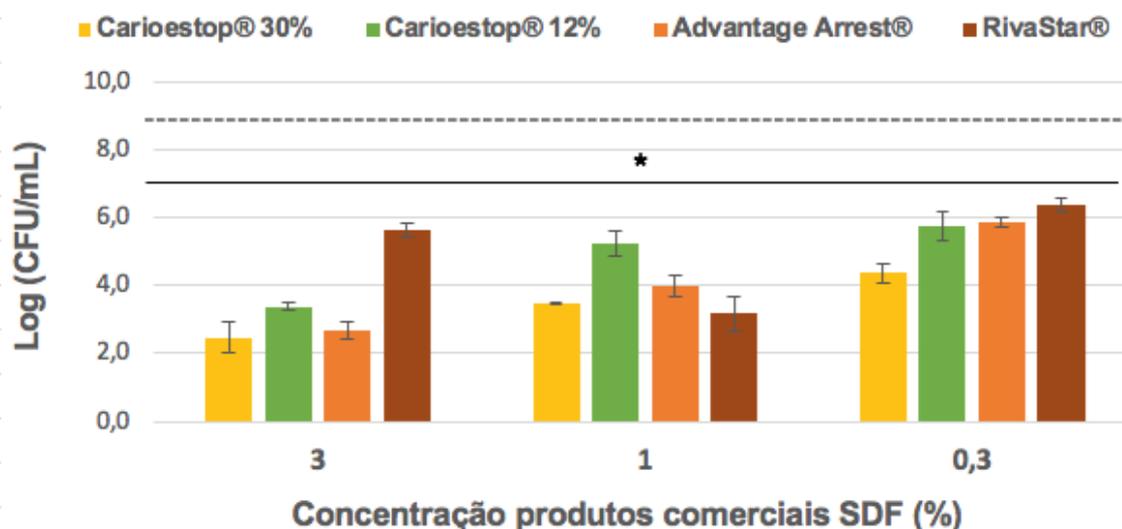


Figura 8 - Avaliação do efeito das soluções diluídas dos produtos comerciais contendo SDF na eliminação de um biofilme de 24 h de *E. faecalis* (\* $p < 0,05$ , comparativamente ao controlo - linha pontilhada).

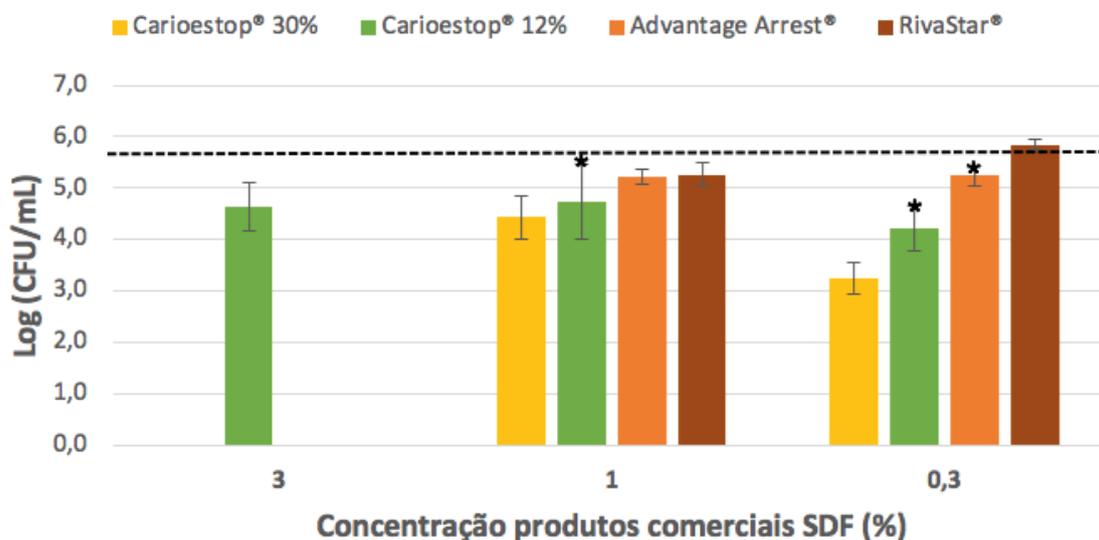


Figura 9 - Avaliação do efeito das soluções diluídas dos produtos comerciais contendo SDF na eliminação de um biofilme de 24 h de *C. albicans* (\* $p < 0,05$ , comparativamente ao controlo - linha pontilhada).

