

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS – ICF/UFAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

CINTHYA LUNA VELOSO DE LIMA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE UM FIO DENTAL COM
PRÓPOLIS VERMELHA BRASILEIRA**

MACEIÓ
2024

CINTHYA LUNA VELOSO DE LIMA

**DESENVOLVIMENTO E CARACTERIZAÇÃO DE UM FIO DENTAL COM
PRÓPOLIS VERMELHA BRASILEIRA**

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alagoas como requisito à obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Profa. Dra. Isabel Cristina Celerino de Moraes Porto

Co-orientador: Prof. Dr. Ticiano Gomes do Nascimento.

MACEIÓ

2024

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central Divisão de
Tratamento Técnico

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

- L732d Lima, Cinthya Luna Veloso de.
Desenvolvimento e caracterização de um fio dental com própolis vermelha brasileira / Cinthya Luna Veloso de Lima. – 2024.
68 f. : il. color.
- Orientadora: Isabel Cristina Celerino de Moraes Porto.
Co-orientador: Ticiano Gomes do Nascimento.
Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Farmacêuticas. Maceió, 2024.
- Bibliografia: f. 62-68.
1. Dispositivos para o cuidado bucal domiciliar. 2. Própolis. 3. Higiene Bucal. 4. Cárie dentária - Prevenção e controle. I. Título.

CDU: 616.314-002

DEDICATÓRIA

Dedico à Trindade Santa e Nossa Senhora Rosa Mística por todo amor, proteção e fidelidade em todos os dias da minha vida. A Santa Teresinha do Menino Jesus por toda a chuva de rosas que tem derramado na minha vida.

Dedico a minha mãe Celi Luna dos Santos Veloso (*in memoriam*) pelo amor incondicional, exemplo de resiliência, fé e superação em todos os momentos da minha vida e por ensinar a não desistir nunca. A você mãe, meu eterno amor!

Dedico ao pai por todo incentivo e amor, ao meu esposo e filha por toda colaboração e amor. As minhas irmãs e sobrinha pelo apoio e amor.

Dedico a minha avó Celina Luna Santos (*in memoriam*) e a minha tia Célia Luna Soares Bezerra (*in memoriam*) por todas as palavras de motivação e confiança.

Ao meu Santo Anjo por não me deixar desistir.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha orientadora, Profa. Dra. Isabel Cristina Celerino de Moraes Porto, por aceitar conduzir esse trabalho de pesquisa. Por compartilhar sua sabedoria, tempo, dedicação e amor e creditar em mim sua confiança.

Agradeço ao meu co-orientador Prof. Dr. Ticiano Gomes do Nascimento por sua sabedoria, amor, empenho em ensinar e dedicação à pesquisa, além do seu acolhimento ao próximo.

Agradeço a Profa. Dra. Fernanda Cristina de Albuquerque Maranhão por incentivar e participar desse estudo com toda dedicação e acolhimento, ensinando com tanto amor.

Agradeço ao secretário escolar Daniel de Brito Ricarte por disponibilizar seu tempo, amizade e nos fazer acreditar nos impossíveis de Deus quando achamos que tudo está perdido.

Agradeço a Jeniffer McLaine Duarte de Freitas por sua amizade, dedicação, tranquilidade, disponibilizando seu tempo para contribuir com o estudo e serviço na busca de bons resultados para o enriquecimento da pesquisa.

Agradeço a diretoria e coordenação do Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas a oportunidade de crescer profissionalmente e pessoalmente.

Agradeço a todos os professores do Curso de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Alagoas pela excelência da qualidade técnica de cada um.

Agradeço aos meus pais Janair Veloso da Silva e Celi Luna dos Santos Veloso (*in memoriam*) que sempre estiveram ao meu lado apoiando ao longo de toda minha trajetória.

Ao meu esposo Kleber Ferreira de Lima Silva e a minha filha Maria Eduarda Luna Veloso de Lima pelo amor, compreensão e paciência nessa trajetória de novas conquistas e desafios.

As minhas irmãs Ana Kariny Luna Veloso e Keylla Luna Veloso
Carola por toda compreensão e paciência demonstrada durante o período
do projeto.

“Os que semeiam entre lágrimas, recolherão com alegria. Na ida caminham chorando, os que levam a semente a espargir. Na volta, virão com alegria, quando trouxerem os seus feixes”.

Salmo 125, 5-6.

RESUMO

A própolis é uma substância resinosa produzida pelas abelhas da espécie *Apis mellifera*, a partir da mistura de exsudatos de brotos, folhas e botões florais, de espécies vegetais com secreções salivares das abelhas. Comprovadamente, a própolis apresenta atividade antimicrobiana e antiinflamatória. Esse estudo teve por objetivo desenvolver fios dentais de politetrafluoroetileno (PTFE) revestidos com extrato de própolis vermelha brasileira. Fios de PTFE foram modificados com permanganato de potássio e ácido nítrico, e a seguir revestidos com extrato de própolis vermelha brasileira (PVB) nas concentrações de 500, 1000, 2000 e 3000 µg/mL. A presença do extrato de PVB nos fios foi investigada por meio de cromatografia líquida de alta eficiência e espectroscopia no infravermelho com transformadas de Fourier. A atividade antioxidante dos fios foi testada utilizando-se o método DPPH e a morfologia superficial analisada em microscopia eletrônica de varredura (MEV). Foram identificados biomarcadores da PVB, com mais alta quantidade de liquiritigenina (6,20µg/mL), isoliquiritigenina (6,19µg/mL) e formononetina (6,90µg/mL). A presença de PVB e atividade antioxidante foi comprovada nos fios dentais. Imagens em MEV mostraram que houve modificação da superfície lisa do fio de PTFE (antes), que se tornou mais porosa e com ranhuras depois do tratamento com permanganato de potássio e ácido nítrico. Após o revestimento com o extrato de PVB os fios aparentaram terem sido recobertos por uma substância que lhes conferiu uma superfície mais uniforme. A partir da metodologia proposta, foi possível desenvolver um fio dental de PTFE revestido com PVB nas concentrações de 500, 1000, 2000 e 3000µg/mL com atividade antioxidante.

Palavras-chave: Dispositivos para o cuidado bucal domiciliar; Própolis; Higiene bucal; Cárie dentária/Prevenção & controle.

ABSTRACT

Propolis is a resinous material produced by *Apis mellifera* bees, from a mixture of exudates, leaves, flower and buds of plant species with bee salivary secretions. Propolis has been proven to have antimicrobial and anti-inflammatory activity. This study aimed to develop polytetrafluoroethylene (PTFE) dental floss coated with Brazilian red propolis extract. PTFE dental floss was modified with potassium permanganate and nitric acid, and then coated with Brazilian red propolis extract (PVB) at following concentrations of 500, 1000, 2000 and 3000 µg/mL. The presence of PVB extract in the dental floss was investigated using high- performance liquid chromatography and Fourier transform infrared spectroscopy. The antioxidant activity of the dental floss was tested using the DPPH method and the surface morphology was examined using scanning electron microscopy (SEM). PVB biomarkers were identified, with higher amounts of liquiritigenin (6.20µg/mL), isoliquiritigenin (6.19µg/mL) and formononetin (6.90µg/mL). The presence of PVB and antioxidant activity of the dental floss has been proven. SEM images showed that there was a change in the smooth surface of the PTFE dental floss (before), which became more porous and rougher after treatment with potassium permanganate and nitric acid. After coating with PVB extract, the dental floss appeared to have been covered with a substance that gave them a more uniform surface. Using the proposed methodology, it was possible to develop a PTFE dental floss coated with PVB at 500, 1000, 2000 and 3000µg/mL concentrations with antioxidant activity.

Keywords: Devices for home oral care; Propolis; Oral hygiene; Dental caries/Prevention & control.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1** – Estrutura química do PTFE.....27
- Figura 2** - Abelha *Apis mellifera* e a planta *Dalbergia ecastophyllum*.....29
- Figura 3** - Estrutura celular das bactérias.....31
- Figura 4** - Técnica utilizada para manter os fios suspenso e esticados no tubo Falcon de 50mL para revestimento com extrato de PVB nas concentrações de 500, 1000, 2000 e 3000µg/mL.....37
- Figura 5** - Aspecto macroscópico das amostras de fios dentais após tratamento com a solução de KMnO₄/HNO₃ (5-A) e depois de serem tratados e revestidos com extrato de PVB (5-B).....43
- Figura 6** - Imagens MEV do fio de PTFE sem nenhum tratamento (A), tratado com KMnO₄/HNO₃ (B) e após revestimento com extrato de PVB (C).....44
- Figura 7** - Análise do grupo dos isoflavonoides: 1-dadzeína; 2-liquiritigenina; 3-pinobanksina; 4- isoliquiritigenina; 5-formononetina; 6-7-pinocembrina e biochanina no extrato de PVB LT2 FV 500µg/mL.....46
- Figura 8** - Análise do grupo dos isoflavonoides: 1-daidzeína; 2-liquiritigenina; 3-pinobanksina; 4-isoliquiritigenina; 5-formononetina; 6-7-pinocembrina e biochanina no fio dental com tratamento com KMnO₄/HNO₃ revestido com extrato de PVB a 3000µg/mL (T3) a 9700µg/mL.....47
- Figura 9** - Análise do grupo dos isoflavonoides: 1-daidzeína; 2-liquiritigenina; 3- pinobanksina; 4-isoliquiritigenina; 5-formononetina; 6-7-pinocembrina e biochanina no fio dental sem tratamento com KMnO₄/HNO₃ revestidos com extrato de PVB a 3000µg/mL (NT3) a 9400µg/mL.....48
- Figura 10** - Análise da capacidade de sequestro dos radicais DPPH (%) quanto a concentração em (µg/mL) em amostras de fios dentais sem tratamento com KMnO₄/HNO₃ (NT), revestidos com extrato de PVB a 500,

1000, 2000 e
3000µg/mL.....52.

Figura 11 - Análise da absorvância de amostras de fios dentais revestidos com extrato de PVB nas concentrações de 100µg/mL e 300µg/mL.....53

Figura 12 - Análise da transmitância de amostras de fios dentais revestidos com extrato de PVB na concentração de 100µg/mL com tratamento com KMnO₄/HNO₃ e sem tratamento com KMnO₄/HNO₃.....54

Figura 13 - Análise da transmitância de amostras de fios dentais revestidos com extrato de PVB na concentração de 100µg/mL tratado com KMnO₄/HNO₃ por 2 horas, por 4 horas e sem tratamento com KMnO₄/HNO₃.....
55

Figura 14 - Análise da transmitância de amostras de fios dentais revestidos com extrato de PVB na concentração de 100µg/mL, tratado com KMnO₄/HNO₃ por 2 horas e 4 horas.....56

Figura 15 - Análise da transmitância de amostras de fios dentais revestidos com extrato de PVB nas concentrações de 200µg/mL, tratados com KMnO₄/HNO₃ por 3 horas e por 4 horas, e fio dental revestido na concentração de 300µg/mL sem tratamento com KMnO₄/HNO₃.....57

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	-	Reagentes utilizados.....	34
Tabela 2	-	Massa residual das amostras de fios utilizadas para análise nos testes de DPPH e CLAE.....	38
Tabela 3	-	Extrato de PVB LT2 FV 500µg/mL.....	46
Tabela 4	-	Fio dental com tratamento com KMnO ₄ /HNO ₃ revestido com extrato de PVB a 3000µg/mL (T3) a 9700µg/mL).....	47
Tabela 5	-	Fio dental sem tratamento com KMnO ₄ /HNO ₃ revestidos com extrato de PVB a 3000µg/mL (NT3) a 9400µg/mL.....	48

LISTA DE ABREVIATURAS

%T	Percentual de Transmitância
%w	Percentual em peso
µg/mL	Micrograma por microlitro
A	Absorbância
C-F	Ligação Carbono- Flúor
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Frequência
cm	Centímetros
cm ⁻¹	Número de ondas por centímetro
DPPH	Potencial Antioxidante
PVB	Própolis Vermelha Brasileira
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho com Transformadas de Fourier
g	Gramas
HNO ₃	Ácido Nítrico
HV	High Vacuum (alto vácuo)
IC50	Concentração mínima suficiente para inibir 50% da atividade do que está sendo testado
KMnO ₄	Permanganato de Potássio
kV	Quilovoltagem
log	Logarítimo
m/v	Percentual massa-volume
MEV	Microscopia Eletrônica de Varredura
mg	Miligrama
mJ/m ²	Energia livre superficial
mL	Mililitro
mmHg	Milímetros de Mercúrio
nm	Nanômetros
PTFE	Politetrafluoretileno
PVB	Própolis Vermelha Brasileira

Rpm	Rotação por minuto
SISGEN	Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético
T	Transmitância
UV	Radiação Ultravioleta
v/v	Percentual volume-volume
W	Watt

LISTA DE SÍMBOLOS

°GL	Gay Lussac
°C	Graus Celsius
μ	Micra ou micron
μm	Micrometro
%	Porcentagem
®	Marca registrada
Λ	Lambda

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	19
2 OBJETIVOS.....	22
2.1 OBJETIVO GERAL.....	22
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	22
3 REVISÃO DE LITERATURA.....	24
3.1 FIO DENTAL.....	25
3.2 CONTROLE DO BIOFILME.....	27
3.3 PRÓPOLIS VERMELHA BRASILEIRA.....	28
3.3.1 <i>Atividade anticariogênica da PVB.....</i>	<i>30</i>
3.3.2 <i>Mecanismo de ação antimicrobiana da PVB.....</i>	<i>31</i>
4 MATERIAIS E MÉTODOS.....	33
4.1 TIPO DE ESTUDO.....	34
4.2 REAGENTES.....	34
4.3 ELABORAÇÃO DO EXTRATO DE PRÓPOLIS VERMELHA BRASILEIRA (PVB).....	35
4.4 PRODUÇÃO DOS FIOS DENTAIS COM PVB.....	35
4.4.1 <i>Procedimento de modificação da superfície do fio de PTFE.....</i>	<i>36</i>
4.4.2 <i>Revestimento dos fios dentais.....</i>	<i>36</i>
4.5 CARACTERIZAÇÃO DOS FIOS DENTAIS.....	37
4.5.1 <i>Extração da PVB dos fios revestidos.....</i>	<i>37</i>
4.5.2 <i>Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).....</i>	<i>38</i>
4.5.3 <i>Análise do potencial antioxidante por DPPH.....</i>	<i>39</i>
4.5.4 <i>Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV).....</i>	<i>40</i>
4.5.5 <i>Espectroscopia no Infravermelho com transformadas de Fourier.....</i>	<i>40</i>
5 RESULTADOS.....	42
5.1 Aspecto macroscópico.....	43
5.2 Aspecto microscópico.....	44

5.3 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE).....	45
5.4 Análise do potencial antioxidante dos fios por DPPH.....	49
5.5 Espectroscopia no Infravermelho com transformadas de Fourier (FTIR).....	53
6 DISCUSSÃO.....	59
7 CONCLUSÃO.....	63
8 PERSPECTIVAS.....	65
REFERÊNCIAS.....	67

INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

A cárie dentária e doenças periodontais são muito prevalentes e podem causar danos como dores, dificuldades na digestão, mastigação, fonação e até perda dentária. Com sua progressão aspectos funcionais, fisiológicos e estéticos são comprometidos no indivíduo, além de aspectos psicológicos, afetando sua autoestima (Moraes; Cohen, 2021).

