

UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA
CENTRO INTEGRADO DE SAÚDE-FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PPG - MESTRADO EM CLÍNICA ODONTOLÓGICA

Tuélita Marques Galdino

**EFETIVIDADE DA SOLUÇÃO DE CLORETO DE SÓDIO NA
DESINFECÇÃO DE ESCOVAS DENTAIS CONTAMINADAS**

Juiz de Fora
2013

TUÉLITA MARQUES GALDINO

**EFETIVIDADE DA SOLUÇÃO DE CLORETO DE SÓDIO NA
DESINFECÇÃO DE ESCOVAS DENTAIS CONTAMINADAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós - graduação em Clínica Odontológica, da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre. Área de concentração: Clínica Odontológica.

Juiz de Fora
2013

TUÉLITA MARQUES GALDINO

**EFETIVIDADE DA SOLUÇÃO DE CLORETO DE SÓDIO NA
DESINFECÇÃO DE ESCOVAS DENTAIS CONTAMINADAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós - graduação em Clínica Odontológica, da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre. Área de concentração: Clínica Odontológica.

**Orientadora: Prof^a. Titular Dr^a. Ivone de Oliveira Salgado
Co-Orientador: Prof Dr. Cláudio Galuppo Diniz**

Juiz de Fora
2013

GALDINO, T. M. Efetividade da solução de cloreto de sódio na desinfecção de escovas dentais contaminadas, Universidade Federal de Juiz de Fora. 2013. 78f. Apresentação de Dissertação (Curso de Pós-Graduação *Stricto Sensu* – Mestrado em Clínica Odontológica) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Juiz de Fora (MG).

TUÉLITA MARQUES GALDINO

**EFETIVIDADE DA SOLUÇÃO DE CLORETO DE SÓDIO NA DESINFECÇÃO DE
ESCOVAS DENTAIS CONTAMINADAS**

ORIENTADORA: Prof^ª. Titular Dr^ª. Ivone de Oliveira Salgado

Co-Orientador: Prof Dr. Cláudio Galuppo Diniz

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Universidade Federal de Juiz de Fora, como parte dos requisitos (parcial) para obtenção do título de Mestre em Clínica Odontológica.

Aprovado em ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Ivone de Oliveira Salgado
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof^ª. Pós-Dr. Aline Dias Paiva
Universidade Federal de Juiz de Fora

Prof. Dr. Rodrigo Guerra de Oliveira
Doutor - Faculdade de Ciências Médicas e da Saúde de Juiz de Fora – SUPREMA

Dedicatória

À aquele, que tudo me permitiu, ao longo de minha vida, **DEUS**, minha gratidão.
Reconheço em todos os meus momentos, o maior Mestre.

Aos meus pais José Mauro e Izilda Maria e irmã Yonice que sempre me apoiaram incondicionalmente e me fizeram entender que o futuro é feito a partir da constante dedicação no presente.

A Nilson Pedro, pela dedicação e compreensão que ajudaram a tornar este sonho possível.

AGRADECIMENTOS

À **Professora Titular Doutora Ivone de Oliveira Salgado**, minha orientadora, conselheira e amiga. Sua disponibilidade, amizade, carinho, atenção, entendimento, inteligência e rigor me fizeram ver que conforme aumenta nosso conhecimento, fica evidente a necessidade de aprendermos ainda mais.

Ao **Professor Doutor Cláudio Galupo Diniz**, meu co-orientador, sua capacidade de realização, seu exemplo de pesquisador foi fundamental para o desenvolvimento deste trabalho.

À Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, ao Magnífico Reitor Professor Titular Doutor **Henrique Duque de Miranda Chaves Filho**, ao D.D. da **Professor Doutor Antônio Márcio Resende do Carmo**, à coordenadora do PPG-Mestrado em Clínica Odontológica **Professora Doutora Maria das Graças Afonso de Miranda Chaves**. Seu corpo docente e de funcionários pela oportunidade, atenção, apoio e ensinamentos.

À **Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES**, pela cessão da bolsa de pós-graduação.

À **Fundação Oswaldo Cruz** pelo material cedido para a realização desta pesquisa.

Aos mestrandos, estagiários e funcionários do Laboratório de Fisiologia e Genética molecular Bacteriana do Departamento de Parasitologia, Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFJF, pela paciência e boa vontade, em especial ao aluno doutorando **Thiago** e a mestranda **Nayana Nolasco**.

Aos mestrandos em especial **Carla de Souza Oliveira, Thaiana Cunha Damasceno, Drusila Pinto Antunes, Elysângela Borges de Menezes, Werônica Jaernevy Silveira** e **Ignácio Vieira de Melo Neto**.

Aos amigos **Silvânia Martins, Fábio Carvalho, Eduardo Matos, Denise Nascimento, Sancler Nascimento, Izac Silva, Isadora Assis, Wanessa Alonso, Jaiane Monteiro, Mirian Ferreira, Angela Costalonga** pelo apoio.

Descobrir consiste em olhar para o que todo mundo está vendo e pensar uma coisa diferente.

(Roger Von Oech)

RESUMO

O Cloreto de Sódio como solução sanitizante já vem sendo estudado em diversas áreas, entretanto na Odontologia não há nenhum relato de sua utilização. Neste trabalho foi avaliado o potencial de ação descontaminante de uma solução salina a 10% sobre 05 diferentes linhagens bacterianas, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus salivares*, *Streptococcus mutans* e *Echerichia coli*, encontradas na microbiota bucal, que levam às doenças periodontal e cárie dentária. Foi feita a contaminação de 30 escovas dentais, divididas em 05 grupos cada um (n=05), contaminados com um tipo bacteriano específico. Para avaliar o potencial efetivo foi utilizada a solução teste contendo NaCl 10% em 03 escovas de cada grupo, e solução controle (NaCl 0,9%) nas outras 03. A solução descontaminante ficou em contato por 10min. nos tufo da escova, tempo mínimo recomendado para descontaminação das escovas dentais. Após a descontaminação das escovas dentais foi simulado o enxágue destas. Foi pipetado 0,1mL deste lavado e plaqueado em meio de cultura de crescimento específico de cada tipo bacteriano para a determinação das Unidades Formadoras de Colônias (UFC). A solução de NaCl 10% foi efetiva na descontaminação das escovas dentais contaminadas pela *Echerichia coli* e pelo *Streptococcus mutans* e promoveu a diminuição no crescimento dos *Streptococcus salivares*. Entretanto, não houve efetividade nesta concentração, sobre *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*, sugerindo novas pesquisas utilizando concentrações mais altas de Cloreto de Sódio.

PALAVRAS-CHAVES: Cloreto de Sódio na dieta. Descontaminação. Bactérias

ABSTRACT

Sodium Chloride has been studied as a sanitizing solution in several areas. However, no report of its use has been found in Dentistry. The aim of this study was to evaluate the use of a 10% saline solution as disinfectant. The solution was used against 05 different bacterial strains: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus salivares*, *Streptococcus mutans* and *Echerichia coli*, which are commonly found in the oral environment, and may lead to diseases such as dental caries and periodontal disease. In total, it was used 30 toothbrushes, which were divided in 5 different groups containing 6 toothbrushes each (n=06). To accurately evaluate the effect of the saline solution it was used a test solution (10% NaCl) on 03 toothbrushes of each group and a placebo solution (0.9% NaCl) on the remainders. The test solution was kept in contact with the toothbrushes' bristles for 10 minutes by the minimum time recommended for which disinfection would be completed. Then, toothbrush rinsing was simulated, and the liquid was collected and preserved so that a CFU (Colony forming unit calculation) could be performed. From the samples 0.1 mL was pipetted and plated on the specific medium for best growth of each bacterial strain. The CFU obtained was then multiplied by 1000. The 10% NaCl solution was an effective disinfectant of toothbrushes contaminated with *Escherichia coli* and *Streptococcus mutans* and decreased the growth of both *Streptococcus salivarius*. However, there was no disinfectant effect against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* at 10% NaCl solution, which may suggest that further research using higher concentrations of sodium chloride should be pursued.

KEY-WORD: Sodium Chloride, Dietary. Decontamination. *Bacteria*.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 01 – Discriminação de materiais e seus respectivos fabricantes	51
Quadro 02 – Meio de cultura seletivo e tipo bacteriano para cada grupo	54
Quadro 03 – Aplicação do teste t de student	59
Figura 01 – Placas de Petri previamente preparadas	53
Figura 02 – Meios secando na capela de fluxo laminar	54
Figuras 03, 04 e 05 – Preparo da Suspensão bacteriana e comparação com a escala de MacFarland	55
Figura 06 – Contaminação das escovas dentais	56
Figura 07 – Esgotamento em placas de Petri estéreis com papel absorvente no Fundo	56
Figuras 08 e 09 – Inoculação do enxague diluído e esgotamento com alça de Drigalski em placa de Petri	57
Figura 10 – Contagem das UFC	58

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

°C: Grau Celsius

°INPM: Instituto Nacional de Pesos e Medidas

>: maior

%: por cento

µl: milimol

16S rRNA: Subunidade 16S do RNA ribossômico

ARDRA: "Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis" (Análise de restrição do DNA ribossomal amplificado)

A. hydrophila: *Aeromonas hydrophila*

A. trota: *Aeromonas trota*

ATCC: American Type Culture Collection (culturas puras das bactérias)

ATM: Pressão atmosférica

B. alcalophilus: *Bacillus alcalophilus*

BHI: caldo de infusão cérebro-coração

B. cereus: *Bacillus cereus*

B. circulans: *Bacillus circulans*

B. licheniformis: *Bacillus licheniformis*

B. megaterium: *Bacillus megaterium*

B. pasteurii: *Bacillus pasteurii*

B. psychrophilus: *Bacillus psychrophilus*

B. thuringiensis: *Bacillus thuringiensis*

B. subtilis: *Bacillus subtilis*

Ca²⁺: íon positivo do elemento químico cálcio

C. albicans: *Candida Albicans*

Cl⁻ : íon negativo do elemento químico cloro

cm: centímetros

CPOD: número médio de dentes permanentes cariados, perdidos e obturados, aos 12 anos de idade, em determinado espaço geográfico, no ano considerado.

DNA: ácido Desoxirribonucléico

DQO: Demanda Química de Oxigênio

E. coli: Escherichia coli

ECTA: ácido diaminobutírico acetiltransferase

ectABC: genes biossintéticos ectoína

EctB: ácido diaminobutírico aminotransferase

ECTC: síntese da ectoína

EUA: Estados Unidos da América

h: horas

H⁺: íon positivo monovalente do elemento químico hidrogênio

HPLC: High-performance liquid chromatography

ICB – Instituto de Ciências Biológicas

K⁺: íon positivo monovalente do elemento químico potássio

log₁₀: logaritmo na base 10

M: molar

Mmol: milimolar

MEV: microscópio eletrônico de varredura

min.: minutos

Mg²⁺: íon positivo bivalente do elemento químico magnésio

mg/Kg: miligrama por quilograma

mL: mililitro

mm: milímetro

MSB: Agar Mitis Salivarius-Bacitracina

nº: número

Na⁺: íon positivo monovalente do elemento químico sódio

NaCl: Cloreto de Sódio

PBS: Phosphate Buffered Saline (tampão fosfato-salino)

P. aeruginosas: Pseudomonas aeruginosas

pH: potencial hidrogeniônico

P. gengivalis: Phorphyromonas gengivalis

®: marca registrada

RJ: Rio de Janeiro (estado)

RS: Rio Grande do Sul (estado)

s: segundo

S. aureus: Staphylococcus aureus

SE: Sergipe (estado)

S. epidermidis: Staphylococcus epidermidis

Solar Saltern: Ambientes ensolarados e salinos

Staphylococcus spp: Referência apenas gênero Staphylococcus

S. salivarius: Streptococcus salivarius

S. mutans: Streptococcus mutans

TSA: Agar soja tripticaseína

UFC: unidades formadoras de colônias

UFC/mL: unidades formadoras de colônia por mililitro

UFJF: Universidade Federal de Juiz de Fora

UPGMA: Unweighted Pair Group Method using Arithmetic averages (algoritmo fenético baseado em distâncias genéticas; árvore genética de UPGMA a partir de sequências de DNA)

UV: ultravioleta

v/v: volume por volume

WHO: World Health Organization; Organização Mundial de Saúde

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	14
2 REVISÃO DE LITERATURA	15
3 PROPOSIÇÃO	50
4 MATERIAIS E MÉTODOS	51
4.1 Materiais	51
4.2 Método	53
4.2.1 Preparo para o experimento	53
4.2.2 Contaminação das escovas dentais	55
4.2.3 Esgotamento e Descontaminação pela solução avaliada	56
4.2.4 Enxágue	57
4.2.5 Plaqueamento e Incubação	57
4.3 Metodologia estatística	58
5 RESULTADOS	59
6 DISCUSSÃO	62
7 CONCLUSÃO	70
REFERÊNCIAS	71
APÊNDICES	77
Apêndice A – Fluxograma do experimento	78

1 INTRODUÇÃO

O emprego do sal de cozinha, o NaCl, em bactérias já vem sendo avaliado em diferentes áreas como: Bioquímica, Microbiologia, Nutrição, Engenharia e Tecnologia de Alimentos e Química, sendo aplicado sozinho ou combinado.

A salga para preservar os alimentos já era difundida no Egito há cerca de 4.000 anos A.C. (MESQUITA, 2009). Na Idade Média os europeus fizeram fortunas com o sal como tempero (MESQUITA, 2009 e THEODORO, 2012). Ao final do século XIX e começo do século XX, o sal além de ser usado como condimento (MESQUITA, 2009 e THEODORO, 2012) e produto medicinal passou a ser uma das matérias-primas essenciais para a indústria química e têxtil (MESQUITA, 2009).

Na Odontologia, a utilização do Cloreto de Sódio como descontaminante bacteriano não foi mencionado. A desinfecção de escovas dentais pode ser realizada através de um procedimento simples, de baixo custo, utilizando esse material de fácil aquisição e disponibilidade. A utilização de sanitizantes químicos para eliminar patógenos é vasta, apesar de assegurar a inocuidade e não contaminação da população, não são substâncias biocompatíveis (PEREIRA et al., 2013).

A escova dental é um instrumento para manutenção da saúde bucal e sistêmica; se contaminada por má higienização ou acondicionamento, torna-se fonte de infecção devido à retenção de microrganismos patogênicos e sua posterior recontaminação (GLASS e LARE, 1986).

É relevante o controle da reinfecção das doenças periodontal, cárie dentária e doenças sistêmicas por meio das escovas dentais. A utilização de uma solução de NaCl na desinfecção de escovas dentais contaminadas *por Staphylococcus aureus, Staphylococcus epidermidis, Streptococcus salivares, Streptococcus mutans e Echerichia coli* pode ser feita por um composto natural, biocompatível que diminua a população desses microrganismos considerados patogênicos e é o objeto desta pesquisa.

2 REVISÃO DE LITERATURA

Cobb e Mass (1920) relataram que a presença de focos de infecção na cavidade bucal é muito bem estabelecida. Descreveram o caso de um paciente que sofria infecções repetidas na boca, que se estendiam até a garganta, seguidas de sintomas reumáticos brandos. O foco da infecção não tinha evidência nos dentes e o caso permaneceu um mistério até a remoção de uma série de dentes hígidos. Suspeitaram da escova dental como fonte de infecção e aconselharam que o paciente realizasse a desinfecção da escova dental com álcool, antes e após o seu uso, solucionando o problema. As escovas dentais fabricadas não são de fácil esterilização, permite o uso de substâncias antissépticas, que são discutíveis e perigosas nas mãos de leigos, sendo o álcool o mais seguro. Concluíram que o ideal seria a criação de uma escova dental que permitisse a esterilização ou que fosse descartável.

Dayoub, Rsilko e Gross (1977) estudaram o grau de contaminação bacteriana das escovas dentais após a sua contaminação e armazenamento ao ar livre ou em recipientes ventilados, bem como a capacidade desses recipientes de impedir que os microrganismos provenientes do meio ambiente contaminem as escovas dentais. No primeiro experimento, usaram 5mL de caldo específico para cultura de *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus*, que foram incubados por 24h a 37°C e adicionadas a 400mL de saliva concentrada. Essa mistura foi usada para contaminar 103 escovas dentais estéreis e simular a efetividade da proteção de glicoproteínas salivares no potencial patogênico de contaminação de bactérias. Após a imersão e agitação por 1min. as escovas dentais foram retiradas de forma asséptica e armazenadas por um, dois, três, quatro ou cinco dias. Foram contaminadas cinquenta escovas dentais, mantidas em ambiente ventilado e outras cinquenta escovas contaminadas foram armazenadas em cilindros ventilados. As três escovas dentais que restaram foram usadas para determinar a contagem das bactérias logo após a sua contaminação. Além disso, três escovas dentais não inoculadas ficaram expostas ao ar durante 72h, para detectar uma possível contaminação pelo ambiente. Foram empregados tubos de ensaio de 12 x 200mm, contendo 10mL de água estéril, onde as escovas dentais foram inseridas e agitadas durante 30s. Uma porção de 1mL de líquido foi semeado em duplicata em placas

contendo Agar soja tripticaseína (TSA) e incubado aerobicamente em 37°C. A média da contagem de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) nas escovas dentais imediatamente após a contaminação foi de $5,3 \times 10^6$ UFC/mL ou $5,3 \times 10^7$ por escova dental. Menor quantidade de microrganismos foi encontrado nas escovas dentais secas ao ar livre, do que nas escovas armazenadas em recipientes ventilados. No segundo experimento, dois tipos de recipientes para armazenamento de escovas dentais foram avaliados quanto à capacidade de evitar contaminação proveniente do ambiente. As escovas foram colocadas em recipientes cilíndricos fechados e em recipientes semelhantes que possuíam aberturas para ventilação, projetados para permitir o mínimo contato possível com a superfície ambiente ao redor. Após a esterilização com óxido de etileno, dez recipientes de cada tipo de escovas dentais mantidas estéreis foram colocadas diretamente em cima de uma bandeja de aço inoxidável e recobertos com 2mm de meio de cultura Agar TSA com aproximadamente $1,0 \times 10^8$ de *P. aeruginosa*/mL. Após 24h, essas escovas foram removidas e examinadas como previamente descrito. Amostras duplicatas de 1mL de enxágue de dez recipientes padrões, mesmo quando diluídos, desenvolveram colônias numerosas, em contagem realizada após 24h de incubação. Enxágues de escovas dentais protegidas pelos recipientes com ventilação mostraram um máximo de 32UFC/mL e das vinte placas contadas, cinco não mostraram evidência de crescimento de colônias. Os resultados indicaram que as escovas dentais que após o uso são armazenadas em ambientes fechados com abertura para ventilação e as armazenadas sem recipientes são preferíveis àquelas que não apresentam abertura para ventilação.