Conforme os resultados apresentados na Figura 8, todos os produtos comerciais contendo SDF, nas diferentes concentrações, foram capazes de reduzir significativamente o biofilme de *E. faecalis*, quando comparados com o grupo controlo (ausência de agente antimicrobiano). À exceção do RivaStar®, a redução do biofilme foi proporcional à concentração do produto.

Por outro lado, o biofilme de *C. albicans* apresentou maior resistência aos produtos com SDF, na gama de concentrações avaliadas (Figura 9). As marcas comerciais Advantage Arrest® e RivaStar® eliminaram na totalidade o biofilme de *C. albicans* na maior concentração testada (3%). No entanto, para as restantes concentrações não se observou um efeito significativo. Já o produto comercial Carioestop® 30% reduziu por completo o biofilme de *C. albicans* quando testado a 3% e, para as outras concentrações, causou uma redução significativa do biofilme. Por oposição, o Carioestop® 12% não foi capaz de induzir efeitos significativos no biofilme de *C. albicans* nas concentrações avaliadas.

#### 4. DISCUSSÃO

No presente trabalho, quando testados pelo método de difusão em agar, *E. faecalis* apresentou uma sensibilidade semelhante aos produtos comerciais com SDF, na sua forma pura, e às soluções de CHX. Minavi *et al.* (2021) também estudaram a atividade antimicrobiana do SDF, pelo mesmo método, mas nas concentrações de 38%, 3,8%, 0,38% e 0,038% e concluíram a existência de propriedades antimicrobianas contra *E. faecalis* para o SDF a 38%.<sup>(31)</sup>

Analisando os resultados do microrganismo *S. mutans*, verificamos que as marcas comerciais de SDF avaliadas criaram zonas de inibição para o crescimento de *S. mutans* significativamente maiores do que aquelas registadas para a CHX a 0,20% e a 0,12%. A maior zona de inibição registada foi para a marca comercial RivaStar<sup>®</sup>. À semelhança dos resultados do presente trabalho, um estudo realizado por Abdullah *et al.* (2020), mostrou que a aplicação isolada de SDF da marca comercial RivaStar<sup>®</sup> reduz significativamente a população bacteriana de *S. mutans*, comprovando a sua eficácia bactericida quando comparado com outra solução comercial de SDF – Topamine<sup>®</sup>.<sup>(32)</sup>

Face à aplicação de cada um dos produtos de SDF, a marca comercial RivaStar<sup>®</sup> difere das restantes por ser o único produto disponível em dois frascos separados e de dose única, que são aplicados em ambiente clínico, por contacto direto com a superfície do dente, usando um *microbrush*. Este produto necessita de refrigeração constante. Analisando a composição de cada uma das marcas comerciais usadas, RivaStar<sup>®</sup> é a única que contém potássio, iodeto e metacrilato. O metacrilato integra a componente inorgânica das resinas compostas universais usadas como material restaurador universal e fotopolimerizável.<sup>(33)</sup> A literatura tem demonstrado que a adesão microbiológica e o desenvolvimento do biofilme estão diretamente relacionados com as características da superfície de adesão.<sup>(34)</sup> Estudos realizados até à data, apontam que a existência de lacunas entre a união da resina composta com o esmalte dentário (após remoção da lesão cariosa) são os potenciais locais para o reaparecimento da lesão cariosa.<sup>(35)</sup> Tal observação permite considerar a aplicação do SDF da marca comercial RivaStar<sup>®</sup> após a realização de uma restauração dentária com resina composta a fim de diminuir o risco de infiltração

de cárie dentária, um dos principais motivos de recidivas de lesões cariosas em dente previamente tratados