A causa principal da cárie e doenças periodontais é uma dieta rica em açúcares, associada a suscetibilidade do hospedeiro, presença de micro-organismos e fatores ambientais que formam o biofilme dental (Zhu *et al.*, 2022). Esse biofilme dental é formado por uma matriz de polissacarídeos, proteínas e DNA, onde estão associadas inúmeras bactérias (Wholska *et al.*, 2016). A estrutura do biofilme dentário protege as bactérias dos mecanismos de resposta imune e da atividade farmacêutica, dificultando a resolução da infecção (Sharma *et al.*, 2019).

Dentre esses fatores que causam a cárie e a doença periodontal, o biofilme dentário formado na superfície dos dentes pode ser controlado e prevenido com a higienização da cavidade oral, a qual promove resultados positivos na manutenção do equilíbrio da microbiota (Kauer *et al.*, 2016).

A perda do equilíbrio da microbiota oral proporciona a colonização de micro-organismos gram-positivos anaeróbios (*Lactobacillus* e *Streptococcus mutans*) formando o biofilme dental nas superfícies dos dentes. Porém, com a escovação, o biofilme dental, é desorganizado pela ação mecânica das cerdas das escovas, desacelerando seu crescimento (Ferraz; Carvalho, 2022)

O controle mecânico realizado com escovas dentais para manter a higiene oral é acessível e simples, porém, o contato das cerdas das escovas com a superfície dental é limitado, uma vez que se restringe à remoção do biofilme dental apenas nas faces linguais, palatinas, vestibulares e oclusais necessitando do auxílio do fio dental nas faces interproximais para uma higienização completa (Neves *et al.*, 2020; Worthington *et al.*, 2019). Produtos

naturais têm sido usados como base para desenvolvimento de muitos antimicrobianos desde os meados do século XX (Rossiter; Fletcher; Wuest, 2017) e, conseqüentemente, chamaram atenção para terapia de infecções orais (Chinsebu 2016; Jeon *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2020). Um desses produtos, a própolis vermelha brasileira.

A própolis vermelha brasileira é uma substância resinosa coletada pelas abelhas da espécie *Apis mellifera*, obtida a partir de exsudatos de brotos, folhas e botões florais, misturadas a secreções salivares, utilizadas para construção, manutenção e proteção de suas colmeias (Barrientos *et al.*, 2012). Essa substância natural é atóxica, antimicrobiana e anti-inflamatórias, ideal para aplicação na prevenção e tratamento de doenças infecciosas da cavidade oral (Cao *et al.*, 2024).

A própolis apresenta atividade antimicrobiana e antibiofilme (Queiroga *et al.*, 2023) e é uma importante fonte de aplicações farmacêuticas em odontologia (Curutiu *et al.*, 2020). Assim, a investigação de substâncias antimicrobianas que sejam econômica e ecologicamente sustentáveis é de grande relevância.

Ao considerar a própolis como uma alternativa ao uso de antimicrobianos clássicos para o controle do biofilme dental, esse estudo inédito, propõe, apesar dos vários tipos de revestimentos disponibilizados no comércio, aliar as boas propriedades mecânicas do politetrafluoretileno (PTFE) à bioatividade da PVB.

OBJETIVOS

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Desenvolver fios dentais de politetrafluoroetileno (PTFE) revestidos com extrato de própolis vermelha brasileira.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Obter o extrato de própolis vermelha brasileira (PVB)
2. Desenvolver um fio dental de PTFE revestido com extrato de PVB nas concentrações de 500, 1000, 2000 e 3000 $\mu\text{g/mL}$;
3. Verificar a alteração de massa dos fios dentais após revestimento dos fios com PVB;
4. Caracterizar os fios dentais de PTFE revestidos com extrato de PVB (CLAE, FTIR, DPPH e MEV).

REVISÃO DE LITERATURA

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 FIO DENTAL

Em 1815, Levi Spear Parmly, cirurgião-dentista, observou a necessidade de dispositivos auxiliares de higiene bucal nas faces interproximais dos dentes. A ideia para criação do fio dental, surge da ineficiência da escovação em alcançar os contatos interdentais (Kojí *et al.*, 2022).

Desenvolvido por Levi Spear Pamply (1815), o fio dental era confeccionado com fio seda, e seu uso era recomendado após refeições nas regiões interproximais dos dentes. A primeira produção em larga escala na indústria, foi iniciada em 1888, pela empresa Codman & Shurtleff, e posteriormente, pela empresa Johnson & Johnson (1898), a qual obteve a primeira patente do fio dental (Silva; Ribeiro, 2022).

Mas, somente em 1882, essa ideia ganha impulso e o fio dental passa a ser um produto fabricado industrialmente, e posteriormente, patenteado em meados de 1889, através da empresa de cosméticos Jhonson e Jhonson® (Kojí *et al.*, 2022).

O uso do fio dental, tornou-se popular após a Segunda Guerra Mundial com a criação de um fio dental composto por nylon, idealizado por Charles Bass, diferente do fio dental de seda. Esse fio dental de nylon apresentava maior flexibilidade e resistência, com maior qualidade e eficácia na limpeza interdental (Teich *et al.*, 2014).

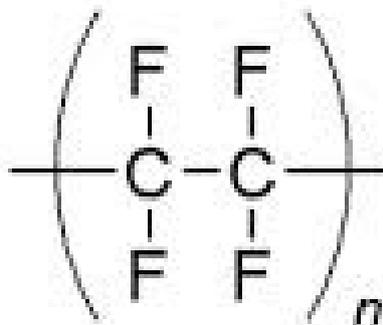
O fio dental passa a ser desenvolvido até os dias atuais com a finalidade de remover e desorganizar o biofilme nas superfícies interproximais, entretanto, o crescimento e desorganização do biofilme aderido em superfícies rugosas, cicatrículas, fóssulas e fissuras (Silva; Ribeiro, 2022), superfícies vestibular, lingual e palatina, deve ser removido através da escovação (Ferraz; Carvalho, 2022)

Existe uma variedade de técnicas e recursos disponíveis para higiene oral. Aos profissionais de saúde bucal, cabe transformar essas evidências científicas em informações mais simplificadas, sem muitas variações de técnicas utilizadas no cotidiano do paciente, com instruções, motivações eficazes (Slot; Valkenburg; Weijden, 2020), e adequada escolha dos meios de controle (Silva; Ribeiro, 2022).

Ferramentas de controle mecânico para cuidado domiciliar, escova dentária e fio dental, agem de maneira indispensável na prevenção da cárie dentária e doença periodontal (Silva *et al.*, 2018) propiciam a remoção do biofilme em regiões que requerem maior habilidade ao considerar condições anatômicas de maior dificuldade de acesso e morfológicas, como apinhamento dentário e irregularidades na raiz dentária. Métodos de controle mecânico são os mais utilizados na prática diária pelos benefícios na prevenção da cárie e doença periodontal, por razões econômicas e de segurança. Esses produtos são comercializados e frequentemente modificados pelos fabricantes, com o objetivo de melhorar tempo de uso e o conforto (Sälzer *et al.*, 2000).

Estruturalmente, o fio dental pode ser fabricado como monofilamento composto de politetrafluoretileno expandido ou fibras de poliéster (Polifil) composto por filamentos simples torcidos e em números variados, em que o diâmetro, o grau e a orientação dos filamentos dependem do produto, ou ainda, pode ser chamado de pseudopolifil, quando os filamentos únicos de Polifil estão embutidos em uma matriz (Sälzer *et al.*, 2000). Além disso, o fio dental pode ser encerado para facilitar a colocação entre dentes fortemente justapostos, aos quais podem ser adicionados aromatizantes e agentes preventivos, como o fluoreto (Ferraz; Carvalho, 2022; Sälzer *et al.*, 2000).

Os fios de PTFE possuem uma alta resistência à tração, baixa aderência, permitindo o deslize nas superfícies dentais sem rasgar ou ficar preso, com baixo coeficiente de atrito, além de uma boa estabilidade térmica à quebra e à abrasão, sendo um material de baixo custo, eficácia e segurança (Canto *et al.*, 2011).

Figura 1 - Estrutura química do PTFE

Politetrafluoroetileno

Fonte: Prof. Dr. Hélio Wiebeck; Marcus Vinícius Seixas, Escola Politécnica da Universidade Federal de São Paulo - USP (2012), modificado pela autora (2024).

3.2 CONTROLE DO BIOFILME

O biofilme dental é rico em polissacarídeos não calcificados e glicoproteínas aglutinadas (Menezes et al., 2020), organizada em três dimensões: base em material extracelular, oriundo do metabolismo celular e fatores do ambiente oral que favorece o crescimento e a proliferação de microorganismos nas superfícies dentárias (Simões; Oliveira Filho, 2021).

O biofilme é o fator etiológico das doenças cárie e periodontal, associada a múltiplos fatores condicionantes, não considerado o fator principal. Ao evitar a formação desse complexo microbiano, através de intervenções preventivas, haverá ausência dessas doenças (Menezes et al., 2020).

As principais bactérias do biofilme são os *Streptococcus mutans* e os *Lactobacillus*, possuem um potencial cariogênico na decomposição da sacarose e produção de ácidos. Após a ingestão de sacarose, esses participaram ativamente do processo de fermentação, ao transformar essa

sacarose em polissacarídeos, ácido láctico e moléculas de adenosina trifosfato (ATP) (Tanner et al., 2018).

O controle do biofilme depende de métodos de controle eficazes e diariamente executados pelo indivíduo, além de forças fisiológicas naturais, padrões ligados a mastigação e desenvolvimento da dentição de cada indivíduo (Sälzer et al., 2000).

O biofilme pode ser desorganizado por métodos de higiene oral, mecânicos e químicos, que ao agir de forma conjunta são eficazes na prevenção da cárie e doença periodontal (Ansari et al., 2020). O controle químico adjunto a escovação melhora a higiene oral e estimula o controle do biofilme através de produtos à base de fluoretos e pirofosfatos solúveis que agem contra a formação do cálculo dentário e como bactericidas (Menezes et al., 2020)

Na técnica de controle mecânico do biofilme são utilizados dispositivos, como a escova nas faces (vestibular, lingual, palatina) e o fio dental nas faces interproximais (mesial e distal), com técnicas manuais que promovem a desorganização e/ou remoção do biofilme dental (Sälzer et al., 2000; Kojí et al., 2022).

3.3 PRÓPOLIS VERMELHA BRASILEIRA

Com seis grandes biomas e uma grande diversidade de vegetações regionais, o Brasil, é considerado o maior produtor de própolis do mundo. A comercialização da própolis pelas indústrias farmacêuticas é uma alternativa preventiva e terapêutica em determinadas doenças (Aguiar et al., 2018).

A própolis é uma mistura resinosa complexa, composta por substâncias obtidas a partir de exsudatos de brotos, folhas e botões florais, coletadas de espécies vegetais por abelhas da espécie melífera africanizada (*Apis mellifera*). Essa mistura quando manipulada dentro da colmeia, acrescida de secreções salivares e cera, dará origem a um composto resinoso com baixa solubilidade, que servirá para reparos dos favos de mel, manutenção da temperatura interna da colmeia, proteção contra micro-organismos e preservação de insetos mortos (Aguiar et al., 2018; Souza et al., 2019).

Figura 2 - Abelha *Apis mellifera* e a planta *Dalbergia ecastophyllum*.



Fonte: Adaptado de Própolis: Usos Biotecnológicos/ Org: Alfredina S. Araújo; Maria do Socorro Ara; Weverto P. Medeiros – Issu (2021), modificado pela autora (2024).

Após sua elaboração pelas abelhas, a própolis, apresentará diferenças caracterizadas conforme a genética, propriedades químicas, físicas (consistência), biológicas (antibacteriana, antiviral, antifúngica) e organolépticas (cor e odor), derivando os tipos verde, vermelho e marrom (Souza et al., 2019).

Os treze tipos de própolis existentes no Brasil, foram catalogadas e distinguidas segundo a sua característica geográficas, vegetais e influências climáticas (pressão, atmosférica, vento, temperatura, umidade relativa, luminosidade) e que influenciam na variação da sua composição química e diferencia a própolis nas suas atividades farmacológicas (Franchin et al., 2018).

Na região litoral do Nordeste, predomina o 13^o tipo de própolis brasileira, nos Estados de Alagoas, Paraíba, Bahia e Pernambuco, destacando-se o Estado de Alagoas, na produção e pesquisa da própolis vermelha brasileira (PVB), conhecida como rabo-de-bugio, originada da planta leguminosa *Dalbergia ecastophyllum* (Franchin et al., 2018) e encontrada na região dos manguezais (Aguiar et al., 2018).