Svanberg (1978) verificou a presença do microrganismo *S. mutans* em escovas dentais e em tubos de pastas dentais. Dois pacientes com *S. mutans* na concentração de 10^6 UFC/mL na saliva, receberam cada um três escovas dentais novas. Essas escovas foram usadas na rotina de higiene bucal pela manhã por três dias consecutivos e depois foram guardadas secas a temperatura ambiente por 15min., 12h e 24h. As cabeças das escovas dentais foram imersas em meio de cultura Agar Mitis Salivarius-Bacitracina (MSB), específico para *S. mutans* e vibradas no aparelho Whirlimixer[®], para posterior realização da diluição seriada. Foram coletados os tubos de pastas dentais de dez pacientes com *S. mutans* em concentrações entre 10^2 e 10^6 UFC/mL na saliva. As pastas dentais eram de sete

marcas diferentes e tinham sido usadas 1h antes em procedimentos de higiene bucal pelos pacientes. O material para cultura foi coletado da tampa dos tubos e do ponto mais alto da pasta. Todas as amostras foram cultivadas em Agar MSB e incubadas em jarros de anaerobiose a 5% CO₂ + N₂ a 37°C por 48h. A identificação do *S. mutans* foi realizada de acordo com as características morfológicas da colônia. A identificação por imunofluorescência foi realizada em isolados representativos. Duas das dez pastas dentais abrigaram *S. mutans*, sendo que o microrganismo foi isolado do orifício do tubo. Não foi observada relação entre a marca da escova dental e a retenção de *S. mutans*. Isolados de *S. mutans* de dois pacientes que apresentaram contaminação, tanto no tubo de creme dental, quanto na escova dental, foram do sorotipo C. Nas escovas dentais, o *S. mutans* representou 1,5 a 6,0 x 10⁶UFC, 15min. após a limpeza dos dentes. A UFC de *S. mutans* diminuiu com o tempo após o uso de escovas dentais, de 0,8 e 5,0 x 10⁵UFC após 12h, para 0,9 e 4,0 x 10⁴UFC após 24h.

Feo (1981) avaliou in vitro, a sobrevivência de *Candida albicans* em três tipos de escovas dentais, sendo duas de cerdas de náilon de diferentes marcas (PROR doubleduty e CARAVELLER) e uma de cerdas naturais (PROP) e a desinfecção dessas. No primeiro experimento, quatro escovas dentais de cada marca foram colocadas em suspensão de *C. albicans* (4 X 10⁹UFC/mL) por 1min.. Metade das escovas dentais foi guardada em sua caixa original e a outra metade foi mantida ao ar livre. Após uma e duas semanas, as escovas dentais foram semeadas em Ágar bile ou leite diluído. Os microrganismos sobreviveram em todas as escovas dentais guardadas em sua caixa original por duas semanas e em todas as escovas dentais deixadas ao ar livre por uma semana, exceto na escova de cerdas naturais deixada ao ar livre, na qual os microrganismos sobreviveram por duas semanas. No segundo experimento, três escovas dentais de cada marca foram colocadas em uma suspensão (4 X 10⁶ UFC/mL) de *C. albicans* por 1min., e foram mantidas ao ar livre por 24h, 48h e 72h. Os microrganismos sobreviveram em todas as escovas por até 72h. Para o experimento de desinfecção, nove escovas dentais de cada marca foram colocadas em uma suspensão de *C. albicans* (4 X 10⁶UFC/mL) e armazenadas a temperatura ambiente por 24h. Foram imersos três grupos de escovas dentais em uma solução de ácido bórico a 4% momentaneamente, por 5min. ou por 10min.. O mesmo procedimento de desinfecção citado acima foi

realizado novamente utilizando uma solução de ácido salicílico a 2/100 como desinfetante. O método de imersão momentânea em solução de ácido bórico a 4% ou de ácido salicílico a 2/100 foi o mais eficaz. Esse método de desinfecção é indicado para prevenir a sobrevivência de *C. albicans* em escovas dentais, especialmente quando o paciente apresenta candidose bucal crônica. É preferível o uso de escovas dentais de cerdas de náilon.

Glass e Lare (1986) observaram que os pacientes portadores de doença inflamatória bucal tenderam a responder melhor a terapia quando tinham suas escovas dentais velhas substituídas frequentemente por uma nova, por exemplo, a cada duas semanas. Pesquisaram se escovas dentais podem reter microrganismos patogênicos e se há correlação entre a contaminação dessas escovas e a presença de doenças. Analisaram trinta escovas dentais, sendo dez escovas novas de duas marcas comerciais, e foram cultivadas para determinar a presença de possíveis microrganismos nas embalagens; dez eram de pacientes clinicamente saudáveis e outras dez eram de pacientes com doenças bucais. Foram considerados doentes aqueles que apresentaram numerosas e extensas lesões de cárie dentária, além de doença periodontal ou de mucosa, como líquen plano, penfigóide benigno de mucosa e língua geográfica. As escovas dentais foram coletadas pela manhã, para evitar que as cerdas secassem, tiveram seus cabos cortados, suas cabeças recolhidas e transferidas para tubos de ensaio estéreis, por uma técnica asséptica. Nos pacientes doentes, as áreas específicas envolvidas também sofreram esfregaço e as amostras foram imediatamente transportadas para o laboratório para o procedimento de cultura. Foi adicionado caldo de infusão cérebro-coração (BHI) aos tubos de ensaio, para reduzir o risco de contaminação durante a transferência do material coletado para o laboratório. O caldo de cultura foi incubado a 37°C até ocorrer turvação foi inoculado e incubado em seis placas, com meios de cultura específicos. As placas aeróbicas foram deixadas na incubadora no mínimo por 24h, enquanto as placas anaeróbicas por no mínimo 48h. Cada colônia predominante foi identificada nas placas e foram obtidas culturas puras. Foi realizada a identificação de leveduras, *Streptococcus*, *Actinomyces*, Enterobactérias e de microrganismos anaeróbios, e quando esses patógenos estavam presentes nas escovas dentais usadas pelos pacientes, essas eram consideradas contaminadas. A presença de *Streptococcus* e *Staphylococcus epidermidis* foi considerada um achado normal em

escovas dentais usadas. Os microrganismos encontrados em escovas dentais novas foram considerados contaminantes. A correlação entre a contaminação de escovas dentais e a presença de doença bucal foi considerada positiva se os microrganismos patogênicos fossem encontrados na escova dental e no material coletado na lesão. Parece não haver correlação entre a duração do uso da escova dental e a presença de microrganismos. Não houve correlação significativa entre o histórico de pacientes saudáveis e a presença de microrganismos nas escovas dentais. Dos vinte pacientes estudados, seis tinham um histórico de boa saúde, nove eram portadores de doenças sistêmicas secundárias e cinco tinham um histórico de doenças sistêmicas. Dentre as dez escovas dentais novas, removidas de suas embalagens originais, cinco da mesma marca não apresentaram crescimento bacteriano, enquanto quatro das outras cinco estavam contaminadas por *S. epidermidis*. Embora doze das vinte escovas dentais usadas demonstrassem contaminação por *S. epidermidis*, não foi possível determinar com clareza se elas já estavam contaminadas quando novas. A contaminação ocorreu após uma semana e antes de um mês de uso. A população deve trocar as escovas dentais no mínimo uma vez por mês e após doenças; e para diminuir a reinfecção sugeriram a pesquisa de medidas de descontaminação para utilização doméstica.

Márquez, Ventosa e Ruiz-Berraquero (1987) estudaram a classificação dos grupos de bactérias heterotróficas halofílicas e não halofílicas de uma salina solar. Um total de 564 linhagens de bactéria heterotróficas não-halofílicas, marinhas, moderadamente halofílicas e extremamente halofílicas foram isoladas de uma salina localizada perto de Huelva, oeste da Espanha, no Oceano Atlântico. Com exceção das bactérias extremamente halofílicas, que foram analisadas por uma técnica numérica usando um correspondente simples (S_{SM} - coeficiente e agrupamento), as demais foram analisadas utilizando método de par de grupos não ponderado com médias algoritmas (UPGMA). No nível de significância de 72,5%, diferentes números de fenótipos foram encontrados para cada grupo de bactérias halofílicas. Das 154 linhagens não halofílicas, a maioria foi distribuída em 10 fenótipos, representadas pelos membros do gênero *Bacillus*, *Staphylococcus* e *Micrococcus*. As 138 linhagens marinhas (com exceção de 24) foram agrupadas em 12 fenótipos, sendo 7 atribuídas ao agrupamento de supragenérico *Pseudomonas Alteromonas-Deleya*, e as outras para *Micrococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus* e *Vibrio*. As 140 linhagens

moderadamente halofílicas foram agrupados em 8 fenótipos e apenas 11 linhagens ficaram sem atribuição. A maioria dos grupos isolados foram atribuídos ao gênero *Deleya* (02 fenótipos) e mostraram grande similaridade com a descrição recente da espécie *D. halophila*, isolada de solos hipersalinos. Foram encontrados quatro fenótipos compostos por microrganismos com características fenotípicas muito semelhantes ao *Vibrio costicola* moderadamente halofílico. Dois fenótipos foram designados para os gêneros *Flavobacterium* e *Acinetobacter*, porém estas linhagens não foram semelhantes às espécies previamente descritas. Das 145 amostras halofílicas extremas estudadas, o grupo mais importante foi identificado como pertencendo à espécie *Halobacterium salinarium* (86 linhagens), seguido por *H. saccharovorum* (20 linhagens), *H. vallismortis* (19 linhagens), *Haloarcula hispanica* (12 linhagens) e *Halobacterium mediterranei* (7 linhagens). Apenas 01 bactéria na forma de cocos foi isolada, com características muito semelhantes às do *Halococcus morrhuae*. As bactérias não halofílicas crescem bem em meio contendo menos de 1% de NaCl. Estas são encontrados em água-doce e ecossistemas terrestres. As bactérias marinhas crescem bem em meio contendo de 1 a 3% de NaCl. Elas também podem possuir habilidades halotolerantes, podendo coexistir com bactérias halofílicas em ambientes hipersalinos.

Sedegley e Samaranayke (1994) revisaram a literatura sobre os membros da família *Enterobacteriaceae*, largamente distribuídos na natureza, que exibem substancial diversidade biológica. Avaliaram sua quantidade e seu potencial patogênico para os humanos quando presentes na boca e na região de orofaringe de pacientes saudáveis. Discutiram os seus efeitos sobre diferentes doenças e as associações com essas patologias. Relataram discrepância de metodologia entre os estudos epidemiológicos. Os dados avaliados indicaram um aumento na prevalência de enterobacteriose na boca e na orofaringe de pacientes com doenças de severidades variáveis, quando comparados com os pacientes saudáveis. O efeito de antimicrobianos e de antissépticos também foi revisado sugerindo futuras pesquisas nesta direção.

Carvajal et al. (1995) demonstraram que as escovas dentais convencionais podem ser reservatórios de populações bacterianas. Selecionaram 15 pacientes de ambos os sexos, com idade entre 40 e 58 anos, portadores de periodontite marginal moderada não tratada, e um grupo controle. A cada paciente foi entregue uma

escova dental Oral-B indicator P-35[®] macia, com orientação de utilizá-la pela manhã, sem dentífrico, durante 15 dias. Após este período, as cabeças dessas escovas foram cortadas com um disco de corte, e colocadas em frasco contendo formalina a 10% como fixador. Todas as amostras experimentais e algumas do grupo controle foram selecionadas aleatoriamente, preparadas e analisadas ao microscópio eletrônico de varredura (MEV). No grupo controle foram evidenciadas as características de uma escova dental em uso, já no grupo experimental foram encontradas estruturas que demonstraram a formação de biofilme (cocos, bacilos e estruturas filamentosas). Concluíram que as escovas dentais podem ser veículos de transmissão bacteriana e que as pessoas devem ser melhor instruídas quanto a limpeza e armazenamento das mesmas.

Woolard & Irvine (1995) verificaram que as bactérias verdadeiramente halofílicas necessitam especificamente de NaCl para crescerem. As halofílicas moderadas são organismos que crescem bem em meio contendo de 3 a 15% (0,5 – 2,5M) de NaCl, podendo ser encontradas abundantemente nos ambientes denominados salina *salterns*. As halofílicas extremas apresentam ótimo crescimento em meio contendo de 15 a 30% de NaCl (2,5 – 5,2M). Os organismos halofílicos moderados e extremos são de grande interesse no tratamento de efluentes hipersalinos. As bactérias que crescem de 0 a 15% e de 0 a 30% de NaCl são consideradas, respectivamente, halotolerantes moderadas e halotolerantes extremas.

Borges et al. (1996) verificaram a contaminação de escovas dentais por coliformes fecais e parasitas intestinais. Aplicou-se um questionário, foram coletadas as escovas dentais e feita a coleta de fezes de 98 crianças com idade entre 01 e 14 anos, sendo 49 do sexo feminino e 49 do sexo masculino, pertencente à população de baixa renda da periferia de Alfenas, Minas Gerais. O questionário continha as seguintes informações: identificação, local onde armazenavam a escova dental, quem a utilizava, qual o dentífrico utilizado, uma avaliação da escova utilizada (boa, regular ou ruim) e a situação higiênica do ambiente. Para a coleta do material das escovas dentais, utilizaram soro fisiológico estéril, que foi distribuído em frascos de 70mL, onde as escovas foram mergulhadas e agitadas vigorosamente por 3 a 5min.. Posteriormente, 0,5mL do material foi recolhido e inoculado em dois tubos de caldo Brila (caldo verde brilhante bile lactose) e incubados a 37°C por 48h. As fezes

foram colhidas em frascos, levadas ao laboratório de Microbiologia e depois encaminhadas para o laboratório de Parasitologia Clínica da EFOA, onde foram submetidas ao exame parasitológico de Hoffmann. Para a pesquisa de parasitas intestinais, foram centrifugados 10mL do material em soro fisiológico a 300rpm por 15min., o sobrenadante foi desprezado e os sedimentos foram examinados ao microscópio ótico. Os resultados obtidos no exame de fezes foram positivos para 55,55% das amostras, sendo 30% eram do sexo masculino e 22,55% do sexo feminino. Foram indentificados *Entamoeba coli*, *Giardia lamblia*, *Strongiloides stercoralis*, *Ascaris lumbricoides*, *Trichuris trichiuria*, *Ancylostomatidae*, *Enterobius vermicularis* e *Hymenolepis nana*. Quanto à presença de coliformes, 16,46% das escovas dentais apresentaram contaminação, sugerindo que estas ocorreram por material fecal. Quanto ao estado de conservação das escovas dentais estudadas, 30,61% estavam em boas condições de uso; 13,26% não tinham escovas dentais; 56,47% guardavam no banheiro, 17,64% no quarto, 9,41% na cozinha, 12,94% fora de casa e 3,52% em outro locais; 17,97% compartilhavam o uso da mesma escova dental, uma pessoa não utilizava o dentifrício e apenas em um caso foram encontrados parasitas intestinais. Concluíram que a escova dental é um veículo de transmissão de parasitoses intestinais, a condição higiênica de uma população esta intimamente ligada ao índice de infestação.

A Organização Mundial de Saúde - World Health Organization - WHO, (1997) realizou no Brasil nos anos 80, amplos levantamentos epidemiológicos de saúde bucal, seguindo suas diretrizes padronizadas. Esses levantamentos utilizam o índice CPOD (número médio de dentes permanentes cariados, perdidos e obturados, aos 12 anos de idade, em determinado espaço geográfico, no ano considerado) para avaliar a prevalência e a gravidade da disseminação de cárie dentária. Esse índice contabiliza os dentes decíduos de algum modo cariados, extraídos ou restaurados. Com base nessa informação, foi possível estimar a prevalência de necessidades de tratamento odontológico como condição de saúde bucal. Esta medida é amplamente usada para a comparação de sistemas de saúde bucal entre países.

Pinto et al. (1998) avaliaram o controle do *Staphylococcus spp.* em charques, predominante na microbiota deste tipo cárneo, por ser considerado um gênero de possível agravo a saúde. O *Staphylococcus aureus* é uma bactéria halotolerante, anaeróbia facultativa e produz uma enterotoxina termoestável que é capaz de resistir

às técnicas convencionais de processamento térmico para esterilização. Empregou-se no estudo duas linhagens inócuas de *Staphylococcus* num meio microbiológico, a fim de avaliar a sua influência sobre o desenvolvimento de *S. aureus* por mecanismo competitivo ou pela produção de bacteriocinas. Uma forma de inibir o desenvolvimento de *S. aureus* é controlar a microbiota do meio, pois trata-se de um microrganismo considerado competidor fraco, o que consegue-se pela adição de culturas bacterianas selecionadas, disponíveis comercialmente na forma liofilizada. Assim, o emprego de linhagens inócuas de micrococáceas pode contribuir no controle microbiológico, promovendo inocuidade. Os resultados demonstraram inibição no desenvolvimento do patógeno *in vitro*. Não observou-se a produção de compostos inibitórios pelas linhagens iniciadoras, o que permite inferir que a inibição observada ocorreu apenas pelo mecanismo competitivo. Realizou-se o teste de antibiose para avaliar a capacidade das culturas iniciadoras de produzirem compostos inibitórios sobre *S. aureus*. Demonstrou-se que as culturas iniciadoras de *Staphylococcus*, embora não tenham apresentado capacidade de produção de compostos ativos contra *S. aureus*, inibiram o desenvolvimento desse patógeno, provavelmente por mecanismo competitivo, constituindo um obstáculo adicional, capaz de garantir a inocuidade do produto, aumentando a segurança do emprego de culturas bacterianas selecionadas.

Taji e Rogers (1998) investigaram a contaminação microbiana das escovas dentais. Foram selecionados dez adultos, que receberam uma escova dental da mesma marca e um mesmo tipo de tubo de dentifício fluoretado. Eles foram orientados a seguir suas rotinas normais de higiene bucal durante o período de três semanas. Ao término desse período, as escovas dentais foram coletadas em saco plástico estéril e processadas após um período de 18h desde a última utilização. As cabeças das escovas foram cortadas e transferidas para um tubo contendo 10mL de PBS, submetidas a vigorosas misturas no Vórtex[®] por 60s, ultrassom durante 30s e novamente Vortex[®] por 60s, ultrassom durante 30s e novamente no Vortex[®] por 15s. As soluções foram diluídas dez vezes e semeadas em placas de meio de cultura específicos para a contagem de aeróbios, Gram-negativos e anaeróbios, *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Lactobacillus*, *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas* e fungos leveduriformes. As placas para anaeróbios foram incubadas anaerobicamente em estufas por no mínimo 72h, enquanto as placas restantes foram incubadas em antibiose por 48-72h. As colônias foram contaminadas

individualmente. Avaliou-se também a presença de catalase e oxidase. Ainda foram registradas as seguintes informações de cada indivíduo: método utilizado para lavagem da escova dental, método e ambiente do seu armazenamento, frequência de escovação e uso de enxaguatórios bucais antes da escovação. No início do estudo, cada indivíduo foi submetido a um exame clínico com espelho bucal e sonda exploradora, para pesquisa de lesões de cárie dentária, doença periodontal e alterações na mucosa bucal. A avaliação dos resultados mostrou que nenhuma escova dental ficou livre de bactérias e o número total de bactérias recuperadas variou de 10^4 a 10^6 UFC/mL. *Staphylococcus* e *Streptococcus* foram encontrados em todas as escovas dentais e muitas vezes foram numericamente dominantes. As leveduras, *Corinobacterias*, *Pseudomonas* e coliforme foram encontradas em 70%, 60%, 50% e 30% das escovas dentais, respectivamente. Uma quantidade significativa de colônias não pôde ser identificada com precisão. O teste também foi realizado em três escovas dentais não utilizadas, sendo encontrados *Staphylococcus* em uma delas e as demais encontraram-se livres de bactérias. Concluíram que muitos fatores podem influenciar na colonização das escovas dentais.