Perante o mesmo método, os diâmetros formados pelas zonas de inibição de crescimento da *C. albicans* apresentaram diferenças significativas para as marcas comerciais Carioestop® 30%, Carioestop® 12% e Advantage Arrest®, quando comparadas com as condições de CHX a 0,20% e 0,12%. O maior diâmetro do halo formado foi obtido com a marca comercial Advantage Arrest®. Um estudo *in vitro* realizado por Nsuworks *et al.* (2020), em que foi igualmente aplicado o teste por difusão em agar, provou que o SDF da marca comercial Advantage Arrest®, conseguiu igualmente suprimir o crescimento de *C. albicans* de forma significativa. <sup>(36)</sup>

No que toca à capacidade do SDF interferir com os biofilmes microbianos, verificou-se, com o presente estudo, que todos os produtos comerciais, na sua forma diluída, interferiram significativamente com a progressão do biofilme de *E. faecalis* o que permite inferir sobre a sua capacidade de eliminar microrganismos na sua existência mais resistente, *i.e.*, em biofilme. Num estudo semelhante, Mathew *et al.* (2012) também comprovou a eficácia antibacteriana do SDF a 3,8% na eliminação do biofilme de *E. faecalis* nos canais radiculares. Os autores salientam as vantagens do uso destes produtos em aplicações de endodontia, nomeadamente, a libertação do dobro da quantidade de flúor contribuindo para a formação de fluorapatite, e o depósito de prata nos túbulos dentinários o que contribui para prevenir a reinfeção radicular ao evitar a formação e a proliferação do biofilme. <sup>(37)</sup> Mais recentemente, Al-Madi *et al.* (2019) mostraram novamente a eficácia do SDF a 3,8% na eliminação do biofilme de *E. faecalis* quando inoculado em discos de dentina. <sup>(38)</sup> No presente estudo, o produto comercial Carioestop® 30% destaca-se como sendo aquele que mais interferiu com o biofilme de *E. faecalis*, para todas as concentrações avaliadas.

À semelhança do microrganismo *E. faecalis*, são escassos os estudos existentes sobre a atividade antimicrobiana do SDF contra biofilmes de *C. albicans*. No que toca à eliminação do biofilme de *C. albicans*, verificamos que tanto o Advantage Arrest® como o RivaStar®, na sua concentração de 3%, conseguem eliminar o biofilme na sua totalidade (ação fungicida). No entanto,

esse efeito é atenuado para concentrações mais baixas. Resultados semelhantes foram obtidos por Alshahni *et al.* (2020). Para concentrações mais altas de SDF (38%), os autores não verificaram crescimento de *C. albicans*, no entanto, para concentrações mais baixas (3,8%) verificaram uma redução do biofilme de *C. albicans*, mas não a sua eliminação por completo. <sup>(39)</sup>

Em suma, o SDF possui atividade antimicrobiana contra *E. faecalis*, *S. mutans* e *C. albicans*, sendo os seus valores mais uniformes nas bactérias e mais dispares na levedura. Face aos resultados obtidos e aos resultados descritos na literatura, podemos concluir que o SDF da marca comercial Carioestop® 30%, numa concentração de 3%, é um potencial fármaco a utilizar-se para a disseminação de *E. faecalis*, perante uma endodontite, e para aumentar o sucesso do tratamento.

## 5. CONCLUSÃO

De acordo com esta investigação, é possível concluir que o diaminofluoreto de prata, conhecido por SDF, tem elevado potencial na prática clínica da Medicina Dentária como agente antimicrobiano contra *E. faecalis*, *S. mutans* e *C. albicans*, sendo passível de ser estudado de modo a ser incluído em procedimentos clínicos como na irrigação canalar, na desinfeção de artefactos protésicos e protetor das restaurações dentárias realizadas a fim de evitar o aparecimento de lesões cariosas secundárias.