Ao considerar suas propriedades terapêuticas descritas na literatura, a própolis vermelha, rica em flavonoides e com inúmeras propriedades biológicas, apresenta benefícios quanto atividade cicatrizante (Peter et al., 2017); anti- inflamatória (Jung et al., 2008) e antitumoral (Watanabe et al., 2011; Sforcin e Bankova, 2011; Sawicka et al., 2012); antimicrobiana e antioxidante (Jiang et al., 2020); antiviral (Aguiar, 2018); antifúngica (Sobreira et al., 2020).

Os principais componentes químicos presentes na própolis que são os grupos: isoflavonas, flavonas, flavonoides, pterocarpanos xantonas, auronas, taninos e terpenos (Sena-Lopes et al., 2018), além vanádio, cobre, ferro, cálcio, silício e alumínio (Oryan; Alemzadeh; Moshiri et al., 2018).

Porém, existem componentes químicos presentes em altas concentrações, como propriedade exclusiva da PVB, que a diferencia dos demais tipos de própolis, considerados marcadores químicos, tais como: metil isoeugenol, metil eugenol, formononetina, biochanina A, isoliquiritigenina, liquiritigenina, medicarfina, homopterocarpan, quercetina e vestitol, que permitem distingui-la de outros tipos brasileiros de própolisoflavonas formononetina, biochanina A, pinocembrina, medicarpina, isoliquiritigenina, liquiritigenina, vestitol, elemicina e isoelemicina (Mendonça et al., 2015).

3.3.1 Atividade anticariogênica da PVB

A cárie dentária é uma doença multifatorial correlacionada a dieta, microbiota e resposta do hospedeiro. O biofilme dental que contém bactérias *Streptococcus mutans* é o principal agente causador da cárie (Barrietos et al., 2012).

A própolis vermelha brasileira tem atividade antimicrobiana sobre micro-organismos como: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas sp.*, *Enterococcus sp.*, e *Streptococcus sp.*, *Staphylococcus aureus* (Bittencourt et al., 2015; Do Nascimento et al., 2018) *Streptococcus mutans* (Oldoni et al., 2011), *Candida albicans* (Sobreira, 2020).

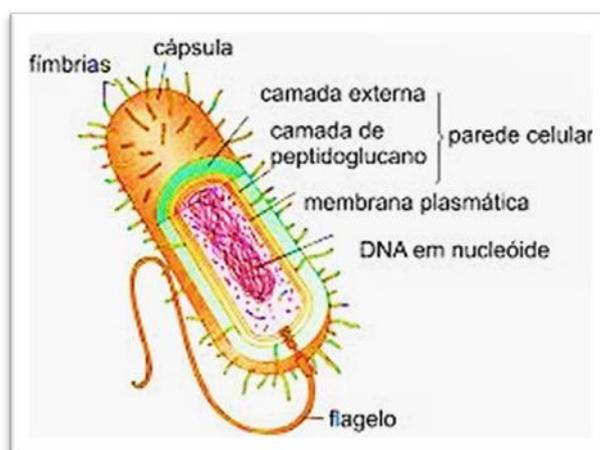
Componentes polifenólicos da PVB possuem ação antibacteriana e inibem a formação do biofilme. No estudo realizado por Ota e colaboradores

(1998), já se demonstrou uma grande atividade antimicrobiana contra *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* (Ota et al., 1998).

3.3.2 Mecanismo de ação antimicrobiana da PVB

Dentre os componentes da própolis, dezessete substâncias, como flavonoides, ácidos fenólicos, ésteres, cetonas, aldeídos fenólicos, ocasionam danos as estruturas funcionais e estruturais da parede celular dos micro-organismos (Nedji et al., 2014; Picoli et al., 2016), como ilustrado na figura 3 abaixo.

Figura 3 - Estrutura celular das bactérias.



Fonte: <http://educacao.globo.com/biologia/assunto/microbiologia/bacterias.html> (2015), modificado pela autora (2024).

A ruptura da integridade da membrana celular das bactérias está relacionada ao totarol (flavonona) que é um diterpenoide hidrofóbico com alto coeficiente na quebra das ligações fosfolípídeo/água (Torres *et al.*, 2018).

A desestruturação dos polissacarídeos extracelulares da parede celular (PEC) de bactérias responsáveis pela formação do biofilme dentário, impedem a adesão desses micro-organismos nas superfícies dentárias e dificultam a difusão da matriz do biofilme dentário e o consequente aumento na

concentração do ácido essencial para formação inicial da lesão cariiosa (Leites; Pinto; Sousa, 2006).

As atividades bacteriostática e bactericida é atribuída a atividade antioxidante que inibem a multiplicação das bactérias, da síntese de proteínas e RNAPolimerase e rompimento da membrana citoplasmática (Takaisi-Kikuni; Schilder, 1994; Capasso; Castaldo, 2002).

Esses compostos químicos da PVB também atuam na parede celular de células fúngicas, como a *Candida albicans*, inibindo a atividade da enzima extracelular fosfolipase e a sua adesão aos tecidos (SOBREIRA *et al.*, 2020).

MATERIAIS E MÉTODOS

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 TIPO DE ESTUDO

Esse é um estudo *in vitro*, que foi desenvolvido nos Laboratórios de Caracterização e Análise de Biomateriais (LaCa-Bio/FOUFAL), Laboratório de Análises Farmacêuticas (LAFA-ICF) e no Laboratório de Química, Campus Maceió, do Instituto Federal de Alagoas (IFAL).

4.2 REAGENTES

Os reagentes utilizados nos experimentos possuíam grau de pureza analítica e estão discriminados na Tabela 1.

Tabela 1 - Reagentes utilizados.

REAGENTES	FÓRMUL	FABRICANTES
Acetona	C_3H_6O	Química Contemporânea LTDA, SP – Brasil
Álcool etílico absoluto P.A.	C_2H_6O	Química Moderna, SP-Brasil
Água deionizada	H_2O	Química Moderna, SP-Brasil
Permanganato de potássio	$KMnO_4$	
Acetonitrila HPLC gradiente	CH_3CN	Sigma-Aldrich, SP -Brasil
2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH)	$C_{18}H_{12}N_5O_6$	Sigma-Aldrich, SP -Brasil
Ácido nítrico	HNO_3	NEON Química Fispq, SP – Brasil

Fonte: autoria própria (2024)

4.3 ELABORAÇÃO DO EXTRATO DE PRÓPOLIS VERMELHA BRASILEIRA (PVB)

A própolis bruta foi coletada em 16 de dezembro de 2021, na região de mangues do Estado de Alagoas, Brasil. O projeto foi registrado no SISGEN (Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado), com o número de cadastro A827143.

A extração foi realizada manualmente. Inicialmente 50 g de própolis bruta foi macerada e colocada em um béquer com 200mL de etanol a 80%°GL (80:20 v/v) e mantido no escuro sem agitação por 48 horas, o sobrenadante foi removido através de uma pipeta e colocado em outro béquer, e foi adicionado 200mL de etanol a (80:20 v/v). Todo esse processo foi realizado em triplicata.

A porção líquida final total (600mL) foi filtrada através de filtro Quality de papel e submetido à destilação sob pressão reduzida em um evaporador rotativo (modelo IKA RV 10; Marca IKA Works / IKA Werke GmbH & Co. KG) em banho maria a 35-40°C (pressão em 800 mmHg e velocidade de 155 rpm), para remoção do solvente.

Após a rota evaporação, o extrato foi acondicionado em um recipiente de vidro, no escuro, a 27°C para remoção do solvente residual. Ao final foram obtidos 33g de extrato etanólico de própolis vermelha. O extrato de PVB foi ressuspenso etanol/água (80:20 v/v) a uma concentração de 1000 µg/mL e levado para agitação em placa agitadora (Quimis® Q261M23, Brasil), na velocidade de 200 rpm, até sua completa dissolução.

4.4 PRODUÇÃO DOS FIOS DENTAIS COM PVB

As amostras experimentais de fita dental de politetrafluoretileno (PTFE) de filamento único, encerado com cera microcristalina (Colgate® Total, Colgate, São José dos Campos, SP, BR) foram cortadas em pedaços de 22 cm, pesados em balança precisão analítica com 10⁵ casas decimais para obtermos a pesagem inicial das amostras de fio dentais sem revestimento do extrato de PVB e mantidas em frascos do tipo Falcon até a etapa de tratamento

da superfície prévio ao revestimento do fio com extrato de PVB, que foi executado seguindo-se a metodologia de Fu, C. *et al.* (2014), modificada.

4.4.1 Procedimento de modificação da superfície do fio de PTFE

As amostras de fio de PTFE foram lavadas com acetona e depois com água destilada, por 30 minutos em cada substância, em oscilação ultrassônica, para remover a cera e as impurezas da superfície das amostras de fios dentais. Após a limpeza, as amostras foram secas em uma estufa microbiológica, a 37°C por 24 horas e, a seguir, mantida em dessecadora de sílica para posterior experimento.

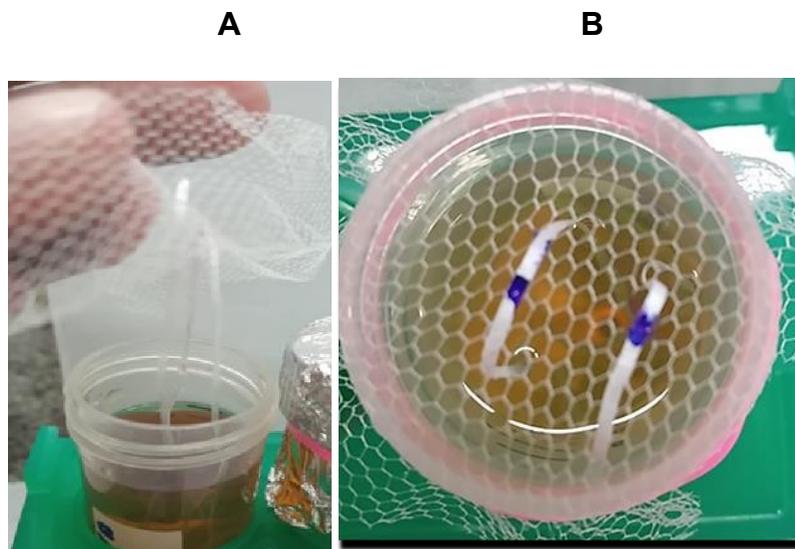
A solução de permanganato de potássio com uma concentração de 6% em peso foi preparada adicionando-se 6 g de permanganato de potássio (KMnO_4) em 94 g de água destilada. Ao conteúdo foram adicionados 5mL de (65-68) w% de ácido nítrico (HNO_3) sob agitação por meia hora, e obteve-se uma solução homogênea de $\text{KMnO}_4/\text{HNO}_3$.

As amostras de PTFE limpas foram imersas na solução de $\text{KMnO}_4/\text{HNO}_3$ a $45^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$ por 5 horas, sob agitação, como ilustra a figura 4, e depois, foram sucessivamente enxaguadas com acetona e água destilada sob oscilação ultrassônica por cinco vezes, cada vez por 12 minutos. As amostras tratadas foram secas na estufa bacteriológica a 37°C por 24 horas.

4.4.2 Revestimento do fio dental com PVB

Os fios foram colocados, suspensos e estirados, em tubos Falcon de 50mL esterilizados contendo uma solução de PVB e etanol (m/v) nas concentrações de 500, 1000, 2000 e 3000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ e mantidos durante 24h, em repouso a 25°C, em ambiente isento de luz como ilustrado na figura 4A e 4B. Após esse tempo, os fios permaneceram em estufa microbiológica durante 24h a 37°C para secagem. A seguir foram acondicionados em embalagens individuais estéreis até o momento dos testes. Fio dental não revestido com extrato de PVB foi usado como controle.

Figura 4 - Técnica utilizada para manter os fios suspenso e esticados no tubo Falcon de 50mL para revestimento com extrato de PVB nas concentrações de 500, 1000, 2000 e 3000 μ g/mL



Fonte: autoria própria (2024).

4.5 CARACTERIZAÇÃO DOS FIOS DENTAIS

4.5.1 Extração da PVB dos fios revestidos

Os fios dentais, tratados e não tratados com $\text{KMnO}_4/\text{HNO}_3$ foram pesados em balança analítica (Tabela 2) com a finalidade de obtermos a obtendo-se o peso correspondente ao revestimento de PVB em cada amostra (peso da amostra de fio dental com revestimento – peso do fio dental sem revestimento). Dos fios tratados e revestidos com PVB, foram selecionadas de cada concentração a amostra que apresentou a maior massa residual (500 μ g/mL:1280 μ g/mL; 1000 μ g/mL: 220 μ g/mL; 2000 μ g/mL:1310 μ g/mL e 3000 μ g/ mL: 980 μ g/mL).

Todas as amostras foram identificadas e colocadas individualmente em tubos Eppendorf, sendo acrescentado 1mL de etanol absoluto a cada tubo com o objetivo de extrair das amostras o extrato de PVB. As amostras foram colocadas no banho ultrassônico durante 24 minutos. Em seguida, o material extraído foi diluído nas concentrações de 250, 500 e 750 μ g/mL e reservadas para as análises de CLAE e da atividade antioxidante (DPPH) dos fios

revestidos. Já as amostras de fios dentais que não receberam tratamento com permanganato de potássio e ácido nítrico (NT) e foram revestidas nas concentrações 500, 1000, 2000 e 3000µg/mL, foram selecionadas as que obtiveram maior massa residual, respectivamente, 530µg/mL, 270µg/mL, 630µg/mL e 470µg/mL.