Ventosa, Nieto e Oren (1998) pesquisaram a histologia e fisiologia das bactérias aeróbias moderadamente halofílicas e verificaram que linhagens pertencentes a bactérias extremófilas são de grande interesse, por possuírem grande potencial de utilização industrial, devido a sua capacidade de fermentar alimentos, produzir enzimas extracelulares, osmólitos e polímeros em meios com altas concentrações de sal. A vida microbiana pode ser encontrada em locais com diferentes concentrações de sal, ocorrendo tanto em água doce como em ambientes marinhos e até em ambientes hipersalinos. Os microrganismos halofílicos e halotolerantes são encontrados nos três domínios da vida microbiana: *Archaea*, *Bacteria* e *Eucarya*. Estudos realizados em ambientes hipersalinos, em diferentes áreas geográficas, permitiram o isolamento e a classificação taxonômica de um grande número de espécies moderadamente halofílicas, Gram-positiva ou Gram-negativa, aeróbias ou anaeróbias facultativas.

Motzfeld et al. (1999) estudaram o tipo de contaminação de escovas dentais em uso habitual, por bactérias e leveduras, de quarenta estudantes de Odontologia da Universidade do Chile. Os participantes tiveram suas escovas dentais recolhidas

e substituídas por outras novas. Não foi avaliado a qualidade e o tempo de uso dessas escovas. Elas foram transportadas para o laboratório de Microbiologia em envelopes de papel estéril no período de 2h. As pontas ativas das escovas dentais foram imersas no meio de cultura tiogliconato para incubação por 24h. As amostras de cada tubo de ensaio foram semeadas em meio seletivo para *S. mutans*, *Candida*, *Lactobacillus* e microbiota anaeróbia total. Os resultados mostraram uma pequena porcentagem de alguns microrganismos isolados: *S. mutans* – 2,8%, *Candida* – 2,8%, *Lactobacillus* – 1,2%, porém bactérias anaeróbias foram encontradas em 100% da amostra. Este último valor pode estar relacionado a fatores como a qualidade do creme dental, cuja composição química inibe o crescimento de microrganismos através de sua ação enzimática. Também é possível que essas bactérias anaeróbias derivassem da placa bacteriana acumulada no plástico, onde se insere as cerdas.

Oren (1999) estudou os aspectos bioenergéticos do halofilismo e verificou que altas concentrações de íons sódio no interior celular são tóxicas para os microrganismos, pois interferem no seu metabolismo. Para que isto não ocorra, toda bactéria halofílica ou halotolerante possui um potente mecanismo de transporte de íons, geralmente um sistema antiporte Na^+/H^+ , para a eliminação desses íons. Duas estratégias, fundamentalmente diferentes, são utilizadas pelos microrganismos halofílicos ou halotolerantes para colonizar os ambientes salinos. Estes mecanismos tornam as células microbianas capazes de: suportar o estresse osmótico inerente à presença de altas concentrações de NaCl; manter elevada a pressão osmótica no citoplasma e manter baixa a concentração de Na^+ intracelular. Uma das estratégias, conhecida como mecanismo *Salt-in* (acúmulo de íons de K^+ e Cl^- na manutenção do equilíbrio da concentração intracelular e extracelular). Neste caso, todos os sistemas intracelulares devem estar adaptados para funcionarem na presença desses íons. Este mecanismo é usado por um limitado número de halofílicos. A vida microbiana pode ser encontrada em locais com diferentes concentrações de sal, ocorrendo tanto em água doce como em ambientes marinhos e até outros com níveis de NaCl acima da saturação. Os microrganismos halofílicos e halotolerantes são encontrados nos três domínios da vida microbiana: *Archaea*, *Bacteria* e *Eucarya*.

Brain (2000) descreveu o processo de conservação dos alimentos através do uso do sal. A salga, especialmente de carnes, é uma técnica de conservação antiga.

O sal absorve a umidade e cria um ambiente inóspito às bactérias. Se a técnica de salga for realizada quando o tempo está frio (de modo que a carne não estrague enquanto o sal faz efeito) a carne pode durar anos. O procedimento utiliza pedaços grossos de carne cortados em pequenos cubos, salgando-os e colocando-os em um barril, de modo que fiquem distantes uns dos outros, arrumando os pedaços de carne como se fossem tijolos e colocando sal nos espaços entre eles. Assim cria-se um barrilete pequeno (barril de madeira) cheio de sal e carne. Há relatos a respeito do uso da salga de carnes durante as navegações na época de Colombo, na época da Guerra Revolucionária e especialmente da Guerra Civil nos EUA, que descreveram a carne conservada desta maneira. A salga foi usada para conservar a carne até esse século e, finalmente, substituída pela refrigeração e o congelamento. Atualmente, a salga ainda é usada para fazer "presunto" curado com sal, encontrado no sul dos Estados Unidos, carne seca, carne salgada em lata e o pastrami, que é feito mergulhando a carne em salmoura com 10% de sal por várias semanas.

Bunetel et al. (2000) avaliaram a retenção e a sobrevivência, *in vitro*, de três espécies de microrganismos (*Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277, *S. mutans* ATCC 25175 e *C. albicans* ATCC 26555) em três tipos de escovas dentais, sendo duas elétricas (Broxobrush e Braun), e uma manual (Jordan), previamente esterilizadas em óxido de etileno. Foram realizadas duas séries de experimentos para cada escova dental e para cada microrganismo. A primeira série avaliou a retenção de microrganismos na cabeça da escova e a segunda série, na cabeça e na parte do cabo que entra na boca durante a escovação de rotina, com extensão de 4cm. Durante a fase inicial, as escovas dentais retiveram 1 a 2% do inócuo de *P. gingivalis*, mas somente 0,2 a 0,3% do inócuo de *S. mutans*. A retenção de *C. albicans* variou de 0,3 a 1,8%. O número de microrganismos detectados aumentou conforme a área exposta. Depois de 24h, a *P. gingivalis* e o *S. mutans* foram detectados em apenas um tipo de escova (Braun). A *C. albicans* sobreviveu nos três tipos o que indica que a boca poderia ser inoculada por uma escova dental contaminada, as lesões existentes poderiam ser agravadas, e que as *C. albicans* poderiam ser disseminadas a partir do foco bucal. Os pacientes deveriam ser alertados para enxaguar bem suas escovas dentais depois do uso e agitá-las para secá-las, com o objetivo de reduzir o nível de contaminação.

Leite e Ribeiro (2000) avaliaram a prevalência de cárie dentária, em dentição decídua, e as variáveis a ela associadas em pré-escolares, de baixo nível sócio-econômico, assistidos em creches públicas da cidade de Juiz de Fora, Minas Gerais, Brasil, afim de fornecer dados para a formulação de programas de saúde bucal para essa população específica. Tal programa não deve incluir só medidas preventivas, mas também tratamento curativo dos dentes decíduos afetados, para permitir a erupção dos dentes permanentes em melhores condições bucais. O programa educativo deve enfatizar a orientação pré-natal para grupos de mulheres grávidas, bem como de formação profissional para a atenção preventiva para bebês (0-3 anos), com o objetivo de incentivar hábitos saudáveis bucais durante este período. A doença cárie dentária neste país ainda constitui um problema de saúde pública, particularmente em algumas áreas. Quatro instituições públicas foram selecionadas por critérios geográficos (duas na região central e duas na região periférica). A população do estudo compreendeu 338 crianças (181 meninos e 157 meninas) com idade de 02 a 06 anos e pode-se concluir que a implementação de um programa de saúde bucal para crianças que frequentam creches públicas deve ter prioridade. A prevalência de cárie dentária foi maior entre as crianças de creche pública da periferia do que das crianças de creches da região central.

Unfer e Saliba (2000) avaliaram o conhecimento popular de usuários de serviços públicos de saúde, e as práticas cotidianas em saúde bucal, em uma população selecionada de uma amostra estratificada de usuários que procuraram atendimento nas unidades sanitárias, da zona urbana de Santa Maria, RS. Os dados foram coletados por meio de entrevista semi-estruturada e organizados em conjuntos de categorias descritivas, permitindo sua distribuição em tabela de frequência. Verificou-se que predominam usuários entre 21 e 40 anos de idade, do sexo feminino e com padrão socioeconômico baixo. A condição de saúde e o controle das doenças bucais são atribuídos à responsabilidade individual de realizar a higiene bucal e procurar tratamento dentário. A presença e os benefícios do flúor no creme dental e na água para ingestão não foram reconhecidos pela população estudada. Os programas de saúde devem considerar os aspectos relativos ao conhecimento e às práticas em saúde bucal, para capacitar a população de compartilhar e ser responsabilização pela promoção da saúde coletiva.

Quirynen et al. (2001) examinaram aderência e taxa de sobrevivência de microrganismos cariogênicos e periodontopatogênicos em escovas dentais e escovas interdentais, e a presença ou ausência em diferentes tipos de creme dentais. Foram selecionados 12 pacientes caucasianos, adultos, com idade entre 38 e 63 anos, usuários da Clínica de Periodontia do Hospital Universitário da Universidade Católica de Leuven, portadores de Doença Periodontal em estágio avançado. Nenhum deles usou antimicrobiano nos últimos quatro meses ou durante o estudo. Como critério de inclusão deveriam apresentar pelo menos dois dentes, multirradiculados e três dentes unirradiculados por quadrante, com pelo menos quatro sítios com profundidade de sondagem maior que 7mm e sangramento à sondagem. As radiografias mostravam perda óssea severa. O estudo foi realizado em três etapas: na primeira avaliaram a contaminação da escova dental e da escova interproximal. Seis pacientes tiveram dois quadrantes escolhidos aleatoriamente, um superior e um inferior, que foram escovados profissionalmente, sem utilização de creme dental, com uma escova dental nova (Sensodyne Previon 3 Mediu Stafford Miller, Oevel, Belgium). Posteriormente 02 espaços interdentais foram higienizados com 04 escovas interdentais novas de marcas diferentes, com cerdas de náilon. As escovas dentais foram lavadas em água corrente por 10s e armazenadas em local seco, à temperatura ambiente. Após 0h, 4h, 8h, 16h, 24h e 48h, quatro tufo dessas escovas foram retirados e inseridos em frascos com tampa de rosca contendo 3mL de solução de RTF. Uma escova interdental foi imersa por inteiro em um frasco com tampa de rosca contendo 3mL de RTF, para análise microbiológica, após 0h, 8h, 24h e 48h. A carga microbiana geral da cavidade bucal dos indivíduos foi estimada através da coleta de saliva não estimulada em um copo plástico. Foi retirado 0,5mL com uma seringa e colocado em 3mL de RTF. Na segunda parte do experimento, foi avaliado o impacto do uso de alguns cremes dentais na sobrevivência bacteriana nas cerdas das escovas dentais. Os procedimentos realizados na primeira etapa foram repetidos e os quadrantes remanescentes foram escovados com o uso de creme dental (Sensodyne Previon F, Stafford Miller, Oevel, Belgium). Na terceira parte, outros 06 pacientes receberam escovação profissional com 04 escovas dentais de diferentes marcas, usando 01 dessas escovas pelos quatro quadrantes e 03 cremes dentais diferentes: A (Sensodyne Previon F creme, Stafford Miller, Oevel, Belgium), B (Sensodyne Previon F gel, Stafford Miller, Oevel, Belgium), e C (Zendium Classic, KortmanIntradal, Grootbijgaarden, Belgium), em três quadrantes

aleatórios, sendo o quarto quadrante deixado como controle, sem creme dental. Após 0h, 2h, 4h, e 8h, quatro tufo de cerdas foram removidos para análise microbiológica. A carga microbiana na saliva de cada paciente também foi comparada. As amostras foram homogeneizadas imediatamente no Vórtex[®] por 30s e codificadas para que a análise fosse realizada cegamente. Estas foram transferidas para o laboratório e processadas em menos de 4h. Diluições seriadas decimais foram preparadas em RTF. Alíquota de 0,1mL foi semeada manualmente em placas com meio de cultura específico para *S. mutans* e incubadas por três dias em 5% de CO₂ a 37°C. Diluições de 10⁻² a 10⁻⁴ foram semeados em duplicata em meio de cultura não seletivos e incubados por sete dias, a 80% de N₂, 10% de CO₂ e 10% de O₂, a 37°C, para contagem total de colônias puras. Diluições de 10⁻¹ a 10⁻³ foram semeadas em dois meios seletivos para *Campylobacter retus* e *Fusobacterium nucleatum*. Também foram identificadas espécies cariogênicas específicas. A identificação de lactobacilos foi feita por morfologia, método Gram e microscopia de contraste. Imediatamente após a lavagem, as escovas dentais apresentaram 10⁷, 10⁸ e 10⁷ UFC de espécies aeróbias, anaeróbias e com pigmentos negros, respectivamente. Ocorreu um decréscimo insignificante após 24h e após 48h ainda havia 10⁴ UFC de espécies aeróbias e anaeróbias. O único patógeno periodontal foi detectado após 8h, exceto *Fusobacteriumnucleatum*. A proporção de bactérias vivas decresceu de 50% para 30% em 48h. Resultados semelhantes foram obtidos nas escovas interdentais. A taxa de bactérias aeróbicas e anaeróbicas sobreviventes reduziu significativamente pelo uso de creme dental de ação degermante, limitando o risco de transmissão bacteriana.

Spolidorio et al. (2001) avaliou quantitativamente a presença de *Streptococcus mutans* e *Candida sp* da cavidade bucal de pacientes com carcinoma de orofaringe antes, durante e após o tratamento com radioterapia e correlacionou fatores salivares como pH, capacidade tampão (CT) e fluxo salivar (FS). Amostras de saliva foram coletadas, diluídas e inoculadas em ágar SB-20 e ágar Sabouraud, respectivamente para *Streptococcus* do grupo *mutans* e *Candida sp*. Previamente à diluição, a saliva concentrada foi analisada, determinando-se os fatores salivares. Após crescimento das colônias, o número de microrganismos foi determinado em UFC/ml. A análise dos resultados permitiu concluir que houve correlação positiva entre os fatores salivares e a presença de microrganismos ilustrada pelo aumento no

número de UFC/ml dos microrganismos analisados concomitantemente com a diminuição do fluxo salivar. Os efeitos da radiação comprometeram a homeostasia salivar e favoreceram o aumento das infecções por leveduras e bactérias durante o tratamento radioterápico.

Kuhlmann & Bremer (2002) investigaram através da técnica do HPLC (procedimento que separa e quantifica todos os constituintes da solução) quais são os tipos de solutos compatíveis que são re-sintetizados em alta osmolaridade pela espécie *Bacillus*. Cinco diferentes padrões de produção de solutos compatíveis foram encontrados entre as 13 espécies de *Bacillus* estudadas. *Bacillus subtilis*, *B. licheniformis* e *B. megaterium* produziram prolina; *B. cereus*, *B. circulans*, *B. thuringiensis*, *Paenibacillus polymyxa* e *Aneurinilyticus aneurinibacillus* sintetizaram glutamato; *B. alcalophilus*, *B. psychrophilus* e *B. pasteurii* sintetizaram ectoína e *Salibacillus salexigens* (anteriormente *Bacillus*) produziu tanto ectoína quanto hydroxyectoína, e o *Virgibacillus pantothenicus* (anteriormente *Bacillus*) sintetizou ectoína e prolina. Assim, a capacidade de produzir a ectoína tetrahidropirimidina em ambientes hiperosmóticos é generalizada dentro do gênero *Bacillus* e a taxa de crescimento bacteriano está relacionada a esse soluto. Para estudar a biossíntese da ectoína da espécie *Bacillus*, mais detalhadamente, concentrou-se no *B. pasteurii*. Clonou-se e sequenciou os genes biossintéticos ectoína (ectABC). Os genes ectABC codificam o ácido diaminobutírico acetiltransferase (ECTA), o ácido diaminobutírico aminotransferase (EctB), e a síntese da ectoína (ECTC). Em conjunto, estas proteínas constituem a via biossintética da ectoína, e sua expressão heteróloga em *B. subtilis* levou à produção de ectoína. Manchas na parte superior das análises demonstraram que o gene ectABC é organizado geneticamente como um operon cuja expressão é extremamente aumentada quando a osmolaridade do meio de crescimento é alta. A análise por HPLC das células desreguladas osmoticamente do *B. pasteurii* revelou que a produção e a síntese de ectoína no interior desta bactéria está intimamente correlacionada com a osmolaridade do meio de crescimento. Estas observações, juntamente com o controle osmótico da transcrição ectABC sugerem que a síntese de nova ectoína ou ectoína biossintética é um mecanismo importante na adaptação celular de *B. pasteurii* em alta osmolaridade. Um dos mais importantes parâmetros que afetam o crescimento dos microrganismos é a disponibilidade de água em seu habitat. As bactérias podem

colonizar uma grande variedade de nichos ecológicos, com um considerável espectro de condições osmóticas, e ainda, um único habitat pode sofrer flutuações drásticas em seu perfil osmótico. Em microrganismos que não possuem a habilidade de transportar ativamente água para o interior ou exterior da célula, a força osmótica é quem determina o conteúdo de água em seu interior celular. Para suportar condições hiperosmóticas, os microrganismos acumulam grande quantidade de um determinado grupo de osmólitos orgânicos, também chamados de solutos compatíveis. Em condições hipo-osmóticas, as células os expulsam para o ambiente extracelular. O seu acúmulo, que pode ocorrer através da síntese intracelular ou a partir da obtenção do meio extracelular, é uma estratégia evolutivamente bem conservada em microrganismos que se ajustam as altas osmolaridades do ambiente. Solutos compatíveis são definidos como osmólitos orgânicos que podem ser acumulados pela célula, em altas concentrações, sem comprometer as funções vitais celulares e a correta conformação das proteínas. Os solutos compatíveis contribuem para a restauração do turgor celular sob baixas condições de atividade de água, pois contém o efluxo da água.