## 6. REFERÊNCIAS

1. World Health Organization. Global oral health status report: towards universal health coverage for oral health by 2030 [Internet]. 2022. Available from: <http://apps.who.int/bookorders>.
2. Direção-Geral da Saúde. Programa Nacional de Promoção de Saúde Oral [Internet]. 2019. Available from: [www.dgs.pt](http://www.dgs.pt)
3. Belibasakis GN. Microbiological changes of the ageing oral cavity. Vol. 96, Archives of Oral Biology. Elsevier Ltd; 2018. p. 230–2.
4. Abebe GM. The Role of Bacterial Biofilm in Antibiotic Resistance and Food Contamination. Vol. 2020, International Journal of Microbiology. Hindawi Limited; 2020.
5. Rosan B, Lamont RJ. Dental plaque formation. 2000.
6. Lemos JA, Palmer SR, Zeng L, Wen ZT, Kajfasz JK, Freires IA, et al. The Biology of Streptococcus mutans . Microbiol Spectr. 2019 Feb 8;7(1).
7. Pitts NB, Zero DT, Marsh PD, Ekstrand K, Weintraub JA, Ramos-Gomez F, et al. Dental caries. Nat Rev Dis Primers [Internet]. 2017;3(1):17030. Available from: <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.30>
8. Strużycka I. The Oral Microbiome in Dental Caries. Pol J Microbiol. 2014;64:127–34.
9. Neel E, Aljabo A, Strange A, Ibrahim S, Coathup M, Young A, et al. Demineralization–remineralization dynamics in teeth and bone. Int J Nanomedicine. 2016 Sep 19;11:4735–41.
10. Khoroushi M, Kachuie M. Prevention and treatment of white spot lesions in orthodontic patients. Vol. 8, Contemporary Clinical Dentistry. Medknow Publications; 2017. p. 11–9.
11. Heymann GC, Grauer D. A contemporary review of white spot lesions in orthodontics. Vol. 25, Journal of Esthetic and Restorative Dentistry. 2013. p. 85–95.
12. Ewoldsen N. Management of Advanced Caries . Inside Dentistry [Internet]. 2015 Apr [cited 2023 May 20]; Available from:

<https://www.aegisdentalnetwork.com/id/2015/04/management-of-advanced-caries>

13. Schmoeckel J, Gorseta K, Splieth CH, Juric H. How to Intervene in the Caries Process: Early Childhood Caries - A Systematic Review. Vol. 54, Caries Research. S. Karger AG; 2020. p. 102–12.
14. Rui P, Ribeiro De Melo G. Influência de diferentes métodos de administração de fluoretos nas variações de incidência de cárie.
15. Rodrigues CC. Diaminofluoreto de Prata na prática clínica médico-dentária. 2020 Jul 27 [cited 2023 May 18]; Available from: <https://hdl.handle.net/10216/128010>
16. World Health Organization. Future Use of Materials for Dental Restoration. 2010.
17. Selwitz RH. Dental caries [Internet]. Vol. 369, [www.thelancet.com](http://www.thelancet.com). 2007. Available from: [www.thelancet.com](http://www.thelancet.com)
18. Askar H, Krois J, Göstemeyer G, Bottenberg P, Zero D, Banerjee A, et al. Secondary caries: what is it, and how it can be controlled, detected, and managed? Clin Oral Investig. 2020 May 1;24(5):1869–76.
19. Greenwall-Cohen J, Greenwall L, Barry S. Silver diamine fluoride – an overview of the literature and current clinical techniques. Br Dent J. 2020;228:831–8.
20. Kim S, Nassar M, Tamura Y, Hiraishi N, Jamleh A, Nikaido T, et al. The effect of reduced glutathione on the toxicity of silver diamine fluoride in rat pulpal cells. Journal of Applied Oral Science. 2021;29.
21. Burgess JO, Vaghela PM. Silver Diamine Fluoride: A Successful Anticariogenic Solution with Limits. Vol. 29, Advances in dental research. 2018. p. 131–4.
22. Fda.gov. 510(k) Premarket Notification [Internet]. 2010. [cited 2023 Jan 9]. Available from: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfpmn/pmn.cfm?ID=K102973>