Tabela 2 – Peso das amostras selecionadas de fios dentais tratados (T) e não tratados (NT) com $\text{KMNO}_4/\text{HNO}_3$

AMOSTRAS	CONCENTRAÇÕES			
	500µg/mL	1000 µg/mL	2000µg/mL	3000µg/MI
Fios dentais tratados com $\text{KMNO}_4/\text{HNO}_3$ (T)	1280 µg/mL	220 µg/mL	1310 µg/mL	970 µg/mL
Fios dentais não tratados com $\text{KMNO}_4/\text{HNO}_3$ (NT)	530 µg/mL	270 µg/mL	630 µg/mL	470 µg/mL

4.5.2 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

Os fios foram processados como descrito no item 4.5.2, com o objetivo de extrair o revestimento PVB das amostras de fios dentais nas concentrações de 500, 1000, 2000 e 3000µg/mL. E a seguir, a identificação e quantificação de marcadores no EARP foi realizada seguindo-se a metodologia de Nascimento et al. (2016), usando cromatografia líquida de ultra eficiência acoplada a um detector de arranjo de diodo (UPLC-DAD) de Shimadzu. O equipamento consistiu dos seguintes módulos: bomba de alta pressão (modelo LC-20ADXR), degaseificador (modelo DGU-20A3R), auto-injetor (modelo SIL-20AXR), coluna cromatográfica em estufa, detector de arranjo de fotodiodos (modelo EPDM-20A), controlador (modelo CBM-20A) e software Shimadzu Labsolution.

A separação dos flavonoides ocorreu utilizando-se uma coluna de fase reversa (C18, 150mm 4,6mm; 5µm) e uma fase móvel composta pelo solvente A (água Milli-Q) e solvente B (acetonitrila), bombeados a uma vazão de 0,3mL/min. O gradiente inicial de eluição consistiu de 70% de água (A) e 30% de

acetonitrila (B) (v/v). A coluna foi eluída variando-se a porcentagem de (B) da seguinte forma: 0-2 min 30% B, 2-5 min 36% B, 5-8 min 46% B, 8-11 min 52% B, 11-14 min 52% B, 14-17 min 57% B, 17-20 min 62% B, 20-24 min 62% B, 24-28 min 68% B, 28-32 min 72% B, 32-36 min 90% B, 36-42 min 97% B, 42-50 min 100% B, 50-55 min 100% B, 55-57 min acetonitrila foi reduzida para 30% e esta condição foi mantida até 60 min.

Este método longo foi desenvolvido com o objetivo de lavar a coluna durante a análise com acetonitrila a 100%, evitar a falta de precisão e perda de precisão durante o ensaio de aprisionamento, e evitar incrustação em coluna e acúmulo excessivo de pressão por retenção irreversível de compostos apolares, terpenos e guttiferonas presentes no extrato de FR brasileiro. O volume de injeção foi de 2 μ L. Os padrões analíticos dos flavonoides descritos como marcadores (daidzeína, liquiritigenina, pele de pinobaksina, isoliquiritigenina, formononetina, pinocembrina e biochanina que foram preparados em uma solução estoque de 10.000 μ g/mL, usando acetona como solvente e diluídos a uma concentração de 500 μ g/mL. Todo o experimento foi realizado em triplicata.

4.5.3 Análise do potencial antioxidante por DPPH

O reagente de DPPH (0,004 mM) foi pesado em uma balança analítica da marca (©Shimadzu AX 200) e solubilizado em 100 mL de etanol absoluto, para preparação de uma solução estoque de 100 mL de DPPH em etanol na concentração de 0,04 mg/mL. Essa solução foi acondicionada livre de luminosidade e mantida a 4°C, com aspecto fluido e coloração violeta.

Os fios foram processados como descrito no item 4.5.1, com o objetivo de extrair, das amostras de fios dentais revestidos, o extrato de PVB.

Após a extração da própolis dos fios dentais a solução de etanol/própolis foi transferida para um balão volumétrico de 5mL, onde adicionamos 2mL da solução de DPPH e completamos o balão volumétrico até 5mL com etanol absoluto. As soluções contidas nos balões volumétricos foram colocadas em repouso. Após 30 min de repouso, na ausência de luz, foi medida a absorbância em um espectrofotômetro (©Shimadzu UV-1280), em modo

fotometria com comprimento de onda (λ) de 518 nm. Todo o experimento foi realizado em triplicata.

A capacidade antirradicalar foi expressa através do IC₅₀ ($\mu\text{g/mL}$), que corresponde à concentração necessária de amostra para diminuir em 50% a absorbância inicial do radical DPPH. O cálculo do IC₅₀ foi conduzido a partir de uma regressão linear utilizando os dados colorimétricos obtidos a partir da seguinte equação:

$$AA (\%) = \frac{(A_{\text{controle}} - A_{\text{amostra}}) \times 100\%}{(A_{\text{controle}})}$$

Onde A (controle) = absorbância da solução do controle negativo e A (amostra) = absorbância das dissoluções dos referidos grupos.

4.5.4 *Análise da superfície em microscopia eletrônica de varredura (MEV)*

O estudo da morfologia das moléculas dos fios dentais tratados com permanganato de potássio e ácido nítrico e revestidos com extrato de PVB nas concentrações de 500, 1000, 2000 e 3000 $\mu\text{g/mL}$ foi realizado no Laboratório de Química, Campus Maceió, do Instituto Federal de Alagoas (IFAL), em Microscópio Eletrônico de Varredura, modelo Vega3 da marca ® Tescan. Em porta-amostra circular de aço (*stub*) foram colocadas tiras finas de carbono dupla face, para fazer o depósito da diferentes amostras de fios dentais secas sintetizadas e dos materiais gerados T_{onset} , T_{endset} e T_{final} . A metalização das amostras realizada em metalizador (“*Sputter Coater*”) modelo *Quorum Q150R ES*, com alvo de ouro durante 2 minutos (Corrente de 10mA). As imagens foram visualizadas em de 10 μm , 100 μm e 200 μm .

4.5.5 *Espectroscopia no Infravermelho com transformadas de Fourier (FTIR)*

A análise das amostras de fios dentais tratadas com a solução de permanganato de potássio mais ácido nítrico e revestidos com extrato de PVB nas concentrações de 500, 1000, 2000 e 3000 $\mu\text{g/mL}$, foram realizadas com o método amostragem ATR (Reflectância Total Atenuada) com Espectroscopia em Infravermelho com transformadas de Fourier (FTIR), nos modos absorbância (A) e Transmitância (T), com uma faixa de comprimento de onda de 4000 cm^{-1} a 600 cm^{-1} , resolução de 64 varreduras.

Os espectros foram analisados utilizando-se o software GraphPad Prisma, para análises dos grupos funcionais presentes nos dois modos (absorbância e transmitância).

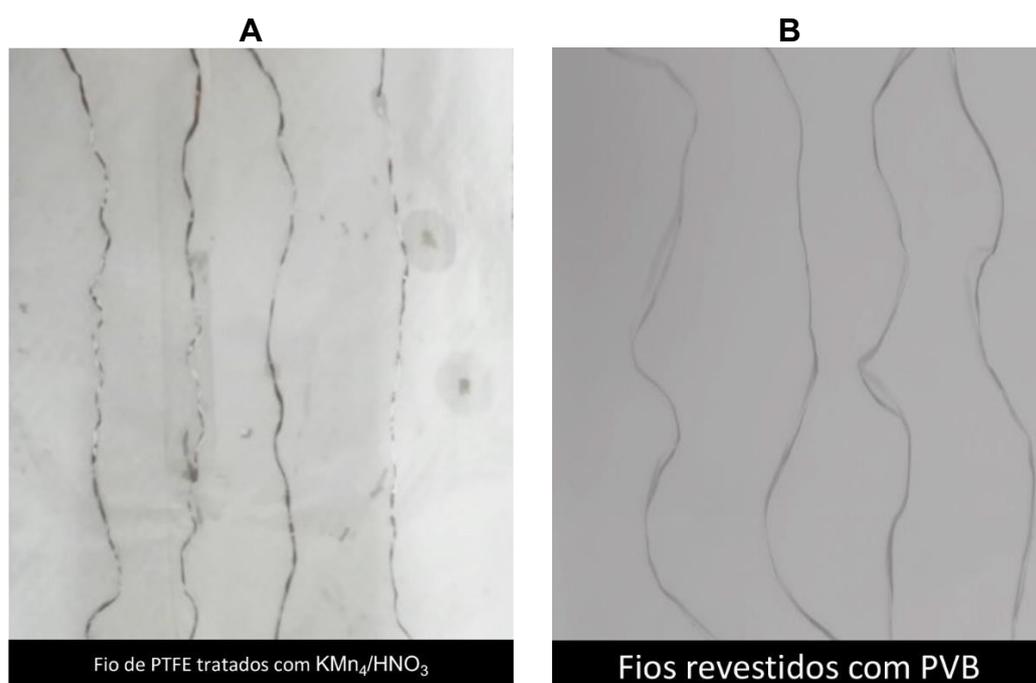
RESULTADOS

5 RESULTADOS

5.1 Aspecto macroscópico

Após o tratamento com a solução de $\text{KMnO}_4/\text{HNO}_3$ e antes do revestimento com extrato de PVB, os fios dentais mostram-se escurecimento superficial não uniforme. Depois de revestidos com extrato de PVB, os fios apresentaram coloração (Figura 5).

Figura 5 - Aspecto macroscópico das amostras de fios dentais após tratamento com a solução de $\text{KMnO}_4/\text{HNO}_3$ (5-A) e depois de serem tratados e revestidos com extrato de PVB (5-B).



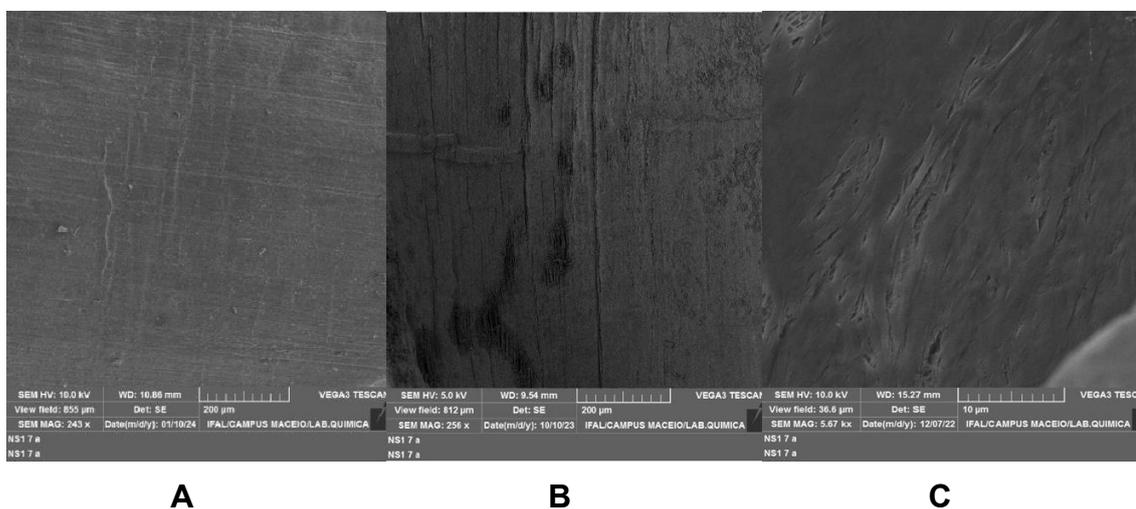
Fonte: autoria própria (2024)

5.2 Aspecto microscópico

As imagens em microscopia eletrônica de varredura (MEV) dos fios de PTFE tratadas e não tratadas com $\text{KMnO}_4/\text{HNO}_3$ e revestidos com PVB são mostradas na Figura 6. A Figura 6A mostra que a amostra não tratada tinha superfície lisa. A amostra tratada com $\text{KMnO}_4/\text{HNO}_3$, no entanto, apresentou uma superfície com aspecto mais poroso e com ranhuras (Figura 6B). O fio tratado e revestido com extrato de PVB aparenta ter sido recoberto com uma substância que lhe conferiu exibiu uma superfície mais uniforme.

As ranhuras foram geralmente caracterizadas como compostos inorgânicos quando comparadas com polímeros, especialmente para o PTFE macio. característica hidrofílica da superfície de PTFE tratada (Fu *et al.*, 2014).