Oren (2002) estudou a diversidade de microrganismos halófilos, seu ambiente, filogenia, fisiologia e aplicações. É muito grande a diversidade filogenética de microrganismos que vivem em altas concentrações de sal. Os microrganismos halofílicos são encontrados em cada um dos três domínios: *Archaea*, *Bacteria* e *Eucarya*. A diversidade metabólica de halofílicos é tão grande e incluem fototróficos oxigênicos e anoxigênicos, heterótrofos aeróbicos, fermentadores, desnitrificadores, redutores de sulfato, e metanogênicos. A diversidade de tipos metabólicos encontrados diminui com a salinidade. Usando uma combinação de técnicas de cultura, métodos de biologia molecular, e estudos quimiotaxonômicos, obteve-se a informação sobre a natureza da *Archaea* halofílica, bem como as bactérias halófilas que habitam salinas Saltern. A produção de ectoína está diretamente relacionado com o comportamento halofílico do microrganismo produtor e a extração de β -caroteno a partir de *Dunaliella* ou o uso potencial de espécies *Haloferax* para a produção de polissacáridos poli- β -hidroxialcanoato ou extracelular, podem ser obtidos a partir de não-halofílicos, mas os microrganismos halofílicos podem apresentar vantagens em relação ao uso de homólogos não-halofílicos. A vida microbiana pode ser encontrada em locais com diferentes concentrações de sal,

ocorrendo tanto em água doce como em ambientes marinhos e até em ambientes com níveis de NaCl acima da saturação. Bactérias halofílicas/halotolerantes Gram-positiva formadoras de endósporo são consideradas bactérias extremófilas por terem a capacidade de crescer em ambientes que possuem alta concentração de NaCl. Espécies com estas características estão distribuídas em diferentes gêneros filogeneticamente relacionados ao gênero *Bacillus*, como os gêneros *Filobacillus*, *Gracilibacillus*, *Halobacillus*, *Oceanobacillus* e *Virgibacillus*. O acúmulo de solutos orgânicos é largamente utilizado nos três domínios da vida microbiana. Os solutos osmóticos mais usados no domínio *Bacteria* são a ectoína e a glicina betaína, sintetizados principalmente por *Bacillus* e pelos gêneros relacionados. Estes componentes são sintetizados quase que exclusivamente por procariotos fotossintéticos, mas também podem ser obtidos e acumulados do meio exterior por muitas bactérias heterotróficas. Entretanto, a demanda energética deste mecanismo é muito alta. Os ambientes “Thalassohaline”, derivados de água marinha, são ambientes hipersalinos originados pela evaporação da água do mar. A composição salínica desses locais é semelhante ao da água marinha, tendo como íons predominantes o sódio e o cloro. O pH é neutro ou levemente alcalino. Com a perda de água pela evaporação, algumas mudanças podem ocorrer na composição iônica local, como a precipitação de sais minerais. As salmouras “thalassohalines”, onde a concentração de NaCl encontra-se saturada, é composta por lagos que possuem cristais de NaCl. Mesmo estes locais extremamente salinos são colonizados por microrganismos. Os ambientes hipersalinos que não possuem sais de origem marinha são denominados “Athalassohalines”, nos quais a composição iônica difere da encontrada na água marinha e também são povoados por microrganismos. O principal exemplo é o Mar Morto, onde as concentrações de cátions divalentes (1,9 M de Mg^{2+} e 0,4 M de Ca^{2+}) excedem as de cátions monovalentes (1,6 M de Na^+ e 0,14 M de K^+), sendo o pH relativamente baixo.

Santos et al. (2002) avaliaram a prevalência e sensibilidade in vitro de enterobacteriaceae e pseudomonas isoladas da cavidade bucal e bolsa periodontal de pacientes com periodontite crônica que é a mais comum das formas de doença periodontal destrutiva em adultos, caracterizada por perda clínica de inserção em decorrência da destruição do ligamento periodontal e perda de osso de suporte. Microrganismos da família Enterobacteriaceae e gênero Pseudomonas estudados

apresentam fatores de virulência capazes de agravar o quadro de doença periodontal e seu controle pode ser um pré-requisito para uma terapia bem sucedida. Além de dificultar o tratamento periodontal convencional, reservatórios bucais destes microrganismos podem comprometer a vida de pacientes debilitados. Dos 88 indivíduos estudados neste trabalho, 43,18% apresentaram estas bactérias na cavidade bucal e 15,9% na bolsa periodontal, sendo mais prevalente em indivíduos do sexo masculino. Não foi encontrada diferença estatisticamente significativa entre a presença destes microrganismos e profundidade da bolsa periodontal, faixa etária, hábito de fumar ou presença de doença sistêmica. Foi verificada também a sensibilidade dos microrganismos isolados a 17 antimicrobianos, sendo que, todas as cepas testadas (n=65) foram sensíveis somente a ciprofloxacina quando consideramos o nível sérico atingido após dose usual de cada antimicrobiano.

Delamare et al., (2003) avaliaram o efeito de diferentes osmoprotetores orgânicos sobre o crescimento de *Aeromonas trota* e *Aeromonas hydrophila* cultivadas em altas concentrações de cloreto de sódio, verificaram que a halotolerância das bactérias está associada ao aumento da concentração intracelular dos solutos orgânicos tais como: prolina, glicina, betaína, ácido glutâmico e glicerol, garantindo que a osmolaridade interna seja sempre maior do que a externa, e que a turgência celular seja portanto mantida. Estes solutos podem ser sintetizados por bactérias, denominados osmólitos, ou obtidos a partir do meio, osmoprotetores. Os resultados apresentados mostraram o efeito osmoprotetor da betaína, que confere a capacidade de crescer em concentrações inibitórias de sal, e este efeito osmoprotetor ocorre em linhagens de *A. trota* e *A. hydrophila*. Já a prolina e o ácido glutâmico não foram eficazes como osmoprotetores. Na *E. coli*, o acúmulo intracelular de betaína depende de sua síntese a partir da colina, ou da sua captação mediada pelo sistema médio Prou. O efeito protetor do extrato de levedura é provavelmente devido ao efeito sinérgico de vários componentes, como sais de potássio, ácido glutâmico, prolina, trealose e glicerol. Os dados experimentais mostraram que o efeito protetor da betaína depende da sua concentração com um nível ótimo entre 0,1 e 1M. Neste intervalo, o efeito protetor é diretamente proporcional à concentração salina. Concentrações muito elevadas de betaína >3M, resultou em diminuição do crescimento bacteriano. A cinética de crescimento sugere

que a diferença observada na halotolerância das bactérias analisadas está associada à síntese de osmólitos ao invés da captação da betaína através do transporte e acumulação de osmoprotetores.

Scybert et al. (2003) investigaram os mecanismos moleculares pelos quais os *Staphylococcus aureus* se comportam frente ao estresse osmótico. Isolaram mutantes sensíveis do *S. aureus* que é uma bactéria Gram-positiva, extremamente halotolerante. A bactéria mutante sensível ao NaCl mostrou um longo período de defasagem, uma taxa de crescimento mais lenta, e uma menor turgência do que a cultura final num meio líquido contendo 1,5M de NaCl. Ao observar a bactéria mutante sensível ao NaCl à microscópica eletrônica, sob condições de estresse, revelaram células grandes pseudo-multicelulares. Apesar de ter os osmoprotetores exógenos, tais como a glicina, betaína, colina, L-prolina, e prolina-betaína, o NaCl não minimizou a sensibilidade das bactérias mutantes. Uma característica incomum de *S. aureus* é a sua capacidade de crescer na presença de altas concentrações de NaCl até 3,5M. Isto tem importância prática à medida em que o *S. aureus* é um patógeno de origem alimentar, e pode ter atividade de crescimento em água a níveis inferiores, equivalente a 2,6M de NaCl. A menor quantidade de água nos alimentos é uma importante estratégia para o controle do crescimento microbiano. A gastroenterite estafilocócica é uma das principais doenças cuja causa é de origem alimentar. Para sobreviver em um ambiente de força osmótica elevada, as bactérias respondem aumentando os níveis internos de solutos compatíveis para manter o equilíbrio de água dentro da célula, seja por transporte ou biossíntese de solutos compatíveis, como a glicina, a betaína, a prolina, e a prolina-betaína. Uma variedade de sistemas de transportes são ativados ou induzidos pelo NaCl e são responsáveis pela entrada de osmoprotetores na célula. Além de acumular solutos compatíveis para manter a pressão de turgescência em resposta a ambientes de alta osmolaridade, o *S. aureus* também passa por um extenso programa de expressão gênica de proteína em resposta ao estresse de NaCl.

Spolidorio et al. (2003) avaliaram a viabilidade dos *Streptococcus mutans* em escovas dentais feitas de material opaco e transparente. Utilizaram 28 escovas de dente (Colgate[®]), divididas em 02 grupos (n=14), sendo metade com material opaco e metade com material transparente. Para a detecção e quantificação de *S. mutans*, as escovas de dente foram inoculadas em tubos de 100mL contendo infusão de

cérebro e coração com cerca de 10^6 UFC, em uma suspensão da estirpe de *S. mutans* padronizada. Após a inoculação, todas as escovas de dente foram incubadas em jarras de anaerobiose com gás carbônico e gás nitrogênio a 37°C por 24h e removidas em intervalos de tempo $T_1=0\text{h}$ (grupo controle), $T_2=30\text{min.}$, $T_3=1\text{h}$, $T_4=2\text{h}$, $T_5=4\text{h}$, $T_6=8\text{h}$ e $T_7=24\text{h}$. Todas as escovas foram colocadas individualmente em tubos estéreis com 4,5mL de solução salina estéril e fisiológica e foram submetidos à vibração num agitador (Vortex[®]) à velocidade máxima por 5min.. A solução salina de 0,5mL com *S. mutans* foi diluída em mil partes e para o cultivo da bactéria, alíquotas de 25 μl de cada diluição foram inoculadas em Ágar Bacitracina de Sacarose-SB-20 a 37°C por 48h. Para a contagem de Unidades Formadoras de Colônia/mL, foi usado um contador de colônias eletrônico (Phoenix – modelo CP600 Plus[®]). Após T_2 , houve uma diminuição do número de bactérias sobre as escovas de dente transparentes e opacas, quando comparadas ao grupo controle. Para a análise estatística, foram utilizados os testes T, de Student e qui-quadrado. Numa mesma diluição de solução salina estéril para o mesmo período de tempo, houve uma diferença estatisticamente significativa do número de *S. mutans*, sendo evidente uma maior diminuição nas escovas de dente transparentes, embora o número de *S. mutans* viáveis não tenha sido estatisticamente diferente nos 02 tipos de escova de dente no final de 24h. Concluíram que as escovas de dente transparentes podem inibir a viabilidade da espécie e que a superfície das mesmas podem apresentar condições favoráveis e atuar como reservatório para a colonização das bactérias.

Borso, Crump e Schelling (2004) investigaram como as capas protetoras de três escovas dentais elétricas, Oral-B Cross Action Power, Sonicare Advance 4100, e Crest SpinBrush Pro, afetaram a retenção de *S. mutans*. As escovas dentais foram inicialmente esterilizadas com óxido de etileno e depois suas cabeças foram imersas por 2 min. em uma solução de *S. mutans*. A seguir, dez unidades de cada marca comercial foram cobertas pelas capas protetoras, enquanto outras dez foram armazenadas no ar seco e à temperatura ambiente. Após 12h, cinco unidades de cada grupo foram agitadas no Vórtex em 10mL de solução salina. Foi feita uma diluição de 1/10 e 40mL foi semeado em ágar Mitis Salivarius. A contagem das bactérias foi feita após 72h a 37°C . Os resultados mostraram que as escovas dentais com capa protetora apresentaram um número maior de UFC após as 12h do que após as 24h, mas as escovas dentais descobertas não apresentaram diferença

significante após 12 e 24h. Concluíram que as capas protetoras influenciam na retenção de *S. mutans* inicialmente, mas à medida que as escovas secaram, o nível de bactéria decresceu independente das mesmas estarem cobertas ou não pela capa protetora. Os pacientes que optarem por usar capa protetora, devem aguardar pelo menos 12h após o último uso para fazê-lo.

Kuwano et al. (2005) estudou o duplo mecanismo anti-bacteriano da nisina Z e da vancomicina na permeabilização da membrana plasmática nas bactérias Gram-positivas e Gram-negativas e observou que a nisina Z purificada é um peptídeo antimicrobiano da família dos Lantibióticos. A nisina Z tem sido empregada como um conservante de alimentos, pois apresenta alta atividade antibacteriana com uma toxicidade relativamente baixa para os seres humanos. É conhecida por exercer uma atividade antibacteriana em bactérias Gram-positivas, mas não em Gram-negativas. Para esclarecer os mecanismos de atividade, a nisina Z e a nisina Z purificada foram testadas quanto à sua atividade antibacteriana em um ambiente de alta-salinidade. Em um ambiente de alta salinidade (100mM de NaCl). A nisina Z é capaz de exercer atividade antibacteriana nos *S. aureus* mas em contrapartida não mostra qualquer atividade contra *E. coli*. Da mesma forma a nisina Z promove a permeabilização da membrana citoplasmática do *S. aureus* que se mantém estável em ambiente altamente salino, enquanto a permeabilização da membrana citoplasmática da *E. coli* foi quase inibida. A vancomicina foi capaz de inibir a permeabilização da membrana citoplasmática do *S. aureus* impedindo a entrada da nisina Z, sugerindo que tal inibição se dá através da ligação da vancomicina ao lipídio II. Assim a nisina Z utiliza dois mecanismos distintos na atividade bacteriana: o mecanismo catiônico halossensível mediado pelo ácido amino para *E. coli*, e o mecanismo halossensível mediada pelo lipídio II para o *S. aureus*. Ensaios clínicos para o uso terapêutico da nisina Z estão em andamento. As principais células-alvo serão as bactérias Gram-positivas; entretanto bactérias Gram-negativas também serão alvos quando a nisina Z for administrada em um ambiente relativamente pobre em sal, como a superfície hídrica da mucosa pulmonar e da mucosa gástrica.

Neves et al. (2005) avaliaram a resistência da levedura *Debaryomyces hansenii*, que hora é classificada como halofílica e hora como halotolerante. Estudaram conceitos de grande importância como o de halotolerância que é a capacidade do microrganismo crescer a uma taxa praticamente constante até uma

determinada concentração de sal, a partir da qual, o seu crescimento diminui, sendo completamente inibido ao atingir uma concentração específica de sal (halotolerância); e a halofilia é a capacidade de crescimento favorecido pela presença de sal existindo uma concentração ótima a partir da qual seu crescimento é afetado. Existem fatores intrínsecos ou extrínsecos que influenciam na halotolerância e/ou na halofilia. Nos fatores intrínsecos destacam-se a variabilidade intra-específica e o estado fisiológico. Este último está relacionado com as etapas que ela atravessa durante seu desenvolvimento. As células em fase de crescimento exponencial são mais sensíveis ao NaCl do que células em fase de desaceleração e fase estacionária.

Antunes, Peres e Mello (2006) analisaram as informações produzidas por um levantamento epidemiológico de saúde bucal de extensão nacional, com o objetivo de documentar a prevalência da necessidade de tratamento odontológico na dentição decídua. Analisaram ainda a associação entre a doença cárie dentária e as características sócio demográficas das crianças examinadas com as informações geográficas das cidades participantes do levantamento. A cárie dentária precoce em dentes anteriores tem sido associada como precursora da cárie dentária na dentição decídua posterior; e esta, como preditora dessa em molares permanentes. A cárie dentária é uma importante fonte de dor e distúrbios funcionais e estéticos. Apesar de passível de prevenção, continua sendo a mais prevalente doença bucal na infância e compreende três dimensões: a prevalência, a gravidade e o acesso da população ao tratamento odontológico. Prevalência refere-se à proporção de crianças manifestando a doença, independentemente de quantos dentes tenham sido afetados; de ter ou não recebido tratamento; da gravidade da doença. O acesso a tratamento odontológico pode ser avaliado através de estudos e de dados agregados pela análise da proporção de dentes tratados em relação ao total de dentes afetados pela doença. O estudo de desigualdades sócio-demográficas, na distribuição da necessidade de tratamento odontológico da dentição decídua nas regiões brasileiras, indicou uma alta prevalência em crianças negras e pardas em relação às brancas, na zona rural em relação à zona urbana e em crianças de pré-escolas públicas em relação às de pré-escolas privadas. Observou-se que essas discrepâncias foram ainda mais intensas nas regiões Norte e Nordeste em comparação com as regiões Sul e Sudeste.

Molina-Filho et al. (2006) avaliaram a influência da temperatura e da concentração de duas soluções de NaCl em soluções preparadas com água destilada nas concentrações de 10 a 30%, nas isotermas de sorção de carne de tambaqui, obtidas em 3 temperaturas 5°, 17° e 29°C e não foi observado o crescimento microbiano, o que se deve à dissolução do sal. As umidades relativas foram obtidas com dez soluções salinas saturadas correspondendo a faixa de atividade de água de 0,02 a 0,90. Os sais usados foram: NaOH, LiCl, $KC_2H_3O_2$, $MgCl_2$, K_2CO_3 , $MgNO_3$, $NaNO_2$, NaCl, KCl e $BaCl_2$. O tempo para alcançar o equilíbrio variou de 3 a 4 semanas. O cloreto de sódio utilizado foi o sal grosso comercial, que tem em sua composição 19% de iodo e 16% de sódio. O teor de umidade de equilíbrio foi influenciado pela temperatura e pela concentração da solução osmótica. Relacionando a atividade de água nas três temperaturas testadas, e nas duas concentrações de NaCl, observou-se que ocorreu um aumento na umidade de equilíbrio quando houve uma diminuição na temperatura ou um aumento na concentração de NaCl. O calor de sorção é inversamente proporcional à umidade, ou seja, quanto maior o conteúdo de umidade menor será o valor do calor de sorção.

Santos, Lamosa e Costa (2006) pesquisaram os extremófilos, que são microrganismos resistentes a condições ambientais extremas. Constataram que os halofílicos moderados utilizam, em geral, estratégias de osmoadação mais flexíveis que lhes permitem responder rapidamente a flutuações de salinidade de meio exterior. As estratégias de adaptação passam pela acumulação de solutos compatíveis (compostos orgânicos de baixa massa molecular), quer importados do meio ou recém-sintetizados e que mesmo em concentrações elevadas, são inofensivos para a funcionalidade das proteínas e de outros componentes celulares. Trealose, betaínas, ectoínas e glicerol são alguns dos solutos compatíveis mais frequentemente associados a estratégias de osmoadação em halofílicos que proliferam em ambientes com valores moderados de salinidade. No entanto, as microalgas do gênero *Dunaliella* usam como soluto compatível o glicerol para contrabalancear a pressão osmótica em ambientes extremamente salinos. Esta estratégia não implica na modificação dos componentes celulares e permite responder com versatilidade a flutuação rápida de salinidade do meio. A acumulação de solutos, além de conferir uma larga adaptabilidade, apresenta ainda a vantagem de proteger a célula contra agressões moderadas de temperatura. Talvez seja por

este conjunto de fatores que a acumulação de solutos orgânicos constitui a solução encontrada na maioria dos microrganismos conhecidos.