23. [www.accessdata.fda.gov. Product Classification \[Internet\].](https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfpd/classification.cfm?id=1428) [cited 2023 Jan 9]. Available from: <https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfpd/classification.cfm?id=1428>
24. Organization WH. World Health Organization model list of essential medicines: 22nd list (2021) [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2021. Available from: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/345533>
25. Mei ML, Chu CH, Low KH, Che CM, Lo ECM. Caries arresting effect of silver diamine fluoride on dentine carious lesion with *S. mutans* and *L. acidophilus* dual-species cariogenic biofilm. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2013 Nov;18(6).
26. Kim KJ, Sung WS, Suh BK, Moon SK, Choi JS, Kim JG, et al. Antifungal activity and mode of action of silver nano-particles on *Candida albicans*. *BioMetals*. 2009 Apr;22(2):235–42.
27. Love RM. *Enterococcus faecalis*— a mechanism for its role in endodontic failure. *Int Endod J* [Internet]. 2001 Jul 1;34(5):399–405. Available from: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2591.2001.00437.x>
28. Evans M, Davies JK, Sundqvist G, Figdor D. Mechanisms involved in the resistance of *Enterococcus faecalis* to calcium hydroxide. *Int Endod J* [Internet]. 2002 Mar 1;35(3):221–8. Available from: <https://doi.org/10.1046/j.1365-2591.2002.00504.x>
29. Chong KKL, Tay WH, Janela B, Yong AMH, Liew TH, Madden L, et al. *Enterococcus faecalis* Modulates Immune Activation and Slows Healing During Wound Infection. *J Infect Dis* [Internet]. 2017 Dec 19;216(12):1644–54. Available from: <https://doi.org/10.1093/infdis/jix541>
30. Lu Q, Wang Y, Liao X, Zhou F, Zhang B, Wu X. Physiological and transcriptome analysis of *Candida albicans* in response to X33 antimicrobial oligopeptide treatment. *Front Cell Infect Microbiol*. 2023 Jan 19;13.
31. Minavi B, Youssefi A, Quock R, Letra A, Silva R, Kirkpatrick TC, et al. Evaluating the substantivity of silver diamine fluoride in a dentin model. *Clin*

- Exp Dent Res [Internet]. 2021 Aug 1;7(4):628–33. Available from: <https://doi.org/10.1002/cre2.376>
32. Abdullah N, Marzooq F Al, Mohamad S, Rahman NA, Rani KGA, Ngo HC, et al. The antibacterial efficacy of silver diamine fluoride (SDF) is not modulated by potassium iodide (KI) supplements: A study on in-situ plaque biofilms using viability real-time PCR with propidium monoazide. PLoS One. 2020 Nov 1;15(11 November).
  33. Pauli PF. Formação in vitro de biofilmes de streptococcus mutans, candida albicans e derivados da saliva humana em resina composta e resina nanohíbrida : análise dos biofilmes formados e comparação. 2022.
  34. Hao Y, Huang X, Zhou X, Li M, Ren B, Peng X, et al. Influence of dental prosthesis and restorative materials interface on oral biofilms. Vol. 19, International Journal of Molecular Sciences. MDPI AG; 2018.
  35. Montagner AF, Kuper NK, Opdam NJM, Bronkhorst EM, Cenci MS, Huysmans MCDNJM. Wall-lesion development in gaps: The role of the adhesive bonding material. J Dent. 2015 Aug 1;43(8):1007–12.
  36. Nsuworks N, Al Kukash S. Effect of Silver Diamine Fluoride on Candida albicans Associated Effect of Silver Diamine Fluoride on Candida albicans Associated with Early Childhood Caries with Early Childhood Caries [Internet]. Available from: [https://nsuworks.nova.edu/hpd\\_cdm\\_stueta](https://nsuworks.nova.edu/hpd_cdm_stueta)
  37. Mathew VB, Madhusudhana K, Sivakumar N, Venugopal T, Reddy RK. Anti-microbial efficiency of silver diamine fluoride as an endodontic medicament - An ex vivo study. Contemp Clin Dent. 2012;3(3):262–4.
  38. Al-Madi EM, Al-Jamie MA, Al-Owaid NM, Almohaimede AA, Al-Owid AM. Antibacterial efficacy of silver diamine fluoride as a root canal irrigant. Clin Exp Dent Res [Internet]. 2019 Oct 1;5(5):551–6. Available from: <https://doi.org/10.1002/cre2.222>
  39. Alshahni RZ, Alshahni MM, Hiraishi N, Makimura K, Tagami J. Effect of Silver Diamine Fluoride on Reducing Candida albicans Adhesion on Dentine. Mycopathologia. 2020 Aug 1;185(4):691–8.