Figura 6 - Imagens MEV do fio de PTFE sem nenhum tratamento (A), tratado com $\text{KMnO}_4/\text{HNO}_3$ (B) e após revestimento com extrato de PVB (C)



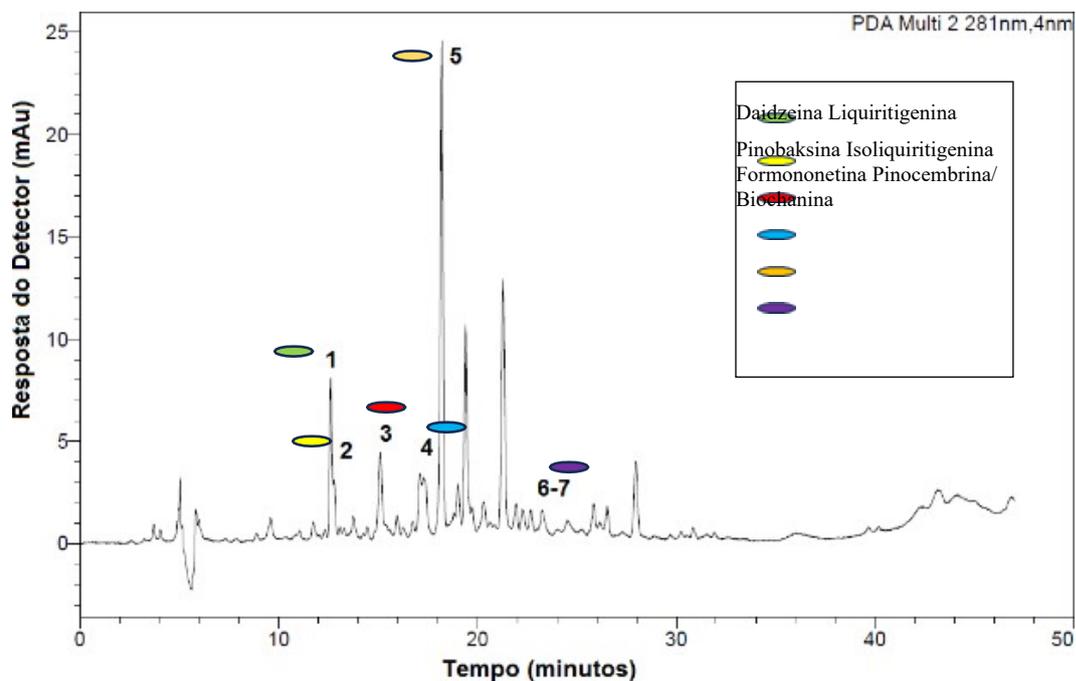
Fonte: autoria própria (2024)

5.3 Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE)

Os resultados da caracterização química dos fios dentais revestidos com extrato de PVB nas amostras por CLAE mostraram concentrações variadas isoflavonoides como a daidzeína, liquiritigenina, pinobanksina, isoliquiritigenina, formononetina, pinocebrina e biochanina (Figura 7 e Tabela 3). O caráter químico das amostras de fios dentais tratadas previamente com $\text{KMn}_4/\text{HNO}_3$ (Figura 8 e Tabela 4) e as sem tratamento prévio com $\text{KMn}_4/\text{HNO}_3$ (Figura 9 e Tabela 5), revestidas com extrato de PVB (NT) $3000\mu\text{g}/\text{mL}$, comparadas ao extrato de PVB LT2 FV de $500\mu\text{g}/\text{mL}$ (Figura 5 e Tabela 3) demonstrou uma maior concentração da daidzeína com $3,65\mu\text{g}/\text{mL}$ no comprimento de onda de 249nm quando comparada a amostra do fio dental tratado com (T) $3000\mu\text{g}/\text{mL}$; da liquiritigenina com $6,71\mu\text{g}/\text{mL}$ de concentração no comprimento de onda de 275nm e da formononetina com $7,89\mu\text{g}/\text{mL}$ de concentração no comprimento de onda de 249nm .

Portanto, a atividade na amostra de fio dental que não recebeu tratamento prévio com $\text{KMn}_4/\text{HNO}_3$ (NT) $3000\mu\text{g}/\text{mL}$ apresentou uma maior concentração dos componentes do extrato de PVB quando comparado ao fio dental previamente tratado com $\text{KMn}_4/\text{HNO}_3$ (T) $3000\mu\text{g}/\text{mL}$.

Figura 7 - Análise do grupo dos isoflavonoides: 1-daidzeína; 2-liquiritigenina; 3-pinobanksina; 4- isoliquiritigenina; 5-formononetina; 6-7-pinoembrina e biochanina no extrato de PVB LT2 FV 500µg/mL



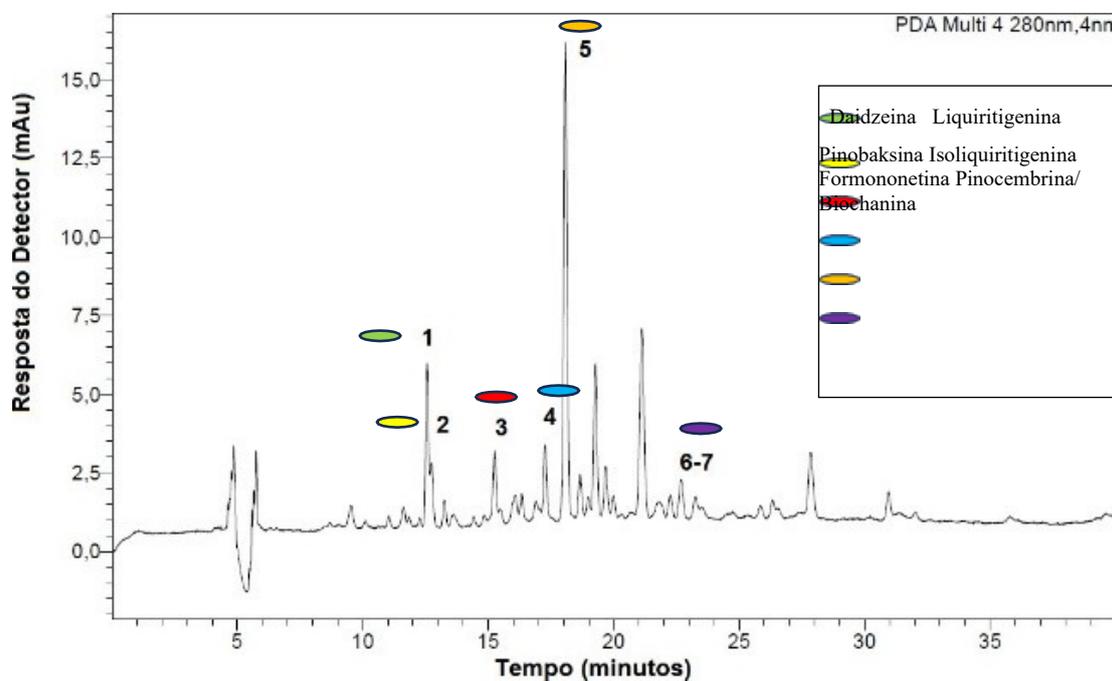
Fonte: autoria própria (2024).

Tabela 3 - Extrato de PVB LT2 FV 500µg/mL

Isoflavonoides	TR	Área	Conc. (µg/mL)	λ (nm)
Daidzeína	12,79	41.373	2,86	249nm
Liquiritigenina	12,61	74.144	6,20	275nm
Pinobanksina	15,95	46.736	1,06	289nm
Isoliquiritigenina	17,28	126.210	6,19	366nm
Formononetina	18,13	147.940	6,90	249nm
Pinoembrina	23,24	10.878	0,62	290nm
Biochanina	23,31	23.328	0,67	260nm

Fonte: autoria própria (2024).

Figura 8 - Análise do grupo dos isoflavonoides: 1-daidzeína; 2-liquiritigenina; 3-pinobanksina; 4- isoliquiritigenina; 5-formononetina; 6-7-pinocebrina e biochanina no fio dental com tratamento com $\text{KMnO}_4/\text{HNO}_3$ revestido com extrato de PVB a $3000\mu\text{g/mL}$ (T3) a $9700\mu\text{g/mL}$



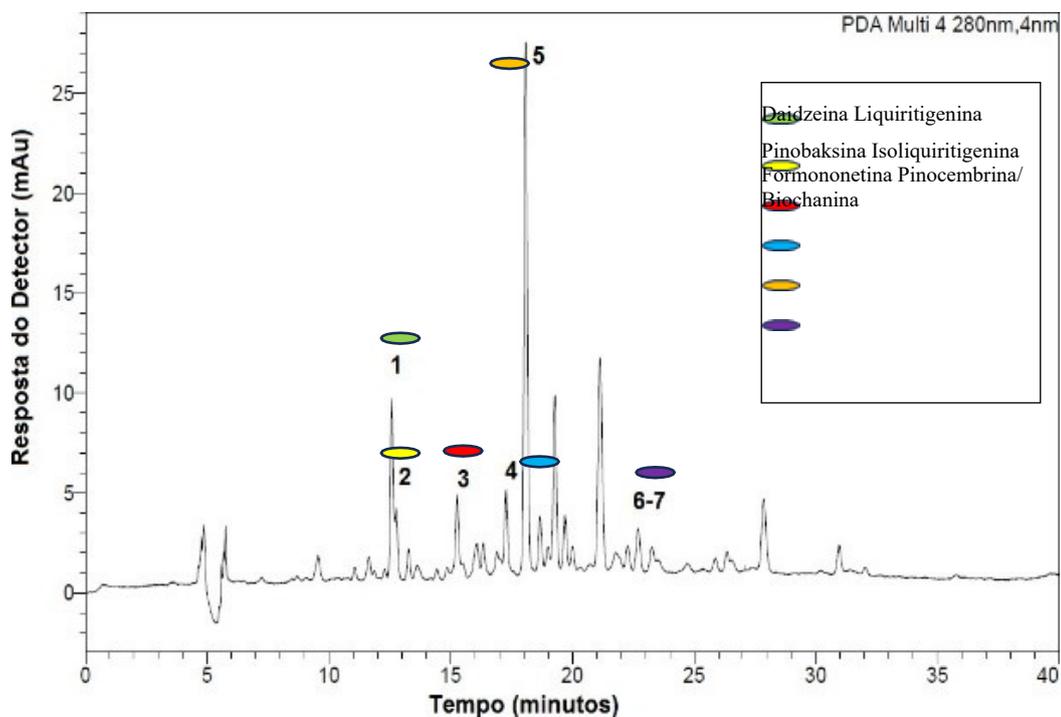
Fonte: autoria própria (2024).

Tabela 4 - Fio dental com tratamento com $\text{KMnO}_4/\text{HNO}_3$ revestido com extrato de PVB a $3000\mu\text{g/mL}$ (T3) a $9700\mu\text{g/mL}$

Isoflavonoides	TR	Área	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	λ (nm)
Daidzeína	12,73	30.903	2,14	249nm
Liquiritigenina	12,56	46.451	3,89	275nm
Pinobanksina	16,09	14.427	0,36	289nm
Isoliquiritigenina	17,289	66.515	3,28	366nm
Formononetina	18,10	96.776	4,52	249nm
Pinocebrina	23,24	7.612	0,45	290nm
Biochanina A	23,51	10.260	0,34	260nm

Fonte: autoria própria (2024).

Figura 9 - Análise do grupo dos isoflavonoides: 1-daidzeína; 2-liquiritigenina; 3-pinobanksina; 4- isoliquiritigenina; 5-formononetina; 6-7-pinoembrina e biochanina no fio dental sem tratamento com $\text{KMnO}_4/\text{HNO}_3$ revestidos com extrato de PVB a $3000\mu\text{g/mL}$ (NT3) a $9400\mu\text{g/mL}$



Fonte: autoria própria (2024).

Tabela 5 - Fio dental sem tratamento com $\text{KMnO}_4/\text{HNO}_3$ revestidos com extrato de PVB a $3000\mu\text{g/mL}$ (NT3) a $9400\mu\text{g/mL}$.

Isoflavonoides	TR	Área	Conc. ($\mu\text{g/mL}$)	λ (nm)
Daidzeina	12,75	52.908	3,65	249nm
Liquiritigenina	16,08	80.243	6,71	275nm
Pinobanksina	16,08	29.476	0,69	289nm
Isoliquiritigenina	17,29	116.542	5,72	366nm
Formononetina	18,11	169.228	7,89	249nm
Pinoembrina	23,26	20.373	1,12	290nm
Biochanina	23,53	19.695	0,58	260nm

Fonte: autoria própria (2024).

5.4 Análise do potencial antioxidante dos fios por DPPH

Segundo Barreto *et al.* (2022), extratos que apresentaram maiores atividades antioxidantes também exibiram maior atividade antimicrobianas e elevados teores totais de compostos fenólicos e flavonoides.

O 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) é um teste popular, rápido, fácil e acessível para a medição de propriedade antioxidante, que inclui o uso de radicais livres para avaliar o potencial de substâncias para servirem como fornecedoras de hidrogênio ou eliminadores de radicais livres (ERL). A técnica de teste do DPPH está associada à eliminação do DPPH, que é um radical livre estabilizado. O radical livre DPPH interage com um elétron estranho para produzir uma forte absorbância em 517 nm, ou seja, uma tonalidade roxa. Um antioxidante ERL, por exemplo, reage com o DPPH para formar DPPHH, que tem uma absorbância menor que o DPPH devido à menor quantidade de hidrogênio. É radical em comparação à forma DPPH-H, pois causa descoloração, ou tonalidade amarela, à medida que aumenta o número de elétrons absorvidos. A descoloração afeta significativamente a capacidade de redução. Assim que as soluções DPPH são combinadas com a fonte do átomo de hidrogênio, o estado inferior da difenilpicrilhidrazina é formado, perdendo sua cor violeta (Balyan *et al.*, 2022).

A porcentagem de atividade antioxidante (%AA) é equivalente à quantidade de DPPH consumida pelo antioxidante, sendo a quantidade de antioxidante necessária para decrescer a concentração inicial de DPPH em 50% denominada concentração eficiente (CE₅₀), ou concentração inibitória (CI₅₀). Quanto maior o consumo de DPPH por uma amostra, menor será a sua CE₅₀ e maior a sua atividade antioxidante. Ou seja, quanto menor for a CE₅₀, menor será a quantidade de extrato necessária para oxidar 50% dos radicais DPPH disponíveis na reação. Sendo assim, quanto maior a concentração da amostra e menor a absorbância, maior o consumo de DPPH (Kasioti *et al.*, 2017).

Na Figura 10, apresenta-se o percentual antioxidante dos fios dentais revestidos com extrato de PVB, com e sem tratamento prévio. As amostras de fios dentais revestidas com extrato de PVB a 500µg/mL diluída na

concentração de 250µg/mL, obtiveram uma capacidade de antioxidante, isto é, uma CE_{50} inferior a 50%, tanto no fio dental que não recebeu o tratamento prévio com $KMnO_4/HNO_3$ (NT) 500µg/mL como o fio tratado com $KMnO_4/HNO_3$ (T) 500µg/mL, com menos de 20%, demonstrando a ineficiência de sequestro dos radicais livres.

Já os fios dentais revestidos com extrato de PVB a 1000µg/mL diluído na concentração de 250µg/mL sem tratamento $KMnO_4/HNO_3$ (NT) 1000µg/mL apresentou uma capacidade antioxidante de 40% quando comparado ao fio dental que recebeu tratamento prévio com $KMnO_4/HNO_3$ (T) 1000µg/mL, que foi de 30%. Os fios dentais revestidos com extrato de PVB a 2000µg/mL diluído na concentração de 250µg/mL, tanto os sem tratamento com $KMnO_4/HNO_3$ (NT) 2000µg/mL e o com tratamento $KMnO_4/HNO_3$ (NT) 2000µg/mL apresentaram uma capacidade antioxidante menor que 40%.