Coutinho et al. (2007) verificaram a forma de acondicionamento e as condições das escovas dentais de pré-escolares, buscando orientar os educadores sobre os cuidados necessários no manejo dessas escovas. Treze Centros Municipais de Educação Infantil CEMEIS da Secretária Municipal de Educação de Ponta Grossa/PR foram incluídos no estudo, após um sorteio entre todos os estabelecimentos de ensino. As 45 turmas eram frequentadas por crianças na faixa etária de um a seis anos. A pesquisa foi realizada no período de dois meses, sendo que uma examinadora e uma anotadora foram responsáveis pela coleta dos dados. Foram avaliadas 992 escovas dentais com relação ao modo e às condições de armazenamento e esses dados foram registrados com o auxílio de uma máquina digital. As responsáveis pelas instituições foram indagadas sobre o armazenamento das mesmas após a escovação, isto é, se as escovas eram guardadas secas, se por agitação mecânica ou com auxílio de toalhas de algodão. Examinaram o material do recipiente em que as escovas dentais estavam armazenadas, se em conjunto ou individualmente, se havia registro visível dos nomes das crianças nas escovas e presença de resíduos. Os dados foram analisados por estatística descritiva. Os diferentes tipos de recipientes encontrados para acondicionamento das escovas dentais durante a pesquisa foram discriminados. A maioria deles era de plástico. Verificaram que 73,3% das escovas dentais eram guardadas em conjunto em um mesmo recipiente e 26,7% eram armazenadas individualmente. Após o uso, identificaram que 73,3% das escovas dentais retornavam secas para o recipiente de armazenamento e 26,7% retornavam úmidas. Entre os indivíduos que guardavam suas escovas secas, 87,9% as secavam com toalha de pano e 12,1% utilizavam agitação mecânica. Verificou-se que 68,9% das escovas dentais apresentavam os nomes das crianças, mas 31,1% não tinham qualquer tipo de identificação, sendo que entre as que possuíam registros dos nomes, 32,3% estavam ilegíveis. Quanto à presença de resíduos na base das cerdas, 87,2% das escovas dentais apresentavam esta condição. A maioria das CEMEIS acondicionava as escovas dentais das crianças de forma inadequada. As educadoras desses centros desconheciam o fato de que as escovas dentais entram em contato com os dentes e a gengiva. São necessárias maiores informações aos profissionais da educação infantil acerca de uma melhor forma de acondicionamento das escovas dentais.

Mehta, Sequeira e Bhat (2007) avaliaram o nível de contaminação de escovas dentais que após o uso foram mantidas ao ar livre e das que as cabeças foram descobertas por uma capa de plástico. Também foi avaliada a eficiência da descontaminação das escovas dentais por solução de digluconato de clorexidina a 0,2% e do Listerine®. Os pacientes selecionados eram alunos, de 24 a 27 anos, que residiam em locais que tem condições ambientais semelhantes. O estudo consistiu em 3 etapas, sendo uma por semana, onde em cada etapa foi entregue uma escova dental nova para os participantes, utilizando um único tipo de creme dental. Na primeira fase as escovas eram secas ao ar livre após o uso. Na segunda etapa, as mesmas foram imersas, por 12h, em solução de digluconato de clorexidina a 0,2% ou Listerine®. Já na terceira fase, utilizou-se uma capa de plástico para cobrir a cabeça da escova dental após o uso. Ao término de cada fase as escovas dentais foram encaminhadas individualmente dentro de tubos de ensaio estéreis com um tampão de algodão, para análise microbiológica, onde foram cultivadas em placa de ágar sangue e incubadas a 37°C por 24h. Na primeira etapa observaram que sete das dez escovas dentais contaminadas com *S. aureus*, *S. viridans*, *S. epidermidis* e *Acinetobacter ssp*. Na segunda etapa, a imersão em gluconato de clorexidina se mostrou mais eficiente que a de Listerine®, pois com o uso deste último, duas das cinco escovas dentais examinadas apresentaram crescimento microbiano. Já a terceira etapa, sete das dez escovas dentais apresentaram microorganismos, sendo que 6 foram colonizadas por *Pseudomonas aeruginosa* e uma por *Klebsiella ssp*. Concluíram que a solução de digluconato de clorexidina é mais eficaz para a descontaminação de escovas dentais após o uso do que o Listerine® e que não é aconselhável o uso de capas de plástico para cobrir a cabeça das escovas dentais, pois as mesmas ajudam a reter umidade e favorecem o crescimento microbiano.

Santos et al. (2007) estudaram a eficácia antimicrobiana de produtos naturais frente a microrganismos causadores da endocardite bacteriana (doença grave causada principalmente por *Streptococcus viridans* e *Staphylococcus aureus*) em muitos casos relacionada com a prática odontológica, visto que procedimentos rotineiros na clínica odontológica são potenciais causadores de bacteremias. Ocorre em qualquer idade, atingindo o coração com determinadas anormalidades congênitas e/ou adquiridas. Bactérias presentes na corrente sanguínea podem ser aprisionadas e se estabelecer em válvulas cardíacas anormais ou danificadas, no

endocárdio ou no endotélio adjacente a defeitos anatômicos, induzindo à endocardite bacteriana. Bacteremias podem ocorrer mesmo durante as atividades do cotidiano de um indivíduo, durante a escovação, uso de fio dental e mastigação. O objetivo foi testar a eficácia in vitro dos extratos de bardana, tanchagem, cajueiro e própolis a 20, 30 e 100% frente a microrganismos causadores da endocardite bacteriana. As amostras testadas incluíram suspensões de cocos Gram positivos (*Staphylococcus aureus*; *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus sp.* e *Micrococcus luteus*), bacilos Gram positivos (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*; bacilos Gram negativos (*Escherichia coli* e *Klebsiella pneumoniae*) e amostras de fungo *Candida albicans*, *C. tropicalis* e *C. guilliermondii* em concentração de 10^8 células. Placas de agar Muller Hinton foram semeadas com as suspensões de microrganismos e discos de papel de filtro foram embebidos nas substâncias a serem testadas. As placas foram incubadas a 37°C/48h e a seguir determinou-se o diâmetro dos halos de inibição do crescimento microbiano, quando presente. O produto que apresentou melhor ação antimicrobiana foi a própolis nas diferentes concentrações, com ação frente aos cocos Gram positivos, bacilos Gram positivos e negativos. Dentre as espécies de *Candida*, *C. tropicalis* foi mais sensível à bardana e *C. albicans* foi a mais resistente. A eficácia de produtos naturais na profilaxia direcionada contra os microrganismos causadores da endocardite bacteriana in vitro foi baixa, entretanto, verificamos que dentre eles a própolis foi a mais efetiva.

Trabulsi, Toledo e Gomes (2008) relataram que a *Pseudomonas aeruginosa* é um bacilo Gram-negativo não fermentador, considerado um dos principais agentes de infecção hospitalar e um dos mais frequentemente isolados nos laboratórios de microbiologia clínica em diferentes materiais. Taxonomicamente encontra-se dentro da família *Pseudomonadaceae*. É um dos microrganismos mais ubiqüitários, pois é encontrado no solo, água, vegetais, animais, alimentos e nos mais diversos ambientes hospitalares. Raramente causa infecção em um indivíduo imunocompetente, porém é um dos principais agentes de infecção em indivíduos imunocomprometidos, estando associada a diferentes tipos de infecções oportunistas. É causa importante de infecções nasocomiais do trato respiratório, incluindo pneumonia associada à ventilação, e infecções em pacientes queimados. Sua importância clínica está relacionada a uma ampla expressão de fatores de virulência, assim como resistência intrínseca e adquirida a várias classes de

antibióticos, decorrente de distintos mecanismos, que podem ser expressos isoladamente ou combinados.

Brian (2009) estudou um tipo particular de bactérias: as halófilas ou halofílicas que são microrganismos que se desenvolvem em ambientes com alta concentração de sais, particularmente o cloreto de sódio (NaCl). Sua nomenclatura advém da afinidade por este mineral, uma vez que o cloro é um halogênio (halo: de halogênio; filo: afinidade). A presença de bactérias halofílicas já foi detectada em sedimentos ricos em sais, datados de mais de 250 milhões de anos. Porém, a viabilidade celular de tais bactérias tem sido continuamente criticada, ou seja, se estas bactérias ainda permaneceram vivas depois de todo este tempo, levantando-se a hipótese de que uma manipulação menos cuidadosa teria levado à contaminação destas amostras com bactérias “atuais” e vivas. Porém os pesquisadores conseguiram isolar e cultivar bactérias que estavam até então “dormentes”, na forma de esporos, de minerais ricos em sais datados de 22.000 a 34.000 anos. Junto com tais bactérias os pesquisadores encontraram fragmentos de algas do gênero *Dunaliella*. O tamanho das células das bactérias encontradas foi muito menor do que o tamanho “normal” das células de bactérias comuns, indicando que as bactérias que permaneceram todo este tempo em contato com altas concentrações de sais entraram em estado de desnutrição extrema (*starvation*), podendo manter-se unicamente por se aproveitar da matéria orgânica fornecida pelas algas com as quais permaneceram em contato. Os microrganismos isolados mostraram ser do grupo *Archaea*, um dos grupos mais primitivos de microrganismos, e foram classificadas como pertencentes aos gêneros *Halorubrum*, *Natronomonas* e *Haloterrigena*. Foram tomados cuidados extremos para evitar qualquer tipo de contaminação com bactérias atuais e o comprometimento das análises. Para se ter uma ideia da concentração da solução de sais utilizada pelos pesquisadores, para o crescimento das bactérias isoladas é de até 4,3M/L de sal, sendo que a concentração de NaCl em uma solução fisiológica, utilizada para colírios, nariz e tratamento de diarreia em crianças é de 0,15M/L. Não é qualquer tipo de bactéria que cresce em um meio contendo uma concentração de sal tão alta. Somente bactérias muito bem adaptadas a um meio tão salino crescem nestas condições. Esta concentração de sais também evita a contaminação por bactérias “atuais”. Uma vez que conseguiram isolar as bactérias, os pesquisadores analisaram uma parte do seu RNA ribossômico, chamada de 16S,

região do RNA ribossômico muito utilizada para a classificação de bactérias. As análises forneceram informações sobre a classificação das bactérias isoladas, como pertencentes ao grupo das *Archea* halofílicas.

Mesquita (2009) relatou o histórico do sal; o uso de salgar alimentos, prática difundida no Egito há cerca de 4.000 anos a.C., utilizada para a conservação dos alimentos. O sal era usado pelos gregos e romanos como moeda em suas operações de compra e venda. A palavra latina salário deriva-se de sal, pois parte dos vencimentos de legiões romanas era paga com sal. Depois foi incorporada ao soldo. Na Idade Média, o sal era transportado por estradas construídas especialmente para esse fim. Na mesma época, os europeus fizeram fortunas com o sal como tempero. E até o século XVIII, a ordem de assento de nobres em uma mesa de banquete era indicada pela posição de um saleiro de prata maciça colocado na mesa: os menos ilustres ficavam abaixo do sal, mais distantes do anfitrião. Mesmo no final do século XIX e começo do século XX o sal, além de ser usado como condimento e produto medicinal, passou a ser uma das matérias-primas essenciais para a indústria química e têxtil. Na área medicinal o sal pode ser usado para amenizar dores, estimular a circulação, aumentar a pressão arterial, combater inflamações. O gargarejo de sal com água morna é usado para amenizar inflamação na garganta e na gengiva. O sódio e o cloro no sal são eletrólitos, minerais que conduzem eletricidade em nossos fluidos e tecidos. Outros eletrólitos são o potássio, o cálcio e o magnésio. Nossos rins controlam a quantidade de eletrólitos e de água, filtrando e regulando os fluidos que ingerimos e expelindo-os de nossos corpos. Se essa quantidade de fluidos estiver alterada, nossos músculos, nervos e órgãos não irão funcionar corretamente porque as células não conseguem gerar contrações musculares e impulsos nervosos. O sal é responsável pela troca de água das células com o seu meio externo, ajudando-as a absorver nutrientes e eliminar resíduos. A ingestão de sal requer equilíbrio. O baixo nível de sódio no plasma sanguíneo é chamado de hiponatremia e é um dos distúrbios de eletrólitos mais comuns, podendo causar inchaço cerebral e morte. A hipernatremia é a alta concentração sérica de sódio. Nessa condição, os rins não conseguem eliminar fluidos pois o volume de água no organismo é muito baixo e com isto há o aumento da pressão arterial, que por sua vez pode fazer o coração bater mais forte. Por causa disso, alguns médicos tratam a síndrome da fadiga crônica por meio do aumento da

ingestão de sódio. A quantidade de ingestão diária necessária é de uma colher de chá, ou seja, 2,4g de sódio. A presença do sódio preserva o alimento por remover umidade e afastar bactérias. Mas o emprego do sal além de remédio para eliminar infecções, preservar alimentos, suavizar a dor, pode também ser usado para a limpeza doméstica e desodorização de ambientes. O sal é usado para derreter gelo, por meio da diminuição do ponto de congelamento. Até mesmo no âmbito dos modismos religiosos pós-modernos se inclui o sal, o qual é usado pelo xintoísmo para purificar coisas, enquanto os budistas o usam para afastar o mal.

Vazoller et al. (2009) realizou uma meta-análise sobre a diversidade do domínio *Archaea*, pois perceberam que é um assunto pouco explorado e conhecido em todos os ramos da Microbiologia. Sabe-se que é um grupo de organismos que habita ambientes altamente salinos, como lagoas com elevada concentração salina ou mesmo a superfície de alimentos preservados por salmora. Os hábitos das *Archaea* halófilas extremas são denominados hipersalinos e as espécies em cultivo laboratorial podem requerer entre 1,5 e 4M de NaCl para crescimento. A concentração elevada de sódio é essencial para a manutenção de estabilidade da parede celular em alguns organismos, como em *Halobacterium* spp. As espécies de *Archaea* hiperhalofílicas são classificadas filogeneticamente em 8 gêneros e 18 espécies, através da sequência de RNAr 16S e de características morfofisiológicas (composição de parede celular, presença de flagelos, coloração de Gram, tolerância à salinidade, plasmídeos). Esses organismos apresentam, na sua maioria, morfologia celular em forma de cocos e bacilos. Os microrganismos do Domínio *Archaea* são considerados únicos, com propriedades metabólicas extraordinárias e filogenia particular. Compreendem os microrganismos anaeróbios sensíveis ao oxigênio, os termófilos mais extremos, e halofílicos cujas enzimas são adaptadas a elevadas concentrações salinas. Apesar da organização celular procariótica, são organismos evolutivamente distintos das bactérias (Domínio *Bacteria*), em função de características de organização do genoma, expressão gênica, composição celular e filogenia. As *Archaea* são divididas em três Reinos: *Crenarchaeota*, *Euryarchaeota* e *Korarchaeota*. Várias espécies de *Archaea* são quimiorganotróficas, utilizando diferentes compostos orgânicos como fonte energética para seu crescimento. É usual a ocorrência em *Archaea* de vias metabólicas semelhantes às aquelas encontradas em organismos do Domínio *Bacteria*. Como exemplo disto há o fato de

que o catabolismo da glicose em halófilas extremas e hipertermófilas se processa, basicamente, pela via de Entner-Doudoroff. Entretanto, alguns organismos apresentam vias bioquímicas raras, como as células metanogênicas, que, através de sistemas enzimáticos únicos, produzem o gás metano.

Dias et al. (2010) avaliaram 44 linhagens de *E. coli* isoladas de amostras cárneas de mexilhões quanto a sua sensibilidade à antimicrobianos. Vinte e quatro tipos desta droga foram testados e padrões variáveis de comportamento das bactérias aos antimicrobianos foram observados. Muitas doenças podem ser transmitidas por alimentos, dentre elas podemos ressaltar as de origem bacteriana, com destaque para as causadas por *Escherichia coli*, microrganismos pertencente ao grupo dos coliformes, bastonetes Gram-negativo, mesófilo típico (crescimento a 37°C), fermentador da lactose com produção de ácido e gás. A *E. coli* de um modo geral é um comensal inofensivo pertencente à microbiota normal do intestino dos animais de sangue quente, inclusive o homem, e quando presente nos alimentos indica contaminação de origem fecal. Entretanto, diversas amostras dessa espécie podem apresentar potencial patogênico e, de acordo com as manifestações clínicas que determinam e os fatores de virulência que possuem, são classificadas em ao menos cinco categorias: *E. coli* enteropatogênica (EPEC), *E. coli* enteroinvasora (EIEC), *E. coli* enteroagregativa (EAEC), *E. coli* enterotoxigênica (STEC/EHEC). Constatou-se múltipla resistência de linhagens de *E. coli* a diferentes antimicrobianos, fato este que nos leva a concluir que o consumo de alimentos e o de mexilhões, em particular, principalmente se crus ou pouco cozidos, contaminados por esta bactéria representa um risco à Saúde Pública e um agravo preocupante em relação ao estabelecimento de infecções alimentares ou colonização no trato gastrointestinal do homem.

Cretenet et al. (2011) revisaram a literatura sobre a virulência e o metabolismo de *Staphylococcus aureus* isolados na presença de *Lactobacillus lactis* no processo de fabricação da matriz de queijo. Observaram que em resposta às alterações ambientais, na presença de *Lactobacillus lactis*, há a produção de enterotoxinas estafilocócicas no ecossistema do queijo, e esse é um problema que envolve a competição microbiana, o metabolismo e a expressão da virulência. Tais alterações podem ser afetadas pelos processos tecnológicos e pela atividade microbiana, levando a mudanças no comportamento adaptativo dos *S. aureus* através de várias vias regulatórias. A virulência e o metabolismo de *S. aureus* são

drasticamente afetados por *Lactococcus lactis* na matriz de queijo, pois as linhagens de *Lactococcus lactis* afetam o metabolismo de carboidratos e nitrogênio e a resposta ao estresse de *S. aureus* por acidificantes, enzimas de proteólise diminuem o potencial redox da matriz de queijo. Concluíram que é necessário decifrar os mecanismos moleculares subjacentes dos *S. aureus*, em resposta a estas mudanças ambientais multifatoriais e dinâmicas na matriz de queijo, para abrir caminhos para o desenvolvimento de novas estratégias de prevenção contra este importante patógeno de origem alimentar.

Siqueira Júnior (2011) verificou o nível de contaminação das escovas dentais de 54 estudantes dos 2º, 5º e 9º períodos do curso de graduação em Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, Brasil, com relação à higienização e ao armazenamento, bem como a eficácia da solução aquosa do digluconato de clorexedina a 0,12% em spray, na descontaminação das escovas dentais. O estudo foi dividido em 02 etapas, com duração de 15 dias cada etapa: na etapa 1, os participantes foram divididos em 02 grupos (G1 e G2), onde cada acadêmico recebeu escova e creme dental novos. Na etapa 2, o G1 passou a se chamar experimental e o G2, controle: o experimental recebeu escova e creme dental e um frasco borrifador com solução básica aquosa, composta de água destilada e edulcorante estévia, acrescido de digluconato de clorexedina 0,12%. No grupo controle, cada participante recebeu o mesmo conjunto e o frasco borrifador continha apenas a solução básica. Receberam um protocolo de orientação para utilização, desinfecção e armazenamento da escova dental. Antes de iniciar a pesquisa e após as duas etapas, os acadêmicos responderam a questionários com dados sobre seus hábitos de higiene e armazenamento das escovas dentais. As escovas dentais foram devolvidas em envelopes lacrados ao pesquisador para a análise microbiológica. As escovas dentais foram inseridas em tubos de ensaio estéreis identificados, contendo 7mL de solução fisiológica a 0,9% estéril, e os tubos foram agitados no Vortex®, por 20s. Com o auxílio de uma alça calibrada foi coletado 1µL desta solução e semeado por esgotamento no meio de cultura CHROMagar Orientation®. As placas foram incubadas a 35,5°C e aerobiose por 24h. Os dados foram submetidos a teste estatísticos. Os resultados deste estudo mostraram que ocorreu um maior índice de contaminação das escovas dentais dos alunos do 2º período em relação às dos alunos do 5º e do 9º períodos. Houve uma

redução acentuada nos índices de contaminação na etapa 2, sendo estatisticamente significativa para os alunos do 2º e 9º períodos. No 5º período ocorreu uma redução, porém sem significância estatística, que pode ser explicado pelo relato da ocorrência de contato de suas escovas dentais com outras escovas no local de armazenamento. Entre os grupos, a redução da contaminação foi estatisticamente significativa entre G1 e o experimental. Entretanto, uma redução foi observada entre o G2 e o controle, demonstrando que hábitos de higiene e armazenamento adequados são suficientes para reduzir a contaminação de escovas dentais.