# **ANEXOS**

## **DECLARAÇÃO DE AUTORIA**

### **Monografia/Relatório de Estágio**

Declaro que o presente trabalho, intitulado “Atividade de soluções comerciais de diaminofluoreto de prata contra agentes patogénicos da cavidade oral” no âmbito da Monografia/Relatório de Estágio no Mestrado Integrado de Medicina Dentária, da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto, é da minha autoria e todas as fontes foram devidamente referenciadas.

Porto, 22 de maio de 2023

O estudante,

Filipa Alexandra Gonçalves Fernandes

---

**Filipa Alexandra Gonçalves Fernandes**

### **PARECER DO ORIENTADOR**

Informo que o Trabalho de Monografia desenvolvido pela estudante Filipa Alexandra Gonçalves Fernandes intitulado: Atividade de soluções comerciais de diaminoflureto de prata contra agentes patogénicos da cavidade oral, está de acordo com as regras estipuladas pela Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto, foi por mim conferido e encontra-se em condições de ser apresentado em provas públicas.

Porto, 22 de maio de 2023

A Orientadora,

---

**Liliana do Carmo dos Santos Grenho**

Professora Auxiliar da Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do  
Porto



### **PARECER DO COORIENTADOR**

Informo que o Trabalho de Monografia desenvolvido pela estudante Filipa Alexandra Gonçalves Fernandes intitulado: Atividade de soluções comerciais de diaminofluoreto de prata contra agentes patogénicos da cavidade oral, está de acordo com as regras estipuladas pela Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto, foi por mim conferido e encontra-se em condições de ser apresentado em provas públicas.

Porto, 22 de maio de 2023

A Coorientadora,

---

**Maria Helena Fernandes**

Professora Catedrática da Faculdade de Medicina Dentária da  
Universidade do Porto



## DECLARAÇÃO

### Mestrado Integrado em Medicina Dentária Monografia/Relatório de Estágio

#### Identificação do autor

Nome completo: Filipa Alexandra Gonçalves Fernandes

Nº de identificação civil: 14667773 0 ZX3      Nº de estudante: 201806026

E-mail institucional: up201806026@edu.fmd.up.pt

E-mail alternativo: filipa.a.fernandes@gmail.com

Faculdade/Instituto: Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto

#### Identificação da publicação

Dissertação de Mestrado Integrado (Monografia)  Relatório de Estágio

Título Completo: Atividade de soluções comerciais de diaminoflureto de prata contra agentes patogénicos da cavidade oral

Orientador: Prof. Doutora Liliana Grenho

Coorientador: Prof. Doutora Maria Helena Fernandes

Palavras-chave: SDF; *Enterococcus faecalis*; *Streptococcus mutans*; *Candida albicans*; Atividade antimicrobiana, SDF.

Autorizo a disponibilização imediata do texto integral no Repositório da U.Porto

Não autorizo a disponibilização imediata do texto integral no Repositório da U.Porto

Autorizo a disponibilização do texto integral no Repositório da U.Porto, com período embargo, no prazo de:

6 Meses: \_\_ 12 Meses: \_\_ 18 Meses: X 24 Meses: \_\_ 36 Meses: \_\_ 120 Meses: \_\_

Justificação para a não autorização imediata: Aguarda publicação.

Data: 22/05/2023

Assinatura: Filipa Alexandra Gonçalves Fernandes