Na análise dos fios dentais revestidos com extrato de PVB a 3000µg/mL diluído na concentração de 250µg/mL sem tratamento com $KMnO_4/HNO_3$ (NT) 3000µg/mL e o com tratamento $KMnO_4/HNO_3$ (T) 3000µg/mL apresentaram uma capacidade antioxidante inferior a 40%.

Nos fios dentais analisados nas concentrações de 500µg/mL e revestidos com extrato de PVB a 500µg/mL, o que não recebeu tratamento com $KMnO_4/HNO_3$ (NT) 500µg/mL obteve uma capacidade antioxidante maior que 40%, comparado ao que recebeu tratamento com $KMnO_4/HNO_3$ (T) 500µg/mL apresentaram uma capacidade antioxidante menor que 20%.

Já na análise dos fios dentais que não receberam tratamento prévio com $KMnO_4/HNO_3$ e revestidos nas concentrações de 2000µg/mL (NT) 2000µg/mL e 3000µg/mL (NT) 3000µg/mL obtiveram uma absorbância acima de 50% e 55%, respectivamente. Ambos fios dentais que receberam tratamento com $KMnO_4/HNO_3$ (T) 2000µg/mL e (T) 3000µg/mL apresentaram uma capacidade antioxidante abaixo de 50%.

Os fios dentais sem tratamento com $KMnO_4/HNO_3$ diluídos na concentração de 750µg/mL revestidos com extrato de PVB a 500µg/mL (NT) 500µg/mL e a 1000µg/mL (NT) 1000µg/mL e os que não receberam tratamento com $KMnO_4/HNO_3$ obtiveram uma capacidade antioxidante abaixo de 50%, não havendo diferença significativa entre os fios dentais que

não receberam tratamento (NT) 500µg/mL e (NT) 1000µg/mL e os fios dentais que foram tratados (T) 500µg/mL e (T) 1000µg/mL.

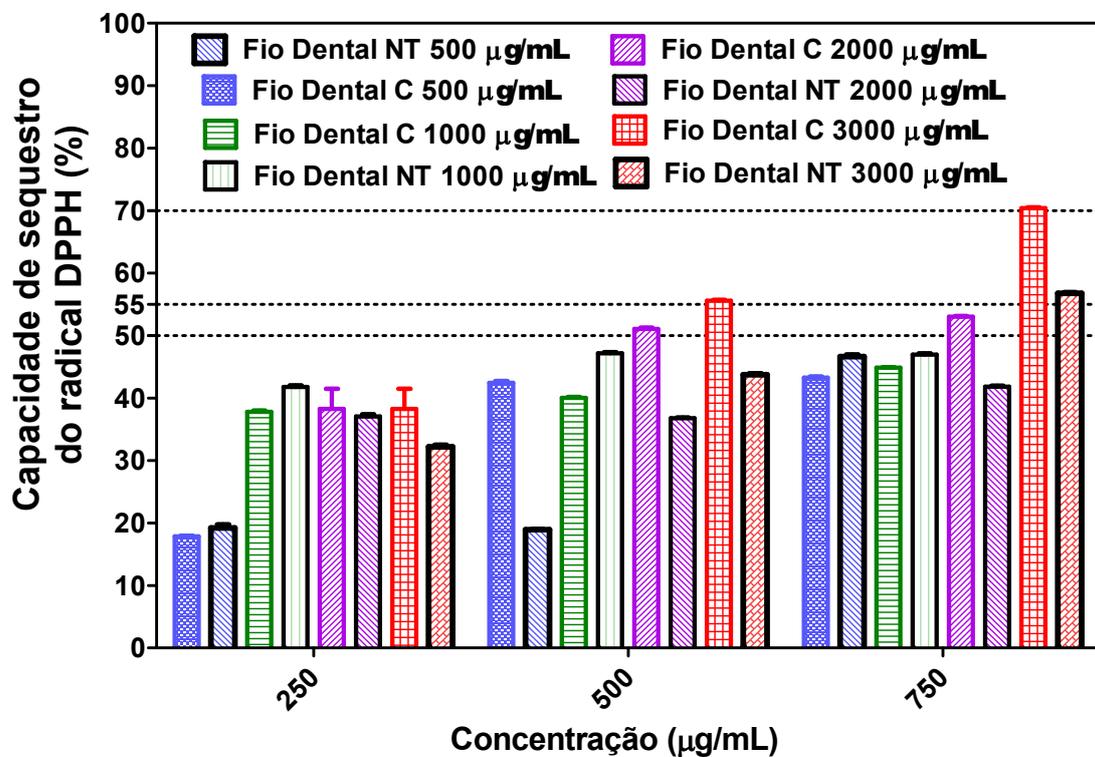
Na análise das amostras de fios dentais diluídas na concentração a 750µg/mL e revestidas com extrato de PVB a 2000µg/mL sem tratamento com $\text{KMnO}_4/\text{HNO}_3$ (NT) 2000µg/mL apresentou uma capacidade antioxidante acima de 50%, já os que receberam tratamento com $\text{KMnO}_4/\text{HNO}_3$ (T) 2000µg/mL, apresentou uma capacidade antioxidante abaixo de 50%.

Ao analisarmos os fios dentais na concentração a 750µg/mL revestidos com extrato de PVB a 3000µg/mL, ambos ultrapassaram 50% capacidade antioxidante (CE_{50}). Os fios dentais que não receberam tratamento com $\text{KMnO}_4/\text{HNO}_3$ (NT) 3000µg/mL com 70% da capacidade antioxidante e os que receberam tratamento com $\text{KMnO}_4/\text{HNO}_3$ (T) 3000µg/mL com 55% de absorvância, respectivamente.

A Figura 10, mostra que dos fios dentais revestidos com extrato de PVB nas concentrações de 2000 e 3000µg/mL, e aqueles que não receberam tratamento prévio com $\text{KMnO}_4/\text{HNO}_3$ (NT) mostram uma maior capacidade de sequestro de radicais livres do que os que foram tratados com $\text{KMnO}_4/\text{HNO}_3$ (T). Contrariamente, os fios revestidos com extrato de PVB nas concentrações de 500µg/mL e 1000µg/mL apresentaram maior atividade antioxidante quando receberam o tratamento prévio com $\text{KMnO}_4/\text{HNO}_3$ (T), exceto o fio dental na concentração de 500µg/mL.

O tratamento dos fios com $\text{KMnO}_4/\text{HNO}_3$ teve a finalidade de aumentar a capacidade de molhamento da superfície de PTFE pelo extrato de PVB (Fu *et al.*, 2014). Possivelmente, em concentrações mais altas a capacidade de penetração no fio base seja menor devido à viscosidade e outras interações químicas, o que mantém o extrato de PVB mais superficial e proporciona maior solubilidade durante a extração para o teste. O inverso pode ter acontecido com os fios revestidos em menor concentração, havendo maior penetração no interior do fio e reduzindo o potencial de extração do PVB que foi revestidos.

Figura 10 - Análise da capacidade de sequestro dos radicais DPPH (%) quanto a concentração em ($\mu\text{g/mL}$) em amostras de fios dentais sem tratamento com $\text{KMnO}_4/\text{HNO}_3$ (NT), revestidos com extrato de PVB a 500, 1000, 2000 e 3000 $\mu\text{g/mL}$

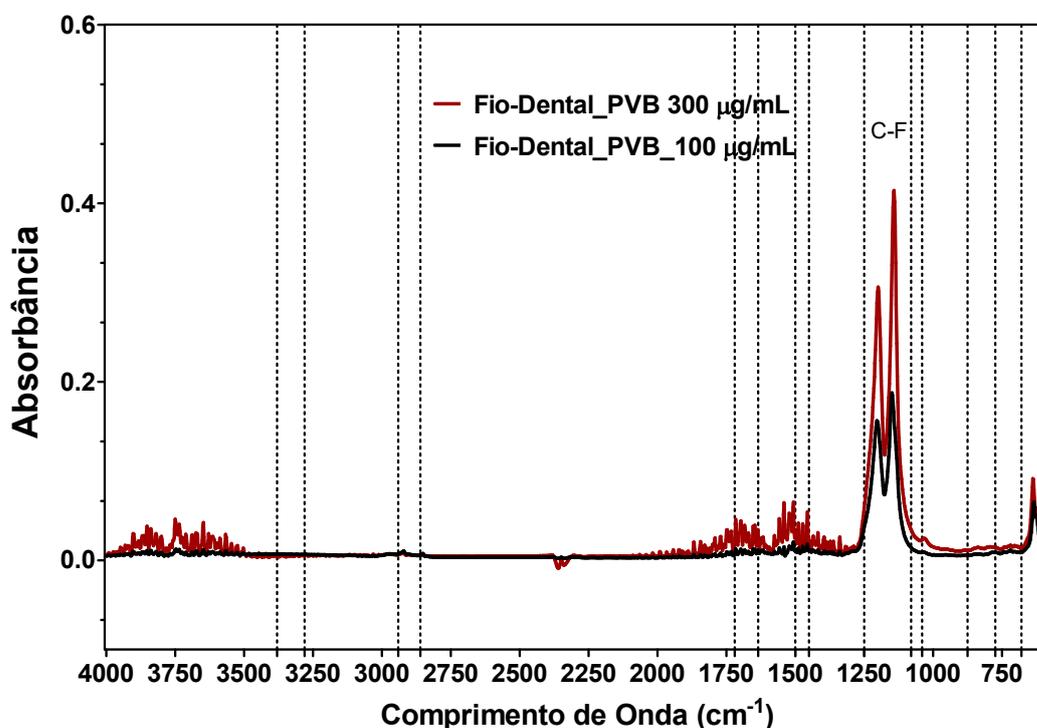


Fonte: autoria própria (2024).

5.5 Espectroscopia no Infravermelho com transformadas de Fourier (FTIR)

Com o teste de FTIR podemos verificar a presença de extrato de PVB aderido ao fio dental quando não tratado e revestidos nas concentrações de 300 $\mu\text{g/mL}$ e 100 $\mu\text{g/mL}$ (Figura 10), detectamos a absorbância do extrato de PVB menor que 0,2 em um comprimento de onda de 4000 a 3500 cm^{-1} e 1750 a 1250 cm^{-1} com presença de ligações carbono-flúor (C-F), mostrando-se ineficaz (Figura 10)

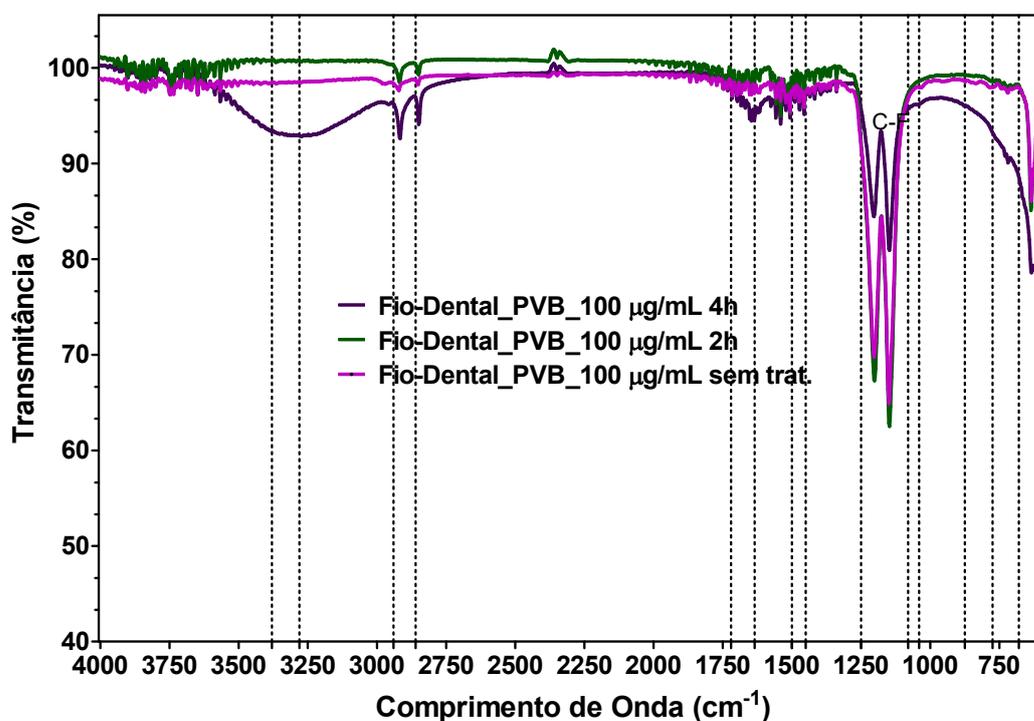
Figura 11 - Análise da absorbância de amostras de fios dentais revestidos com extrato de PVB nas concentrações de 100 $\mu\text{g/mL}$ e 300 $\mu\text{g/mL}$



Fonte: autoria própria (2024).

Quanto a transmitância comparamos fios tratados com $\text{KMnO}_4/\text{HNO}_3$ e não tratados, revestidos com extrato de PVB a $100\mu\text{g}/\text{mL}$. O fio dental submetido ao tratamento por período de 2 horas e o sem tratamento em percentual de 100%, não houve revestimento significativo com extrato de PVB (Figura 11).