Antunes (2012) destacou no editorial da Revista de Saúde Pública dois estudos; um sobre medicamentos falsificados no Brasil e outro sobre os cuidados odontológicos em pré-escolares. Apesar da alta prevalência da cárie dentária, essa tem diminuído significativamente no Brasil nas últimas décadas, devido à proteção específica e a promoção de saúde, declínio esse, reconhecido como um dos maiores avanços na epidemiologia em saúde bucal. No entanto, a baixa utilização dos serviços odontológicos pelas crianças, especialmente as que estão na idade pré-escolar, cujos dentes são decíduos, dificulta a integração do atendimento odontológico com estratégias de prevenção primária. Existe a necessidade de determinar o que foi alcançado e o que continua a ser feito no atendimento odontológico, para que o tratamento seja integrado, interligando a parte curativa, através da restauração de dentes cariados, com a parte preventiva, fornecendo orientações sobre os hábitos alimentares, a higiene bucal e intervenções em fases iniciais da desmineralização do dente.

Theodoro (2012) relatou que o sal já foi considerado como indispensável para a nutrição do ser humano. Nossos ancestrais descobriram que o suor era salgado e, talvez por intuição, isso tenha levado à associação de que o sal excretado do corpo através da transpiração deveria ser repostado de alguma forma. Com o tempo, o sal se tornou uma preciosa mercadoria. Minas de sal, onde este precioso complemento alimentar pode ser extraído, tornavam poderosos os seus proprietários. O Arcebispo de Salzburg, na Áustria, auferia altos rendimentos da comercialização do sal e patrocinava as artes, a música, mantinha e financiava a família Mozart. A comida sem sal torna-se pouco apetecível e é indicada pelos médicos somente quando o tipo de transtorno metabólico assim exige. A substituição do sal comum (cloreto de

sódio) por outros sais como o cloreto de potássio, pode ser uma solução que no entanto altera o sabor do alimento.

Gaetti-jardim et al. (2013) revisaram os protocolos de atendimento a pacientes hospitalizados já publicados, e a partir dessa propuseram um protocolo de atuação da Odontologia junto aos serviços de saúde, dentro de uma rotina de inspeção clínica e cuidados preventivos aos pacientes internados, por meio da instituição de um protocolo de atendimento às enfermarias, setor de doenças infecto-parasitárias, maternidade, centros de terapia intensiva e unidades coronarianas. As doenças infecciosas na cavidade bucal têm sido frequentemente associadas a alterações na resposta imunológica, falta de higiene oral, desnutrição severa, tabagismo, alcoolismo e diabetes, os quais podem predispor o indivíduo ao desenvolvimento de gengivite e periodontite. Além desse aspecto, a relevância da resposta imune local e sistêmica na proteção dos tecidos periodontais leva à deterioração das condições dos tecidos de suporte, bem como facilita a colonização da cavidade bucal por microrganismos superinfectantes, como as bactérias entéricas e pseudomonas. A pneumonia bacteriana, a doença pulmonar obstrutiva crônica, as doenças cardiovasculares, a artrite reumatoide e os partos prematuros são algumas das complicações que podem decorrer de patógenos advindos da cavidade bucal. Foi realizada uma busca detalhada nos bancos de dados PubMed, ISI, Bireme, Scielo, Cochrane, Dentistry Oral Science de 1980-2012, com os critérios de inclusão artigos clínicos e de revisão, que abordavam o tema Odontologia Hospitalar tanto estudos em Inglês como em Português. Os dados foram analisados, cruzados e debatidos para a realização da redação. A partir dessa revisão, os dados foram organizados e apresentada uma proposta de protocolo de atendimento a pacientes hospitalizados. Foram encontrados poucos artigos e protocolos de atendimento ao paciente hospitalizado publicados, portanto sugerem um protocolo, que poderá auxiliar o CD na prática da Odontologia Hospitalar. A Odontologia precisa atuar em uma Equipe de Saúde em que os profissionais estejam conscientes de que as diferentes especialidades devem se inter-relacionar para o tratamento integral do paciente que se encontra em ambiente hospitalar.

Pereira et al. (2013) descreveu a otimização da produção de nanopartículas de prata utilizando nova síntese de ação sanitizante. Os descontaminantes químicos são utilizados na higienização de superfícies que entram em contato com os

alimentos, de forma a eliminar patógenos e reduzir deterioradores assegurando a inocuidade dos alimentos para os consumidores. Atualmente, tem-se o interesse no desenvolvimento de novos antimicrobianos, em razão do aumento no número de bactérias resistentes. Neste contexto, o objetivo foi otimizar a produção de nanopartículas de prata a partir de uma nova síntese, bem como avaliar sua capacidade antimicrobiana por diferentes metodologias. Observou-se que o rendimento na produção das nanopartículas de prata aumentou à medida que a concentração do surfactante usado na dispersão foi também aumentada, isto pode ser explicado pelo fato da reação de formação das nanopartículas se caracterizar como uma catálise micelar. Pelos resultados obtidos no teste de adesão bacteriana, observou-se que a adesão de *Staphylococcus aureus* e *Listeria innocua* foi menor nas superfícies condicionadas com as nanopartículas de prata. As nanopartículas de prata também foram capazes de reduzir o número de bactérias aderidas em diferentes superfícies de aço inoxidável, superfícies estas, comumente utilizadas nas indústrias de alimentos. Portanto, as nanopartículas de prata obtidas por uma nova síntese apresentam-se eficientes como agentes antimicrobianos, com potencial uso como sanitizantes, na indústria de alimentos.

3 PROPOSIÇÃO

Avaliar a ação da solução de NaCl a 10% no controle bacteriano de escovas dentais contaminadas pelos patógenos: *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus salivares*, *Streptococcus mutans* e *Echerichia coli*.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

Os materiais que foram utilizados nesta pesquisa estão descritos no quadro 01 abaixo, com os seus respectivos fabricantes. É importante ressaltar que os materiais que não estão especificados os fabricantes é devido a não possuírem tal identificação, e pertencerem ao Laboratório de Fisiologia e Genética Molecular Bacteriana do Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia do ICB – Instituto de Ciências Biológicas da UFJF – MG, onde a pesquisa foi realizada.

Quadro 01 – Discriminação de materiais e seus respectivos fabricantes.

MATERIAL	FABRICANTE
Agitador Vortex	Coleman Equipamentos para Laboratórios Comércio e Importação Ltda., São Paulo, Brasil.
Álcool 70º INPM	Minálcool – Minasçucar S.D. Santa Rosa de Viterbo – SP CNPJ 16.973.000/0004-50 Quím. Resp.: Wilson Aparecido M. Cunha CRQ – IV 04210750 Autorização/MS: 3.03238.8
Alças de Drigalski de 1 ml estéreis	Inoculation Spreaders, T Shape Overall Length 140mm. Blade Width 35mm. Blue Color. PP material. Individual Peel Pack, Irradiation Sterile. REF 33211435D EXP: 2013/11
Algodão	APOLO® - CIA Manufatora de tecidos de algodão – Cataguases – MG CNPJ: 19.525.260/0001-09 – Reg. na ANVISA nº 10387790005 – Indus. Brasileira – Farm. Resp.: Danny Frank Guimarães Brito – CRF MG 12.163
Autoclave	Pressao de trabalho - regulável de 1,0 a 1,5 kgf/cm ² . Temperatura máxima de trabalho – 127°C. Modelo= CS-30 , Capacidade aproximada (Lts)= 30 , Tensão (volts)= 110/220 , Potencia (Watts)= 2000 , DIMENSOES INTERNAS (CM) Diâm.= 30 , Alt.= 45 DIMENSOES EXTERNAS (CM) Larg.= 40 , Comp.= 52 , Alt= 110 CESTO INTERNO Quant= 1 , Diâm.= 28 , Alt.= 33 PesoLíquido (Kg)= 39
Balança de precisão	BEL - BALANÇA DE PRECISÃO 0.1g Referência: S5201
Balão de fundo chato	
Barbante	São Francisco
Becker	
Caneta para identificação do material	Acrilex® – Marcador permanente
Capela de Fluxo Laminar	Veco, Campinas, São Paulo, Brasil

Cloreto de Sódio a 0,9%	Equiplex® - Aparecida de Goiânia - GO Resp. Téc. Patrice Perillo Louly CRF – GO nº5212 -
Colher plástica	
Compasso de metal sem tira linha	Kit – Produtos Kit – China CPS – 140 0B
Envelope autoclaváveis estéreis	Cristófoli Biossegurança, Campo Mourão, Paraná, Brasil. VedaMax tamanhos: 90x260mm e 150x300mm
Escala de McFarland	Laboratório de microbiologia
Escova dental macia	SaniFill modelo - LEADER VIP 30 tufos com higienizador de língua. Fabricado por FACILIT Odontológica e perfumaria CNPJ 28.595.346/0006-03 Rua João Alves, nº160 CEP 81350-110 Curitiba PR
Estante	
Estufa B.O.D.	Eletrolab, São Paulo/SP, Brasil.
Erlenmyer	
Frascos	
Fita adesiva	ADELBRAS Ind. e com. de adesivos LTDA CNPJ 73.077.299/0001-56 Indus. Brasileira
Fita crepe	ADELBRAS Ind. e com. de adesivos LTDA CNPJ 73.077.299/0001-56 Indus. Brasileira
Funil	
Geladeira	Eletrolab, São Paulo/SP, Brasil.
Gaze – Compressa Hidrófila	CREMER
Gorro	Descarpack
Luvas descartáveis	Supermax
Máscara descartável	Descarpack
Meios de cultura Ágar Manitol Salgado Ágar infusão de Cérebro e Coração Ágar Mcconkey	Especificação: Himedia Fabricante: Himedia Laboratories Pvt. LTDA Endereço: A-406, Bahaveshwar Plaza, Mumbai – 400086 Origem: Índia
Papel absorvente	Principal Comércio e Indústria de Café Ltda. Estrada Plínio Casado, 1416 – bairro Califórnia – Nova Iguaçu – RJ/ Brasil CNPJ 30.740.773/0001-75
Papel craft	
Papel laminado	Qualitá

Pipeta Digital	Acura®
Placas de Petri descartáveis 90x15	JProlab – Ind. Com. De Produtos para laboratório – São José dos Pinhais – PR Resp. Téc. Rodrigo Martins CRF/PR 23463 - CNPJ 80.392.434/0001-13
Placas de Petri de vidro	
Ponteiras descartáveis	
Proveta	
Sangue de Carneiro Desfibrinado	EBE.FARMA – Biológica e Agropecuária LTDA –Rua Lúcio de Mendonça, 24 – Tijuca – Rio de Janeiro - RJ
Solução Salina a 10%	Laboratório de microbiologia ICB – UFJF
Tesoura	
Tubos de vidro de ensaio de vidro	

4.2 Método

4.2.1 Preparo para o experimento

As placas de Petri foram preparadas previamente com meios de cultura seletivos para o crescimento de cada um dos espécimes bacterianos estudados (figura 01).

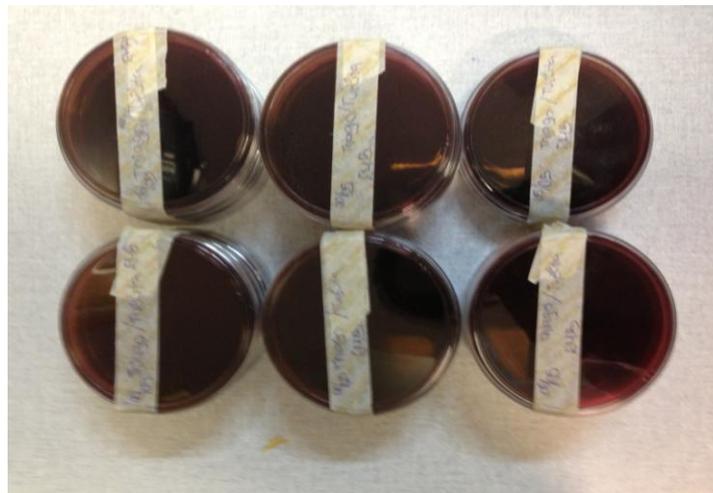


Figura 01 – Placas de Petri previamente preparadas

Para o grupo I utilizou-se o meio de cultura Ágar Manitol Salgado; para o grupo II o Ágar infusão de Cérebro e Coração + sangue de carneiro desfibrinado e para o grupo III o Ágar Mcconkey, (quadro 02).

Quadro 02 – Meio de cultura seletivo e tipo bacteriano para cada grupo.

	TIPO BACTERIANO	MEIO DE CULTURA
Grupo I	<i>S. aureus</i> e <i>S. epidermidis</i>	Ágar manitol salgado
Grupo II	<i>S. salivarius</i> e <i>S. mutans</i>	Agar infusão de Cérebro e Coração + sangue de carneiro desfibrinado
Grupo III	<i>Escherichia coli</i>	Ágar Mcconkey

Foi realizada a contaminação de 30 escovas dentais da seguinte forma: no grupo I (Gram-positivas) - *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*; no grupo II (Gram-positivas) - *Streptococcus salivares*, *Streptococcus mutans* e no grupo III (Gram-negativa) - *Echerichia coli*. Avaliou-se 02 diluições (10^{-2} e 10^{-4}) e o estudo foi em duplicata. As escovas dentais foram divididas em 03 grupos, 02 grupos de 12 e um de 06 (grupo III com apenas uma espécie de microrganismo), sendo 06 para cada bactéria, subdivididas ainda em 03 para o teste e 03 para o controle. Utilizou-se o enxágue das escovas dentais previamente contaminadas para o plaqueamento e posterior contagem de bactérias entéricas Gram-positivas e Gram-negativas, pertencentes à microbiota bucal. Para averiguar a possível descontaminação das escovas dentais utilizou-se a solução salina a 10%, com o tempo de exposição de 10min..

Os meios de cultura foram preparados criteriosamente conforme as especificações do fabricante, em quantidades suficientes para as 24 placas, oriundas do lavado das 12 escovas dentais de cada grupo para as diluições de 10^{-2} e 10^{-4} , que foram vertidas nas placas e secas na capela de fluxo laminar (figura 02).

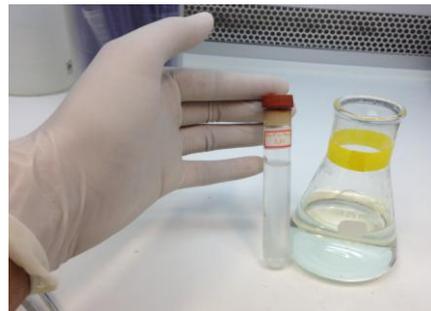


Figura 02 – Meios secando na capela de fluxo laminar

Prepararou-se inócuos de *Staphylococcus* (*S. aureus* e *S. epidermidis*), *Streptococcus* (*S. salivarius* e *S. mutans*) e *E. coli* contendo aproximadamente 1×10^8 UFC/mL.

4.2.2 Contaminação das escovas dentais

Foi obtida uma suspensão bacteriana, em salina estéril a partir de colônias desenvolvidas em meio sólido. Num becker estéril, misturou-se 48mL de salina a 0,9%, que foram distribuídos em 06 tubos com 8mL cada. Uma quantidade mínima de colônia bacteriana foi colhida com uma alça de uma placa contendo a bactéria a ser testada e agitada até sua completa dissolução e homogeneização; caso necessário repetia-se o processo até que o padrão de turbidez (turvação) ficasse igual ao da Escala de 0,5McFarland, que é a escala que permite a determinação por comparação aproximada do número de células de uma suspensão (figuras 03, 04 e 05).



Figuras 03, 04 e 05 – Preparo da suspensão bacteriana e comparação com a escala de MacFarland

Distribuiu-se 8mL da suspensão bacteriana, quantidade suficiente para cobrir a cabeça das escovas dentais, que foram previamente esterilizados vazios e vedados com rolhas. Imergiu dentro de cada tubo, contendo a solução contaminante, 01 escova estéril (figura 06), que foi mantida por 10min., tempo médio

preconizado para uma escovação dental ideal. Todas as escovas foram esterilizadas em autoclave antes do experimento.



Figura 06 – Contaminação das escovas dentais

4.2.3 Esgotamento e Descontaminação pela solução avaliada

Após a contaminação, as 06 escovas dentais foram apoiadas em placas de Petri de vidro estéreis com papel absorvente no fundo, para remoção do excesso de caldo contaminante e seu esgotamento por 1 min. (figura 07); 03 destas escovas dentais foram imersas em tubos com solução de NaCl a 10% e 03 em tubos com a solução controle de NaCl a 0,9% por mais 10min., e um novo esgotamento foi realizado em outras placas de Petri de vidro estéreis com papel absorvente no fundo.



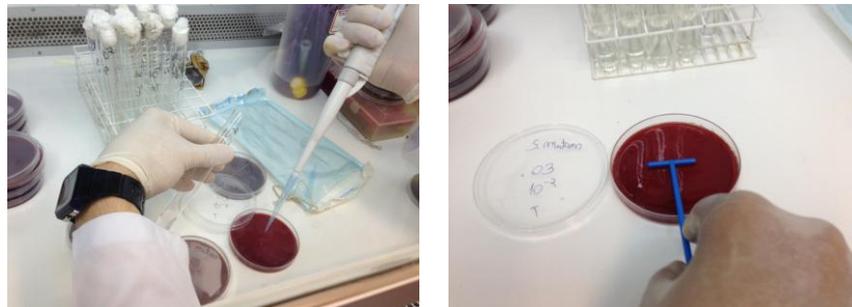
Figura 07 – Esgotamento em placas de Petri estéreis com papel absorvente no fundo

4.2.4 Enxágue

As escovas foram reimersas individualmente em tubos de ensaio contendo solução salina, para a simulação “in vitro” do enxágue das escovas dentais. Os tubos foram vedados com papel laminado estéril e agitados para desprendimento das bactérias no aparelho Vórtex[®], por 20s, na velocidade máxima.

4.2.5 Plaqueamento e Incubação

Com auxílio de uma pipeta graduada foi coletado 0,1mL das diluições e semeado em um meio específico para cada tipo bacteriano (figura 08). O esgotamento foi feito com auxílio de uma alça de *Drigalski* nova e estéril (figura 09), que uniformiza o enxágue no meio de cultura, para seu crescimento e posterior contagem.



Figuras 08 e 09 – Inoculação do enxágue diluído e esgotamento com alça de Drigalski em placa de Petri.

As placas do grupo I e III foram incubadas em aerobiose em estufa bacteriológica a 35,5°C, por 24h. As placas do grupo II, além de serem incubadas em estufa precisam ser colocadas em jarra de anaerobiose, especialmente projetada para permitir o desenvolvimento e o cultivo de microrganismos anaeróbios em atmosfera de CO₂ ou H₂, sem o auxílio de vácuo, manômetros ou válvulas de pressão. Para criar este ambiente anaeróbico, ascende-se uma vela que consome o oxigênio dentro da jarra permitindo a formação do ambiente com alto teor de gás carbônico ou hidrogênio.

Após o período de incubação realizou-se a contagem das UFC (unidades formadoras de colônias) de cada placa, em ambiente laboratorial (figura 10).

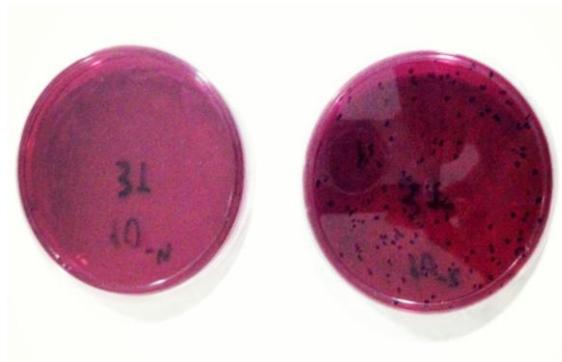


Figura 10 – Contagem das UFC

4.3 Metodologia Estatística

Foram utilizadas médias e desvio-padrão pra a análise descritiva das variáveis métricas e pontos percentuais para as variáveis categóricas. Para a primeira, média e desvio padrão foram calculados. Já a análise estatística foi realizada por meio do teste t de student para amostras independentes para comparação entre as médias de microrganismos no grupo com concentrações de NaCl de 10% e de 0,9%. O nível de significância adotado foi de 5%. Os dados foram analisados usando o programa estatístico SPSS.

5 RESULTADOS

Os resultados foram obtidos 24h após a realização do experimento, a partir da contagem visual das UFC, nas placas de Petri com meios de cultura específicos para o crescimento de cada uma das 05 bactérias estudadas.

A contagem das UFC foi expressa em tabelas na base logarítmica decimal (\log_{10} UFC/mL), para facilitar a compreensão das leituras dos resultados. Vale esclarecer que $\log_{10} 10^2$ é igual a 2, portanto qualquer número de contaminação inferior a dois é considerável aceitável, sem risco de infecção e reinfecção ao usuário da escova dental.

Após a contagem das UFC nas placas, foi necessário aplicar o fator de correção em duas etapas. Na primeira etapa todos os valores encontrados nas contagens foram multiplicados por 10, uma vez que se utilizou 0,1mL para plaqueá-los, para as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus salivares*, *Streptococcus mutans* e *Echerichia coli*.

Na segunda etapa o fator de correção foi realizado ao multiplicar a diluição de 10^{-2} por 100 e a de 10^{-4} por 10.000, objetivando a comparação dos dados.

Após aplicação dos fatores de correção, o resultado das contagens das placas foi submetido ao teste estatístico t de student, não paramétrico, para amostras independentes, para comparação entre as médias de microrganismos nos grupos com concentrações de NaCl a 10% e a 0,9%.

Quadro 03 – Aplicação do teste t de student

<i>Staphylococcus - S. aureus e S. epidermidis – 10 min.</i>					
<i>S. aureus</i>					
Escova 01	NaCl 10%		NaCl 0,9%		
10^{-2}	2320	$2,32 \times 10^3$	670	$6,70 \times 10^2$	
Escova 02	NaCl 10%		NaCl 0,9%		
10^{-2}	1320	$1,32 \times 10^3$	1545	$1,54 \times 10^3$	
Escova 03	NaCl 10%		NaCl 0,9%		
10^{-2}	2490	$2,49 \times 10^3$	1970	$1,97 \times 10^3$	
Média	2043,3		1395,0		P=0,1437
DP	632,2		662,9		
<i>S. epidermidis</i>					

Escova 01	NaCl 10%		NaCl 0,9%		
10^{-2}	845	$8,45 \times 10^2$	990	$9,90 \times 10^2$	
Escova 02	NaCl 10%		NaCl 0,9%		
10^{-2}	875	$8,75 \times 10^2$	800	8×10^2	
Escova 03	NaCl 10%		NaCl 0,9%		
10^{-2}	635	$6,35 \times 10^2$	1160	$1,16 \times 10^3$	
Média	785,0		983,3		P= 0.0988
DP	130,8		180,1		
	<i>Echerichia coli</i> - 10 min.				
	<i>Echerichia coli</i>				
Escova 01	NaCl 10%		NaCl 0,9%		
10^{-2}	1275	$1,27 \times 10^3$	2270	$2,27 \times 10^3$	
Escova 02	NaCl 10%		NaCl 0,9%1550		
10^{-2}	1295	$1,29 \times 10^3$	1550	$1,55 \times 10^3$	
Escova 03	NaCl 10%		NaCl 0,9%		
10^{-2}	1165	$1,16 \times 10^3$	2020	$2,02 \times 10^3$	
Média	1245,0		1946,7		P= 0.0154
DP	70,0		364,6		
	<i>Streptococcus - S.mutans e S. salivarius</i> – 10min.				
	<i>S. mutans</i>				
Escova 01	NaCl 10%		NaCl 0,9%		
10^{-2}	380	$3,80 \times 10^2$	1030	$1,03 \times 10^3$	
Escova 02	NaCl 10%		NaCl 0,9%		
10^{-2}	260	$2,60 \times 10^2$	760	$7,60 \times 10^2$	
Escova 03	NaCl 10%		NaCl 0,9%		
10^{-2}	380	$3,80 \times 10^2$	1030	$1,03 \times 10^3$	
Média	340,0		940,0		P= 0,0018
DP	69,3		155,9		
	<i>S. salivarius</i>				
Escova 01	NaCl 10%		NaCl 0,9%		
10^{-2}	380	$3,80 \times 10^2$	280	$2,80 \times 10^2$	
Escova 02	NaCl 10%		NaCl 0,9%		
10^{-2}	310	$3,10 \times 10^2$	740	$7,40 \times 10^2$	

Escova 03	NaCl 10%		NaCl 0,9%		
10^{-2}	275	$2,75 \times 10^2$	860	$8,60 \times 10^2$	
Média	321,7		626,7		P= 0,0822
DP	53,5		306,2		

O uso do NaCl em uma solução com água destilada a 10% controla o crescimento dos microrganismos que tiveram seus números diminuídos nos lavados das escovas dentais. Os resultados demonstraram que para *Streptococcus salivares*, *Streptococcus mutans* e *Escherichia coli* a solução de NaCl a 10% promoveu uma diminuição no crescimento bacteriano nas escovas dentais por eles contaminadas. Vale ressaltar que a função da solução é diminuir o nível bacteriano, e não esterilizar as cerdas das escovas, pois quando esses microrganismos não estão em dose patogênica, não trazem agravo à saúde. Entretanto para o *Staphylococcus aureus* e o *Staphylococcus epidermidis* ocorreu crescimento.

A solução de NaCl a 10% foi efetiva na descontaminação das escovas dentais de 02 das 05 bactérias estudadas: *Streptococcus mutans* e *Escherichia coli*. Os *Streptococcus salivares*, apesar de terem tido uma diminuição no crescimento, não foi estatisticamente significativa. Contudo, sobre os *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis* não há efetividade, o que já era esperado uma vez que essas são bactérias halotolerantes, crescem em altos níveis de concentração salina e por seu meio de crescimento ser o Ágar Manitol Salgado, cuja concentração de NaCl é de 7,5%.

Sugere-se estudos com NaCl em concentrações acima de 10%, para avaliação do comportamento dos *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*.

6 DISCUSSÃO

A Organização Mundial de Saúde - World Health Organization realizou levantamentos epidemiológicos de saúde bucal no Brasil, utilizando o índice CPOD em adolescentes com 12 anos de idade. Esta medida é amplamente usada para a comparação dos sistemas de saúde bucal entre países (WHO, 1997).

A doença cárie dentária ainda constitui um problema de saúde pública (LEITE e RIBEIRO, 2000 e ANTUNES, 2012). Entretanto, no Brasil, nas últimas décadas tem diminuído significativamente, o que se atribui à proteção específica e a promoção de saúde (ANTUNES, 2012). Apesar de passível de prevenção, continua sendo a doença bucal mais prevalente na infância (ANTUNES, PERES e MELLO, 2006).

A busca pela saúde, e o controle das doenças bucais são de responsabilidade individual da realização da higiene bucal, e da procura por tratamento dentário. A presença e os benefícios do flúor no creme dental e na água potável não são reconhecidos pela população estudada (UNFER e SALIBA, 2000).

Foram escolhidas as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus salivares*, *Streptococcus mutans* e *Echerichia coli* para o estudo pois são as mais comumente associadas a doenças bucais e sistêmicas. A falta ou má realização da higiene bucal e o incorreto acondicionamento das escovas dentais leva a contaminação e recontaminação por esses microorganismos potencialmente patogênicos em níveis contaminantes. As doenças infecciosas na cavidade bucal são associadas a alterações na resposta imunológica, falta de higiene oral, desnutrição severa, tabagismo, alcoolismo e diabetes, os quais podem predispor o indivíduo ao desenvolvimento de gengivite e periodontite crônica (GAETTI-JARDIM et al., 2013). A relevância da resposta imune local e sistêmica na proteção dos tecidos periodontais leva à deterioração das condições dos tecidos de suporte, bem como facilita a colonização da cavidade bucal por microorganismos superinfectantes, como as bactérias entéricas e pseudomonas (GAETTI-JARDIM et al., 2013 e SANTOS et al. 2002). Além de dificultar o tratamento convencional, reservatórios bucais destes microorganismos podem comprometer a vida de pacientes debilitados (SANTOS et al. 2002). Os *Streptococcus mutans* na cavidade bucal de pacientes com carcinoma de orofaringe aumentam durante o tratamento radioterápico, devido ao comprometimento da homeostasia, como a diminuição do

fluxo salivar que favorece o aumento das infecções bacterianas durante o tratamento (SPOLIDORIO et al., 2011). A endocardite bacteriana é doença grave causada principalmente por *Streptococcus viridans* e *Staphylococcus aureus*, relacionada com procedimentos rotineiros na clínica odontológica e com atividades cotidianas como a escovação, o uso de fio dental e a mastigação. Bactérias presentes na corrente sanguínea são aprisionadas e se estabelecem em válvulas cardíacas anormais ou danificadas no endocárdio ou no endotélio adjacente a defeitos anatômicos, induzindo à endocardite bacteriana (SANTOS et al., 2007). A pneumonia bacteriana, a doença pulmonar obstrutiva crônica, as doenças cardiovasculares, a artrite reumatoide e os partos prematuros são complicações que podem decorrer de patógenos advindos da cavidade bucal (GAETTI-JARDIM et al., 2013).

A lavagem da escova dental, o ambiente do seu armazenamento, a frequência de escovação, o uso de enxaguatórios bucais nas escovas ou na boca, (TAJI e ROGERS, 1998) o creme dental utilizado (QUIRYNEN et al., 2001), o material da cabeça da escova, o tipo de cerda (FEO, 1981) e a troca da escova após infecções e/ou inflamações (GLASS e LARE, 1986) influenciam na contaminação das escovas dentais.

As escovas dentais, após o seu uso, são um reservatório bacteriano que precisam de controle para evitar a recontaminação de seu usuário; embora as fabricadas com material transparente e com cerdas de náilon proporcionem um ambiente menos favorável à proliferação bacteriana, os cremes dentais possuem ação degermante e os enxaguatórios bucais serem eficazes na descontaminação das mesmas, esses são compostos de produtos químicos e, portanto tóxicos. Neste trabalho utilizou-se o NaCl como desinfetante de escovas dentais por ser um produto biocompatível, utilizado na alimentação humana.

As escovas dentais convencionais são reservatórios e vetores de transmissão bacteriana. As pessoas devem ser instruídas sobre a sua limpeza e armazenamento (BORGES, 1996; BUNETEL et al., 2000; CARVAJAL et al., 1995 e SIQUEIRA JÚNIOR, 2011). A desinfecção da escova dental com álcool, antes e após o seu uso, impediu a recontaminação do paciente (COBB e MASS, 1920). E em escovas estéreis, após a utilização pelo paciente contaminado foi um vetor de recontaminação e agravamento das suas lesões (BUNETEL et al., 2000 e GLASS, MARTIN e PETERS, 1989 e GLASS, MARTIN e PETERS, 1989), e que os micro-

organismos são disseminados a partir da cavidade bucal (BUNETEL et al., 2000). Apesar de a imunossupressão aumentar a prevalência de ulcerações, as cicatrizações ocorrem um dia após a ausência de micro-organismos.

As escovas dentais que após o uso são armazenadas em ambientes fechados com abertura para ventilação, e as armazenadas sem recipientes são preferíveis àquelas que sem abertura para ventilação (DAYOUB, RSILKO e GROSS, 1977). É desaconselhável o uso de capas de plástico para cobrir a cabeça das escovas dentais, pois ajudam a reter umidade e favorecem o crescimento microbiano (BORSO, CRUMP e SCHELLING, 2004 e MEHTA, SEQUEIRA e BHAT, 2007).

À medida que as escovas secam o nível bacteriano decresce independente de estarem cobertas ou não pela capa protetora, e quem optar pelo seu uso, deve aguardar pelo menos 12h após a última escovação para cobri-la (BORSO, CRUMP e SCHELLING, 2004).

A viabilidade dos *Streptococcus mutans* em escovas dentais transparentes é inibida já que a superfície das mesmas apresenta condições desfavoráveis para a colonização bacteriana (SPOLIDORIO et al., 2003).

A contaminação ocorre tanto na escova quanto no tubo de pasta dental (SVANBERG, 1978). Entretanto essa informação é contraditória, uma vez que a taxa de bactérias aeróbicas e anaeróbicas reduz significativamente pela presença de creme dental de ação degermante, limitando o risco de transmissão bacteriana (QUIRYNEN et al., 2001); sua composição química inibe o crescimento de micro-organismos através da ação enzimática (MOTZFELD et al., 1999).

Comparando os enxaguantes bucais, a solução de digluconato de clorexedina é mais eficaz para a descontaminação de escovas dentais após o uso do que o Listerine® (MEHTA, SEQUEIRA e BHAT, 2007 e SIQUEIRA JÚNIOR et al., 2011).

O desconhecimento da necessidade de higienização adequada deste importante objeto de higiene bucal é uma realidade; o que torna necessário a difusão deste conhecimento, bem como de métodos capazes de promover a sua desinfecção. Tais informações levaram ao desenvolvimento deste estudo, objetivando encontrar um procedimento fácil, de baixo custo, que promova a desinfecção de escovas dentais e sem promover danos ao seu usuário.

O sal pode ser usado para amenizar dores, estimular a circulação, aumentar a pressão arterial e combater inflamações. O gargarejo de sal com água morna é

usado para amenizar inflamação na garganta e gengivas. É responsável pela troca de água das células com o seu meio externo, ajudando-as a absorver nutrientes e eliminar resíduos (MESQUITA, 2009). A presença do sódio preserva o alimento por remover umidade e reduzir a quantidade de bactérias (BRAIN, 2000 e MESQUITA, 2009).

O sal também funciona como elemento que requer equilíbrio em sua ingestão. A baixa quantidade de sal no organismo é chamada de hiponatremia, e é um dos distúrbios de eletrólitos mais comuns e pode causar inchaço cerebral e morte (MESQUITA, 2009 e THEODORO, 2012). O governo dos EUA recomendou através das agências reguladoras como o limite máximo para a população, a ingestão de 65mM por dia, para o tratamento e a prevenção da hipertensão (STOWASSER, 2003).

O sal também pode também ser usado para a limpeza doméstica e desodorização de ambientes, para derreter gelo por meio da diminuição do ponto de congelamento, pelo Xintoísmo para purificar, enquanto os budistas o usam para afastar o mal (MESQUITA, 2009). O que respalda a investigação da possibilidade do uso do sal para o controle bacteriano em escovas de dente.

Um dos mais importantes parâmetros que afetam o crescimento dos micro-organismos é a disponibilidade de água em seu habitat (KUHLMANN e BREMER, 2002 e SCYBERT et al., 2003). A menor quantidade de água nos alimentos é uma importante estratégia para o controle do crescimento bacteriano (SCYBERT et al., 2003).

As bactérias halofílicas se desenvolvem em ambientes com alta concentração de sal, particularmente o cloreto de sódio (BRIAN, 2009; MÁRQUEZ, VENTOSA e RUIZ-BERRAQUERO, 1987; OREN, 1999; VAZOLLER et. al., 2009 e VENTOSA, NIETO e OREN, 1998) existindo uma concentração ótima a partir da qual seu crescimento é afetado (OREN, 1999).

A halotolerância é a capacidade dos micro-organismos crescerem a uma taxa praticamente constante, até uma determinada concentração de sal, a partir da qual, o seu crescimento diminui até a sua completa inibição (OREN, 1999).

A vida microbiana pode ocorrer em locais com diferentes concentrações de sal, tanto em água doce como em ambientes marinhos e até em ambientes com níveis de NaCl acima da saturação (OREN, 2002) e nos três domínios: *Archaea*, *Bacteria* e *Eucarya* (OREN, 1999; VENTOSA, NIETO e OREN, 1998).

Existem fatores intrínsecos e/ou extrínsecos que influenciam a halotolerância e/ou a halofilia. As células em fase exponencial de crescimento são mais sensíveis ao NaCl do que as células em fase de desaceleração e em fase estacionária (NEVES et al., 2005). Entretanto, há um conceito que considera como bactérias verdadeiramente halofílicas as que necessitam especificamente de NaCl para crescerem (WOOLARD e IRVINE, 1995).

De acordo com a necessidade de sal para a manutenção da homeostase, os micro-organismos podem ser classificados em: não halofílicos, marinhos, halofílicos moderados e halofílicos extremos (BARBOSA, 2005).

As bactérias não halofílicas crescem bem em meio contendo menos de 1% de NaCl. Essas são encontradas em água doce e ecossistemas terrestres. As bactérias marinhas crescem bem em meio contendo de 1 a 3% de NaCl. Elas também podem possuir habilidades halotolerantes, podendo coexistir com bactérias halofílicas em ambientes hipersalinos (MÁRQUEZ, VENTOSA e RUIZ-BERRAQUERO, 1987).

Os micro-organismos halofílicos moderados crescem bem em meio contendo de 3 a 15% (0,5 – 2,5 M) de NaCl. Os halofílicos extremos apresentam ótimo crescimento em meio contendo de 15 a 30% (2,5 – 5,2 M) de NaCl (BARBOSA, 2005). Os micro-organismos que crescem de 0 a 15% e de 0 a 30% de NaCl são considerados, respectivamente, halotolerantes moderados e halotolerantes extremos (BARBOSA, 2005 e WOOLARD e IRVINE, 1995).

Na concentração de 10% de NaCl os *Streptococcus salivares*, os *Streptococcus mutans* e a *Pseudomonas aeruginosa* comportaram-se como halofílicas, a *Escherichia coli* como halossensível enquanto os *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*, como extremamente halotolerantes.