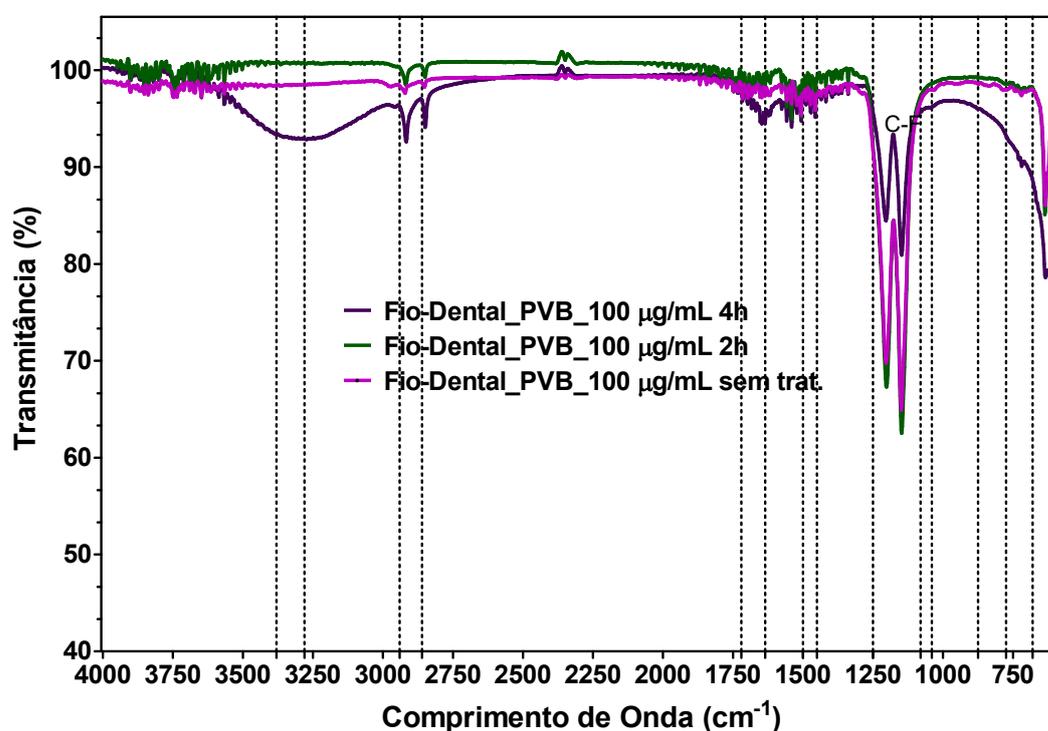
Figura 12 - Análise da transmitância de amostras de fios dentais revestidos com extrato de PVB na concentração de $100\mu\text{g}/\text{mL}$ com tratamento com $\text{KMnO}_4/\text{HNO}_3$ e sem tratamento com $\text{KMnO}_4/\text{HNO}_3$.



Fonte: autoria própria (2024)

Porém, quando comparado o fio dental sem tratamento revestidos com extrato de PVB na concentração de $100\mu\text{g}/\text{mL}$, tratados por período de 2h e por um período de 4h, percebemos que segundo ao percentual de transmitância, do fio dental tratado por um período de 4 h, apresentou um maior revestimento de PVB (Figura 12).

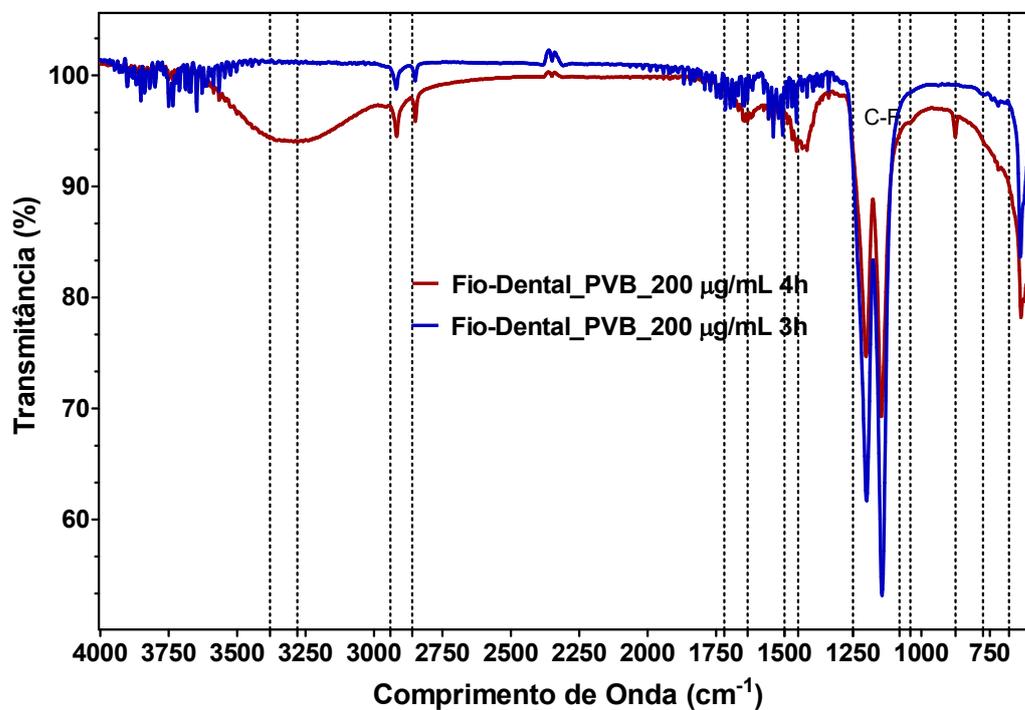
Figura 13 - Análise da transmitância de amostras de fios dentais revestidos com extrato de PVB na concentração de 100µg/mL tratado com $\text{KMnO}_4/\text{HNO}_3$ por 2 horas, por 4 horas e sem tratamento com $\text{KMnO}_4/\text{HNO}_3$



Fonte: autoria própria (2024)

O percentual de transmitância ($T\%$) no fio dental tratado por um período de 4 horas comparado ao fio dental tratado por 2 horas, houve um melhor revestimento do fio dental com solução de extrato de PVB após 4 horas, ambos revestidos com solução de extrato de PVB de 100µg/mL (Figura 13).

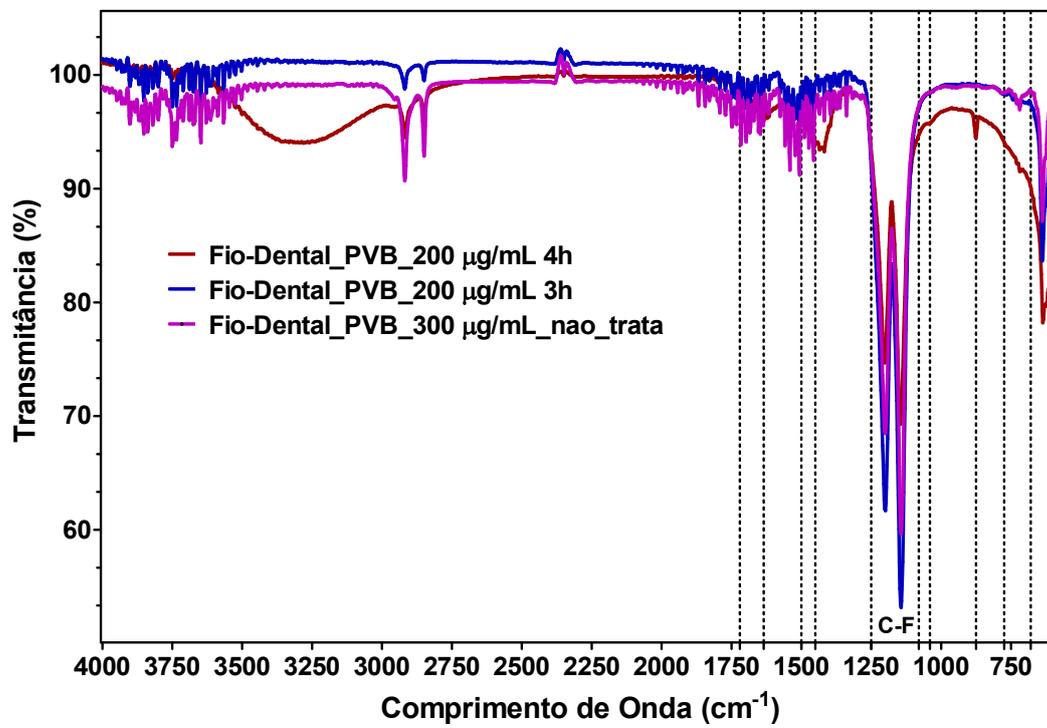
Figura 14 - Análise da transmitância de amostras de fios dentais revestidos com extrato de PVB na concentração de 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$, tratado com $\text{KMnO}_4/\text{HNO}_3$ por 3 horas e 4 horas.



Fonte: autoria própria (2024)

Quando comparados aos fios que receberam tratamento com $\text{KMnO}_4/\text{HNO}_3$ e revestidos com extrato de PVB a 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$, aos não tratados previamente e revestidos com solução de extrato de PVB a 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$, houve maior presença de própolis em fios submetidos ao tratamento apenas em alguns pontos (Figura 14).

Figura 15 - Análise da transmitância de amostras de fios dentais revestidos com extrato de PVB nas concentrações de 200 $\mu\text{g/mL}$, tratados com $\text{KMnO}_4/\text{HNO}_3$ por 3 horas e por 4 horas, e fio dental revestido na concentração de 300 $\mu\text{g/mL}$ sem tratamento com $\text{KMnO}_4/\text{HNO}_3$



Fonte: autoria própria (2024)

DISCUSSÃO

6 DISCUSSÃO

O experimento foi realizado com fios dentais de politetrafluoretileno (PTFE). O PTFE, segundo Xu *et al.* (2012), é um polímero que possui conformação helicoidal e com polaridade assimétrica, utilizado pela indústria através por meio do processo de estiramento, devido sua resistência química estável e biocompatibilidade, e sua resistência física, com baixa constante dielétrica (Xu *et al.*, 2012).

De acordo com Dorfer *et al.* (2001), o fio dental de PTFE é mais recomendado que o fio dental de nylon, por sua eficácia na limpeza interproximal dos dentes superiores (região dos molares), devido a qualidade do deslizamento, não desfiando facilmente por ser um fio de monofilamento, contrário ao fio dental de nylon (Dorfer *et al.*, 2001).

Segundo Canto *et al.* (2011), o PTFE, é um dos materiais mais utilizados na fabricação de fios dentais por considerado um material de alto desempenho comparado ao nylon, devido sua alta resistência química e a impactos (Canto *et al.*, 2011).

A propriedade hidrofóbica do PTFE confere a esse material uma alta capacidade de tensão estática, entre 5 kv ~ 25 kv. Essa superfície hidrofóbica (energia livre superficial de 18,6 mJ/m²), com baixa polarização das ligações Carbono – Flúor (C-F), por ser um fluoropolímero com estrutura molecular (-CF₂-CF₂)_n (Asfarali; Periyasamy; Kim *et al.*, 2023).

A modificação da superfície do PTFE, alvo de pesquisa nos últimos anos, tornando-a mais equilibrada, com uma superfície adesiva e com mais molhabilidade, sem que ocorra modificação da membrana de PTFE. Dentre os métodos físicos e químicos, o tratamento do plasma tem menor custo, é limpo e suporta aumento de carga, não alterando a propriedade do volume do material (Asfarali; Periyasamy; Kim *et al.*, 2023).

A alteração da superfície com o método do tratamento com plasma otimiza a morfologia do PTFE, reduz a hidrofobicidade, diminuindo o ângulo de 140° para 108°, em um curto espaço de tempo. A intensidade do CF₂ diminuiu

com o aumento da intensidade de desfluoração, proporcionando a formação de novos grupos polares (Asfarali; Periyasamy; Kim *et al.*, 2023).

Para Fu *et al.* (2014), essa modificação da superfície de hidrofóbica para hidrofílica não pode ser causada pela desfluoração do PTFE, mas pelo tratamento com KMnO_4 e HNO_3 , mas pelo tratamento prévio com óxidos de manganês hidrofílicos ou hidróxidos de manganês que cobrem a superfície do substrato de PTFE, formando uma tampa superior hidrofílica melhorando sua adesão a outros materiais (Fu *et al.*, 2014).

As amostras de fios dentais não tratadas com permanganato de potássio e ácido nítrico apresentaram uma menor capacidade de adesão a própolis vermelha, que recobriu apenas a superfície. Em seus estudos, Xu *et al.* (2012) e Fu *et al.* (2014), afirmam que o PTFE por apresentar fortes interações (C-F), o que dificulta a interação com solutos hidrofóbicos em água devido sua inércia química e física. Essas membranas de PTFE são facilmente sujas por absorção, diminuindo o fluxo, a regeneração frequente da membrana e vida útil mais curta. Existem alguns esforços para melhorar a hidrofiliabilidade do PTFE através de técnicas com irradiações com feixe de elétrons, modificação de plasma de pressão normal, polimerização de enxerto de superfície e tratamentos químicos (Xu *et al.*, 2012; Fu *et al.*, 2014).

Como demonstrado nesse estudo, as amostras de fio dental que receberam tratamento previamente com permanganato de potássio e ácido nítrico tiveram um aumento da capacidade de molhamento da superfície, aumentando a capacidade de penetração e reduzindo o potencial de extração do extrato de PVB, mesmo em menores concentrações. O tratamento das amostras de fios dentais com permanganato de potássio e ácido nítrico metodologia de Fu *et al.* (2014)

As amostras de fios dentais tratadas com permanganato de potássio e ácido nítrico apresentaram alteração macroscópica como a mudança de coloração de branca para preta de forma descontínua, e após revestimento com extrato de própolis apresentaram cor marrom e alteração microscópica (MEV) caracterizada pela presença de ranhuras e aspecto mais poroso da superfície como demonstrado por Fu *et al.* (2014) em seus estudos, onde houve mudança superficial da folha de PTFE. Ao compararmos as amostras espectros de fios tratados analisados com FTIR em períodos durante 2h, 3h e

4h a $45^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, observamos um menor revestimento com solução do extrato de PVB, nos períodos de 3h quando comparado ao tratado por um período de 4h, mesmo em menores concentrações. Segundo a metodologia adotada por Fu *et al.* (2014), o PTFE deve receber tratamento na solução de permanganato de potássio e ácido nítrico deve ser realizada por um período de 5h a 100°C .