As *Archea* são micro-organismos extremófilos (BRIAN, 2009 e VAZOLLER et al., 2009), com morfologia celular em forma de cocos e bacilos, com propriedades metabólicas extraordinárias e filogenia particular (VAZOLLER et al., 2009). Crescem em meio contendo uma concentração de sal de 4,3M (BRIAN, 2009), as espécies em cultivo laboratorial requerem entre 1,5 a 4M de NaCl (VAZOLLER et al., 2009). Apesar da organização celular procariótica, são organismos evolutivamente distintos do Domínio *Bacteria*, em função de características de organização do genoma, expressão gênica, composição celular e filogenia (VAZOLLER et al., 2009).

Na concentração salina a 10% testada, os *Staphylococcus aureus* e *S. epidermidis*, não apresentaram redução em seus crescimentos enquanto as outras quatro linhagens testadas o apresentaram.

Uma característica incomum às bactérias é a capacidade de crescer na presença de altas concentrações de NaCl, e o *S. aureus* é uma bactéria Gram-positiva (SCYBERT et al., 2003) extremamente halotolerante (PINTO et al. 1998 e SCYBERT et al., 2003) e desenvolve-se em até 3,5M (KUWANO et al., 2005 e SCYBERT et al., 2003). É anaeróbia facultativa e produz enterotoxina bastante termoestável que é capaz de resistir às técnicas convencionais de processamento térmico para esterilização (PINTO et al. 1998). A gastroenterite estafilocócica é de origem alimentar (SCYBERT et al., 2003).

A *Pseudomonas aeruginosa* é um bacilo Gram-negativo não fermentador, considerado um dos principais agentes de infecção hospitalar e um dos mais frequentemente isolados nos laboratórios em diferentes materiais. Raramente causa infecção em indivíduos imunocompetente, porém é um dos principais agentes de infecção em indivíduos com defesas diminuídas (TRABULSI, TOLEDO e GOMES, 2008) e é sensível ao NaCl.

A *E. coli* pertence ao grupo dos coliformes, bastonete Gram-negativo, mesófilo típico (que cresce a 37°C) (DIAS et al., 2010) é resistente a diferentes antimicrobianos e leva a concluir que a contaminação bacteriana por este patógeno é um risco à Saúde Pública e um agravo preocupante em relação ao estabelecimento de infecções por via bucal ou colonização no trato gastrointestinal (DIAS et al., 2010 e SEDEGLEY e SAMARANAYKE, 1994). É um comensal inofensivo da microbiota normal do intestino dos animais de sangue quente, inclusive o homem, e quando presente nos alimentos indica contaminação de origem fecal (DIAS et al., 2010). A alteração em sua quantidade na boca e na região de orofaringe de pacientes saudáveis leva a um potencial patogênico para os seres humanos (SEDEGLEY e SAMARANAYKE, 1994).

O mesmo risco e agravo decorrem ao *S. aureus* outro patógeno de origem alimentar (CRETENET et al., 2011, KUWANO et al., 2005 e SCYBERT et al., 2003). Muitas doenças são transmitidas pela boca, com destaque para as causadas por *E. coli* (DIAS et al., 2010 e SEDEGLEY e SAMARANAYKE, 1994).

Os micro-organismos *Streptococcus salivares*, *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* quando expostos a solução salina a

10%, apresentaram redução no crescimento que foi verificada pelas médias e valores absolutos encontrados nas contagens de UFC do lavado das escovas dentais por eles contaminadas, comprovando sua eficácia, na descontaminação das mesmas, apesar da redução dos valores ter sido estatisticamente significativa para *E. coli* e *Streptococcus mutans*.

Já os *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis* cresceram, o que era esperado, uma vez que o meio de cultura específico para o seu crescimento é o Ágar Manitol Salgado, que contém NaCl a 7,5%.

A redução na quantidade dos micro-organismos leva de um potencial patogênico a um não-patogênico para os seres humanos, portanto o objetivo deste estudo é diminuir a quantidade dos micro-organismos nas escovas dentais e não eliminá-los.

Altas concentrações de íons sódio no interior celular dos micro-organismos são tóxicas, pois interferem no seu metabolismo. Para que isto não ocorra, toda bactéria halofílica possui um potente mecanismo de transporte de íons, geralmente um sistema antiporte Na^+/H^+ , para a eliminação desses íons. Estes mecanismos tornam as células microbianas capazes de suportar o estresse osmótico inerente à presença de altas concentrações de NaCl, mantém elevada a pressão osmótica no citoplasma e mantém baixa a concentração de Na^+ intracelular. Uma das estratégias conhecida como mecanismo *Salt-in* envolve o acúmulo de íons de K^+ e Cl^- na manutenção do equilíbrio da concentração intracelular e extracelular (OREN, 1999).

Os halofílicos moderados e/ou extremófilos respondem rapidamente as flutuações de salinidade do meio exterior (KUHLMANN e BREMER, 2002; OREN, 2002 e SANTOS, LAMOSA e COSTA, 2006).

Para suportar e sobreviver em condições hiperosmóticas uma das estratégias de adaptação das bactérias é o aumento na concentração intracelular dos solutos orgânicos compatíveis, garantindo que a osmolaridade interna seja sempre maior do que a externa (DELAMARE et al., 2003; OREN, 2002; SANTOS, LAMOSA e COSTA, 2006 e KUHLMANN e BREMER, 2002). Em condições hipo-osmóticas, as células expulsam os solutos compatíveis para o ambiente extracelular (DELAMARE et al., 2003).

O NaCl ativa ou induz uma variedade de sistemas de transportes, e é responsável pela entrada de osmoprotetores na célula (MOLINA-FILHO et al., 2006; OREN, 1999 e SCYBERT et al., 2003). Para sobreviver em um ambiente de força

osmótica elevada, as bactérias respondem aumentando os níveis internos de solutos compatíveis para manter o equilíbrio de água dentro da célula, seja por transporte ou biossíntese de solutos compatíveis (SCYBERT et al., 2003), o que protege a célula das agressões moderadas de temperatura e mantém a pressão de turgência frente ao estresse osmótico (SANTOS, LAMOSA e COSTA, 2006).

Uma das formas de inibição do desenvolvimento de *S. aureus* é o controle da microbiota, pois é um competidor fraco (CRETENET et al., 2011 e PINTO et al., 1998). Tal inibição é feita pela adição de culturas bacterianas selecionadas, que não produzem compostos ativos contra *S. aureus*, mas inibem o seu desenvolvimento por mecanismo competitivo, contribuindo para a garantia de inocuidade de produtos alimentícios, aumentando sua segurança (PINTO et al., 1998).

Outro mecanismo de controle bacteriano é o duplo intracelular da nisina Z contra bactérias Gram-positivas (*S. aureus*), entretanto não mostra qualquer atividade contra Gram-negativos (*E. coli*) em um ambiente de alta salinidade, 100mM de NaCl. Assim a nisina Z utiliza dois mecanismos distintos na atividade bacteriana: o mecanismo catiônico halossensível mediado pelo ácido amino para *E. coli*, e o mecanismo halossensível mediada pelo lipídio 2 para o *S. aureus* (KUWANO et al., 2005).

A temperatura e a concentração nas soluções de NaCl com água destilada também influenciam no crescimento bacteriano (MOLINA-FILHO et al., 2006).

De acordo com a variação da temperatura os resultados poderão sofrer alterações, uma vez que ocorre um aumento na umidade de equilíbrio, quando há uma diminuição na temperatura ou aumento na concentração de NaCl, este experimento foi realizado à temperatura ambiente, portanto a temperatura não foi uma variável.

A solução de NaCl 10% foi efetiva na sanitização das escovas dentais contaminadas pela *Escherichia coli* e *Streptococcus mutans*; promoveu a diminuição no crescimento dos *Streptococcus salivares*. Entretanto, não houve efetividade nesta concentração, sobre *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*, sugerindo novas pesquisas utilizando concentrações mais altas de Cloreto de Sódio.

7 CONCLUSÃO

Com base na metodologia utilizada e nos resultados obtidos, pode-se concluir que:

A solução de NaCl a 10% foi efetiva no controle bacteriano de escovas dentais contaminadas pelos: *Streptococcus mutans* e *Echerichia coli*. Promoveu a diminuição no crescimento dos *Streptococcus salivares*. Entretanto, não houve efetividade nesta concentração nos *Staphylococcus aureus* e *Staphylococcus epidermidis*.

REFERÊNCIAS

ANTUNES, J. L. F. Highlights on Public Health. **Rev Saúde Pública**, v.46, n.1, p.4-5, 2012.

ANTUNES, J. L. F.; PERES, M. A. e MELLO, T. R. C. Determinantes individuais e contextuais da necessidade de tratamento odontológico na dentição decídua no Brasil. **Ciênc & Saúde Colet**, v.11, n.1, p.79-87, 2006.

BORGES, E. J. S. et al. Verificação de contaminação de escovas de dente por coliformes e parasitas intestinais. **Rev Univ Alfenas**, v.2, n.1, p.183-187, jan. 1996.

BORSO, H.; CRUMP, R. e SCHELLING, M. The effect of toothbrush covers on bacterial retention. **J Dent Hyg**, Chicago, v.78, n.4, Sep., 2004.

BRAIN, M. Como funciona a conservação de alimentos. **HowStuffWork**. 01/04/2000. Disponível em: <http://lazer.hsw.uol.com.br/conservacao-de-alimentos5.htm> Data do acesso: 08/07/2012

BRIAN, A.; et al. Timofeeff and Matthew A. Parker, How do prokaryotes survive in fluid inclusions in halite for 30 k.y, **Geology**, v.37, p.1059-1062, 2009.

BUNETEL, L. In vitro evaluation of the retention of three species of pathogenic microorganisms by three different types of toothbrush. **Oral Microiol Immunol**, Munksgaard, v. 15, n.5, p.313-316, Oct. 2000.

CARVAJAL, E. et al. Presencia de microorganismos em cepillos dentales utilizados em higiene oral habitual. **Rev Dent Chile**, Santiago de Chile, v. 86, n.1, p.25-28, abr. 1995.

COBB, C. M.; MASS, L. M. D. The tooth brush as a cause of repeated infeccions of the mouth. **Boston Med J**, Boston, v. 183, n. 8, p. 263-264, Aug., 1920.

COUTINHO, P. G. Análise do acondicionamento e condições de escovas dentais utilizadas por pré-escolares. **Rev Odonto Ciênc**, Porto Alegre, v.22, n.58, p.335-339, out./dez., 2007.

CRETENET, M.; EVEN, S. e LE LOIR, Y. Unveiling Staphylococcus aureus enterotoxin production in dairy products: a review of recent advances to face new challenges. **Dairy Sci Technol**, v.91, p.127–150, 2011.

DAYOUB, M. B.; RSILKO, D. e GROSS, A. Microbial contamination of toothbrushes. **J Dent Res**, Washington, v.56, n.6, p.706, Jun, 1977.

DELAMARE, A. P. L. et al. The effect of organic osmoprotectors on aeromonas trota and a. hydrophila grown under high sodium chloride concentrations. **Braz J Microb**, v.34, n.1, p.128-130, 2003.

DIAS, M. P. et al. Avaliação da sensibilidade de cepas de Escherichia coli isoladas de mexilhões (Perna perna linnaeus, 1758) à antimicrobianos. **Ciênc Tecnol Aliment.**, Campinas, v.30, n.2, p.319-324, abr.-jun. 2010.

FEO, M. Supervivencia y desinfeccion de Candica albicans en el cepillo de dientes. **Mycopat**, The Hangué, v.74, n.3, p.129- 34, June 1981.

GAETTI-JARDIM, E.; SETTI, J. S.; CHEADE, M. de F. M. e MENDONÇA, J. C. G. de. Atenção odontológica a pacientes hospitalizados: revisão da literatura e proposta de protocolo de higiene oral. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, ano 11, nº 35, jan/mar 2013

GLASS, R. T. e LARE, M. M. Toothbrush contamination: a potential health risk? **Quintessence Int**, Oklahoma, v.17, n.1, p.39-42, Jan. 1986.

KUHLMANN, A. U. & BREMER, E. Osmotically regulated syntesis of the compatible solute ectoine in Bacillus pasteurii and related Bacillus spp. **Appl. Environ. Microbiol.** v.68 n.2, p.772-783, 2002.

KUWANO, K. et al. Dual antibacterial mechanisms of nisin Z against Gram-positive and Gram-negative bacteria. **Int J Antim Agent**, v.26, p.396–402, 2005.

LEITE, I. C. G. e RIBEIRO, R. A. Dental caries in the primary dentition in public nursery school children in Juiz de Fora, Minas Gerais, Brazil **Cad Saúde Pública**, Rio de Janeiro, v.16, n.3, p.717-722, jul-set, 2000.

MÁRQUEZ, M. C., VENTOSA, A. & RUIZ-BERRAQUERO, F. A taxonomic study of heterotrophic halophilic and non-halophilic bacteria from a solar saltern. **J Gen Microbiol**, v.133, p.45-56, 1987.

MESQUITA, A. As propriedades, influência e poder do sal. Templos Gigantes. Assistência da AD a ribeirinhos no Pantanal sul-mato-grossense. Acesso em

<http://fronteirafinal.wordpress.com/2009/06/21/propriedades-influencia-poder-sal/>

MEHTA, A.; SEQUEIRA, P. S. e BHAT, G. Bacterial contamination and decontamination of toothbrushes after use. **N Y State Dent J**, Albany, v.73, n.3, p. 20-22, Apr., 2007.

MOLINA-FILHO et al. Influência nas isotermas de sorção da carne de tampaqui, **Ciênc Tecnol Aliment.**, Campinas, v.26, n.2, p.453-458, abr.-jun. 2006.

MOTZFELD, R. et al. Tipo y grado de contaminación por bacterias bucales y levaduras, de cepillos dentales con uso habitual. **Rev Fac Odontol Univ de Chile**, Santiago de Chile, v.17, n.1, p.9-14, ene./jun., 1999.

NEVES, A. C. H. S.; HENRIQUES, C. C. B. e FERNANDES, D. M. A resistência ao sal em *Debaryomyces hansenii* e outras perspectivas. **Fisiol Microb**, p.1-7. Instituto Superior de Agronomia. Universidade Técnica de Lisboa.

OREN, A. Diversity of halophilic microorganisms: environments, phylogeny, physiology, and applications. **J Ind Microbiol Biotechnol**, v.28, p.56-63, 2002.

OREN, A. Bionergetic aspects of halophilism. **Microbiol Mol Biol Rev**, v.63, n.2, p.334-348, 1999.

PEREIRA, A. A. et al.. Otimização da produção de nanopartículas de prata utilizando nova síntese e avaliação da sua ação sanitizante. **Biosci. J.**, Uberlândia, v. 29, n. 2, p. 506-515, Mar./Abr. 2013.

PINTO. M. F.; PONSANO, E. H. G; FRANCO, B. D. G. M.; SHIMOKOMAKI, M. Controle de *Staphylococcus aureus* em charques (jerked beef) por culturas iniciadoras. **Ciênc Tecnol Aliment**, v.18, n. 2, p. Campinas May/July 1998.

SANTOS, E. B. dos; SLUSARZ, P. A. A.; JUNIOR, V. A. K. e SCHWARTZ, J. P. Eficácia antimicrobiana de produtos naturais frente a microrganismos causadores da endocardite bacteriana. **Publ. UEPG Biol. Health Sci.**, Ponta Grossa, v.13, n.3/4, p.67-72, set./dez, 2007.

SANTOS, H.; LAMOSA, P. e COSTA, M. S. Extremófilos: microrganismos à prova de agressões ambientais extremas. **Biotec Microb**. Boletim de Biotecnologia, p.1-10, 2006.

SANTOS, S.S.F. et al. Prevalence and in vitro sensibility of the Enterobacteriaceae and pseudomonads isolated from the oral cavity and periodontal pockets in patients with chronic periodontitis. **PGRO - Pós-Grad Rev Odontol**, v.5, n.2, p. 74-83, maio/ago 2002.

SCYBERT, S. et al. NaCl-sensitive mutant of *Staphylococcus aureus* has a Tn917-lacZ insertion in its ars operon. **FEMS Microbiology Letters**, v.222, p.171-176, 2003.

SEDEGLEY, C. M. e SAMARANAYKE, L. P. Oral and oropharyngeal prevalence of Enterobacteriaceae in humans: a review. **J Oral Pathol Med**, Copenhagen, v.23, n.3, p.104-113, Mar. 1994.

SIQUEIRA JÚNIOR, H. M.. **Avaliação da contaminação das escovas dentais de estudantes de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora**. 2011. 182. Dissertação – Universidade Federal de Juiz de Fora. Faculdade de Odontologia, Juiz de Fora, 2011.

SPOLIDORIO, D. M. P. et al. Viability of *Streptococcus mutans* on transparent and opaque toothbrushes. **J Dent Hyg**, Chicago, v.72, n.2, p.114-117, July/Dec. 2003.

SPOLIDORIO, D. M. P.; et al. Avaliação quantitativa de *Streptococcus* do grupo *mutans* e *Candida sp* e fatores salivares na cavidade bucal de pacientes submetidos à radioterapia. **Pesqui Odontol Bras**, v. 15, n. 4, p. 354-358, out./dez. 2001.

SVANBERG, M. Contamination of toothpastes and tooth by *Streptococcus mutans*. **Scand J Dent Res**, Gothemburg, v.86, n.5, p.412-414, Sep., 1978.

QUIRRYNEN, M. et al. Bacterial survival rate on tooth and interdental brushes in relation to the use of toothpastes. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v.28, n.12, p.1106-1114, Dec., 2001.

TAJI, S. S.; ROGERS, A. H. ADRF Trebitsch Scholarship. The microbial contamination of toothbrushes. A pilot study. **Aust Dent J**, Sydney, v.43, n.2, p.128-130, Apr., 1998.

THEODORO, A. O sal da alimentação. Disponível em:

<http://pt.shvoong.com/medicine-and-health/1798487-sal-da-alimenta%C3%A7%C3%A3o/>

Acesso em: 08/07/2012

TRABULSI, L. R.; TOLEDO, M. R. F. e GOMES, T. A. T. Diagnóstico bacteriológico. **In: TRABULSI, L. R. ALTERTHUM, F.** (Orgs). Microbiologia. 5. ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2008. P.59-64

UNFER, B.; SALIBA, O. Práticas cotidianas em saúde bucal. **Rev. Saúde Pública**, v. 34, n.2, p.190-195, 2000.

VAZOLLER, R. F.; MANFIO, G. P. e CANHOS, V. P. Diversidade no domínio archaea. **Archea** Cap. 2, p.16-24, 2012.

VENTOSA, A., NIETO, J. J. & OREN, A. Biology of moderately halophilic aerobic bacteria. **Microbiol Mol Biol Rev**, v.62, n.2, p.504-544, 1998.

WOOLARD, C. R. & IRVINE, R. L. Treatment of hypersaline wastewater in the sequencing batch reactor. **Wat Res**, v.29, n.4, p.1159-1168, 1995.

ORGANIZATION, W. H. **Oral health surveys: basic methods**. 4th edition. Geneva:WHO; 1997.

APÊNDICES