As amostras de fios dentais tratados com permanganato de potássio e ácido nítrico por 5h a $45^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, tiveram uma menor capacidade de sequestro do radical DPPH, não pela ineficiência do tratamento prévio dos fios, mas pelo aumento da capacidade do extrato de própolis vermelha aderir nesses fios, já que o tratamento torna a superfície do PTFE mais rugosa pela presença de ranhuras, dificultando sua extração em etanol, diferentemente dos fios não tratados, que apresentam uma superfície lisa, apenas formando uma camada de revestimento de própolis vermelha, facilmente removida em solução de etanol.

CONCLUSÃO

7 CONCLUSÃO

Utilizando a metodologia proposta, foi possível desenvolver um fio dental de PTFE revestido com PVB nas concentrações de 500, 1000, 2000 e 3000 μ g/mL com atividade antioxidante.

PERSPECTIVAS

8 PERSPECTIVAS

1. Testes de aceitação pelos profissionais odontólogos e não odontólogos;
2. Ensaio clínico
3. Avaliação da atividade antimicrobiana dos fios dentais com extrato de PVB

REFER

ÊNCI

AS

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, G.R. *et al.* Estudo Químico e Avaliação Biológica da Própolis Vermelha de Alagoas. **Rev Virtual de Química**, v.10, n.1, p. 2-12, 2018.
- ANSARI, G. *et al.* Comparing the effect of dry and wet brushing on dental plaque removal in children. **Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry**, v.37, n. 3, p. 292-296, 2019.
- ASQUINO, N; VILLARNOB, F. Cepillos interdentes, de la teoría a la práctica. Revisión de literatura e indicaciones clínicas. **Rev Fundação Juan José Carraro**. Acuerdo entre Argentina y España, v. 24, n.44, p. 26-31, 2021.
- ASRAFALI, S.P.; PERIYASAMY, T.; KIM, S.C. Rapid Transformation in Wetting Properties of PTFE Membrane Using Plasma Treatment. **Polymers**, MDP, v. 15, n. 3874, p. 1-16, 2023.
- BALIYAN S. *et al.* Determination of Antioxidants by DPPH Radical Scavenging Activity and Quantitative **Phytochemical Analysis of Ficus religiosa**. **Molecules**, v. 27, n. 4, p.1326, 2022.
- BARRIENTOS, L. *et al.* Chemical and botanical characterization of Chilean propolis and biological activity on cariogenic bacteria *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus*. **Brazilian Journal of Microbiology**, v.44, n. 2, p. 577-585, 2013.
- BITTENCOURT M.L.F. *et al.* Metabolite profiling, antioxidant and antibacterial activities of Brazilian propolis: use of correlation and multivariate analyses to identify potential bioactive compounds. **Food Res Int.**, v. 76, n. 449-57, 2015.
- CANTO, R. B; SCHMITT, N; CARVALHO, J; BILLARDON, R. Experimental

identification of the deformation mechanisms during sintering of cold compacted Polytetrafluoroethylene powders. **Rev. Polymer Engineering and Science**, v. 51, n. 11, p. 2220-2235, 2011.

CAO, X. *et al.* Inhibition of pathogenic microbes in oral infectious diseases by natural products: Sources, mechanisms, and challenges. **Microbiol Res.**, v. 279, p.127548, 2024.

CAPASSO; CASTALDO. Propolis, an old remedy used in modern medicine. **Fitoterapia**, v. 73, n. S1-S6, 2002.

CHINSEMBU, K.C. Plants and other natural products used in the management of oral infections and improvement of oral health. **Acta Trop.**, v. 154, p. 6–18, 2016.

CURUTIU, C. *et al.* Polyphenols of Honeybee Origin with Applications in Dental Medicine. **Antibiotcs (Basel)**, v.9, n.12, p. 856, 2020.

DORFER, C. E. *et al.* T.Gliding Capacity of Different Dental Flosses. **J. of Periodontology**, v. 72, n. 5, p. 672-678, 2001.

FERRAZ, Y. D.; CARVALHO, M. T. D. Comparação da eficácia do fio dental convencional com o Flosser na remoção do biofilme dental em crianças. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 16, e483111638708, p.1-8, 2022.

FRANCHIN, M. *et al.* The use of Brazilian propolis for discovery and development of novel anti-inflammatory drugs. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 153, n. 5, p. 49-55, 2018.

FU, C. *et al.* Investigation on surface structure of potassium permanganate/nitricacid treated poly(tetrafluoroethylene). Applied Surface Science. **Journal Elsevier**, v. 317, p. 771–775, 2014.

JEON, J.G. *et al.* Natural products in caries research: current (limited) knowledge, challenges and future perspective. **Caries Res.**, v.45, p. 243–263, 2011.

JIANG, H. *et al.* Whole-genome analysis of an extensive drug-resistant *Acinetobacter Baumannii* ST195 isolate from a recipient after DCD renal transplantation in China. **Kidney Blood Press Res.**, v.42, n. 6, p. 1247-1257, 2017.

JUG M. *et al.* Modulation of antioxidant, chelating and antimicrobial activity of poplar chemo-type propolis by extraction procedures. **Lebenson Wiss Technol.** v. 57, p. 530–537, 2014.

KASIOTIS, K.M. *et al.* Greek Propolis: Chromatographic Analysis and Antioxidant Activity Study. **PLOS ONE**, v.12, e. 0170077, p. 1-27, 2017.

KAUER, B. *et al.* Self-reported Use of Dental Floss over 13 Years: Relationship with Family Income, Mother's Age and Educational Level. **Rev Oral Health & Preventive Dentistry**, v. 14, n.1, p. 33-39, 2016.

KOJÍ, C.S. *et al.* Avaliação de desempenho de fios dentários pré e pós utilização. **Materiais**, v.15, p. 1522, 2022.

LEITES, A.C.B.R.; PINTO, M.B.; SOUSA, E.R.S. Aspectos microbiológicos da cárie dental. **Salusvita**, Bauru, v. 25, n. 2, p. 239-252, 2006.

MENEZES, M.L.F.V.D. *et al.* A importância do controle do biofilme dentário: uma revisão da literatura. **Revista Eletrônica Acervo Saúde**, Vol Supl. n. 55, e3698, p. 1-12, 2020.

MORAES, L.B.; COHEN, S.C. Um olhar sobre a saúde bucal de pacientes acamados domiciliados cadastrados em unidades da Estratégia Saúde da Família no município de Teresópolis/RJ. **Physis: Revista de Saúde Coletiva**, v. 31, n. 2, e310213, p. 1-19, 2021.

DO NASCIMENTO, T.G. Polymeric Nanoparticles of Brazilian Red Propolis Extract: Preparation, Characterization, Antioxidant and Leishmanicidal Activity. **Nanoscale Res Lett**, v. 11, n. 1, p. 301, 2016.

DO NASCIMENTO, T.G. *et al.* Phytochemical screening, antioxidant and antibacterial activities of some commercial extract of propolis. **J Apic Res.**, v. 57, n. 2, p. 246-54, 2018.

NEDJI, N. *et al.* Antimicrobial activity of Algerian propolis in foodborne pathogens and its quantitative chemical composition. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 4, p. 433-437, 2014.

NEVES, C.W.S. *et al.* Principais métodos de higienização de próteses dentárias removíveis: Uma revisão da literatura. **Braz. J. Hea. Rev.**, v. 3, n. 5, p. 14736-14747, 2020.

OHSUMI, T. *et al.* O uso adjuvante de enxaguatórios bucais com escova de dentes sônica acelera o descolamento de um biofilme de *Streptococcus mutans*: um estudo in vitro. **Saúde Bucal BMC**, v. 20, n. 161, p. 1-10, 2020.

OLDONI, T.L.C. *et al.* Isolation and analysis of bioactive isoflavonoids and chalcone from a new type of Brazilian propolis. *Sep Purif Technol.*, v. 77, n. 2, p. 208-213, 2011.

ORYAN, A.; ALEMZADEH, E.; MOSHIRI, A. Potential role of propolis in wound healing: Biological properties and therapeutic activities. **Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie**, v. 98, p. 469-483, 2018.

OTA, C. *et al.* Atividade da própolis sobre as bactérias isoladas da cavidade bucal. **Lecta-UFS**, v.16, n.1, p.73-77, 1998.

PETER, C.M. et al. Atividade antiviral e virucida de extratos hidroalcoólicos de própolis marrom, verde e de abelhas Jataí (*Tetragonisca angustula*) frente ao herpesvírus bovino tipo 1 (BoHV-1) e ao vírus da diarreia viral bovina (BVDV). **Pesq. Vet. Bras.**, v.37, n. 7, p. 667-675, 2017.

PICOLI, T. *et al.* Caracterização química e ação antibacteriana de extrato de própolis marrom da região sul do Brasil. **Brazilian Journal of Veterinary Medicine**, v. 38, n. 4, p. 365–371, 2016.

QUEIROGA, M.C. *et al.* Antimicrobial, Antibiofilm and Toxicological Assessment of Propolis. **Antibiotics (Basel)**, v.12, n. 2, p. 347, 2023.

ROSSITER, S.E.; FLETCHER, M.H.; WUEST, W.M. Natural Products as Platforms to Overcome Antibiotic Resistance. **Chem. Rev.**, v. 117, p. 12415–12474, 2017.

ROTELLA, K. *et al.* Habits, Practices and Beliefs Regarding Floss and Mouthrinse among Habitual and Non-Habitual Users. **Journal of Dental Hygiene**, v. 96, n. 3, 2022.

SÄLZER, S. *et al.* Contemporary practices for mechanical oral hygiene to prevent periodontal disease. **Periodontology 2000**, v. 84, p. 35-44, 2020.

SENA-LOPES, A. *et al.* Chemical composition, immunostimulatory, cytotoxic and antiparasitic activities of the essential oil from Brazilian red propolis. **PLOS ONE**, v. 13, n. 2, e019179, p. 1-16, 2018.

SHARMA, D.; MISBA, L.; KHAN, A.U. Antibiotics versus biofilm: an emerging battleground in microbial communities. **Antimicrob Resist Infect Control**, 2019.

SILVA, A. *et al.* Macroalgae as a Source of Valuable Antimicrobial Compounds: Extraction and Applications. **Antibiotics (Basel)**, v. 9, n. 10, p. 642, 2020.

SILVA, V.S.; RIBEIRO, E.D.P. Evidência científica para uso do fio dental no controle de biofilme e inflamação gengival. **Rev. Fac Odontol Univ Fed Bahia**, v. 52, n. 1, p. 1-10, 2022.

SIMÕES A.P.G.; OLIVEIRA FILHO A.A. Plantas medicinais no combate ao biofilme dental: revisão de literatura. **Arch Health Invest.**, v 10, n. 3, p. 385-391, 2021. SFORCIN et al. Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. **J Ethnopharmacol**, v. 73, p. 243-249, 2000.

SLOT, D.E.; VALKENBURG, C.; VAN DER WEIJIDEN, G.A. Mechanical plaque removal of periodontal maintenance patients: A systematic review and network meta-analysis. **J.Clin Periodontol**, v. 47, p. 107-124, 2020.

SOBREIRA, A.L.C. *et al.* Atividade antifúngica do extrato etanólico de propolis vermelha contra isolados patogênicos de *Candida* sp. **Rev Verde**. Pombal, Paraíba, v. 15, n. 4, p. 429-433, 2020.

SOUSA, J.P.L.M. *et al.* Estudo Químico e Potencial Antimicrobiano da Própolis Brasileira Produzida por Diferentes Espécies de Abelhas. **Rev Virtual de Química**, v. 11, n. 5, set., 2019

TANNER, A.C.R. *et al.* The Caries Microbiome: Implications for Reversing Dysbiosis. **Adv Dent Res**, v. 29, n. 1, p. 78-85, 2018.

TAKAISI-KIKUNI; SCHILCHER. Electron microscopic and microcalorimetric investigations of the possible mechanism of the antibacterial action of a defined propolis provenance. **Planta médica**, v. 60, n. 03, p. 222-227, 1994.

TASCÓN, J. E.; GALLEGO, M. D. P. Valor comercial y eficacia de la cinta de politetrafluoretileno (PTFE) para la remoción de la biopelícula dental interproximal comparado con la seda dental de nylon en adolescentes y adultos jóvenes. **Colombia Médica**, v. 37, 2006.

TEICH, S.T. *et al.* Dental floss selection and it's impact AND evaluation of interproximal contacts in licensure exams. **J. of Dental Education**, v. 78, n.6, p. 921-926, 2014.

TORRES, A.R. *et al.* Chemical characterization, antioxidant and antimicrobial activity of propolis obtained from *Melipona quadrifasciata quadrifasciata* and *Tetragonisca angustula* stingless bees. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v. 51, n. 6, 2018.

WATANABE D. *et al.* Ethanol fermentation driven by elevated expression of the G1 cyclin gene CLN3 in sake yeast. **J Biosci Bioeng**, v. 112, n. 6, p. 577-82, 2011.

WOLSKA, K.I. *et al.* Genetic control of bacterial biofilms. **J Appl Genetics**, v. 57, p. 225–238, 2016.

WORTHINGTON, H. V. *et al.* Home-use of interdental cleaning devices, in addition to toothbrushing, for preventing and controlling periodontal diseases and dental caries. **Cochrane Database of Systematic Reviews**, v. 2020, n. 4, 2019.

XU, Q. *et al.* Atomic layer deposition of alumina on porous polytetrafluoroethylene membranes for enhanced hydrophilicity and separation performances. **Journal of Membrane Science**, v. 415–416, p. 435–443, 2012.

ZHU, J. *et al.* Dental Materials for Oral Microbiota Dysbiosis: **An Update. Front Cell Infect Microbiol**; v. 30, p. 900-918, 2022.

