

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

**Hélio Machado Siqueira Júnior**

**AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DAS ESCOVAS DENTAIS DE ESTUDANTES  
DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA**

Juiz de Fora  
2011

**HÉLIO MACHADO SIQUEIRA JÚNIOR**

**AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DAS ESCOVAS DENTAIS DE ESTUDANTES  
DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA**

Dissertação apresentada ao PPG –  
Mestrado em Clínica Odontológica da  
Faculdade de Odontologia da  
Universidade Federal de Juiz de Fora,  
como parte dos requisitos para obtenção  
do título de Mestre. Área de  
concentração: Clínica Odontológica.

**Orientador: Prof<sup>a</sup>. Titular Dra. Ivone de Oliveira Salgado**

**Coorientador: Prof. Dr. Cláudio Galuppo Diniz**

Juiz de Fora

2011

Siqueira Junior, Hélio Machado.

Avaliação da contaminação das escovas dentais de estudantes de odontologia da  
Universidade Federal de Juiz de Fora / Hélio Machado Siqueira Junior – 2011. 183 f. : il.

Dissertação (Mestrado em Clínica Odontológica)—Universidade Federal de Juiz de Fora,  
Juiz de Fora, 2011.

1. Higiene bucal. I. Título.

CDU 616.314-083

**HÉLIO MACHADO SIQUEIRA JÚNIOR**

**AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DAS ESCOVAS DENTAIS DE ESTUDANTES  
DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA**

Dissertação apresentada ao PPG –  
Mestrado em Clínica Odontológica da  
Faculdade de Odontologia da  
Universidade Federal de Juiz de Fora,  
como parte dos requisitos para obtenção  
do título de Mestre. Área de  
concentração: Clínica Odontológica.  
Aprovada em \_\_\_ de \_\_\_\_\_ de  
2011, pela Banca Examinadora composta  
por:

---

Prof<sup>ª</sup>. Ivone de Oliveira Salgado (Orientadora)  
Doutora – UFJF

---

Prof. Henrique Duque de Miranda Chaves Filho  
Doutor– UFJF

---

Prof. Paulo Afonso Silveira Francisconi  
Doutor – USP

À minha querida prima e “irmã de coração” *Mônica*, que partiu precocemente durante o período do Mestrado, sei que estará sempre torcendo por mim, de onde estiver. Essa minha vitória é para você! Saudades, meu amor!

À minha esposa *Andréa*, que com amor, dedicação, compreensão, superação e sacrifício, tornou esse sonho possível.

Às minhas filhas *Cecília*, *Isabela* e *Luísa*, dádivas divinas e razão de toda a minha luta. Papai agradece por compreenderem a minha ausência em momentos importantes de suas vidas.

Aos meus pais, *Hélio* e *Bernadete*, a minha irmã *Cláudia* e ao meu cunhado *Daniel*, agradeço o incentivo e a ajuda para tornar viável a realização deste curso.

*Amo todos vocês!*

## AGRADECIMENTOS

A *Deus*, princípio de tudo.

À *Professora Titular Doutora Ivone de Oliveira Salgado*, minha orientadora, conselheira e amiga, que não poupou esforços para auxiliar a minha vida acadêmica, extrapolando suas atribuições. Sua sabedoria, inteligência, exigência, disponibilidade, carinho e amizade foram imprescindíveis à realização deste trabalho. A você, minha mestra, minha gratidão eterna.

Ao meu coorientador *Professor Doutor Cláudio Galuppo Diniz*, pelo auxílio fundamental à pesquisa. Sua seriedade, capacidade, acessibilidade e dedicação são exemplos para o exercício da docência. Muito obrigado!

À *Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora*, minha segunda casa, onde me formei não só para a Odontologia, mas também para a vida, ao seu diretor, *Professor Doutor Antônio Márcio Resende do Carmo*, aos professores e aos funcionários, pelo apoio para a realização deste trabalho.

Ao magnífico reitor da Universidade Federal de Juiz de Fora, *Professor Doutor Henrique Duque de Miranda Chaves Filho*, pelo exemplo na luta incessante em prol do saber.

À *Professora Doutora Maria das Graças Afonso de Miranda Chaves*, coordenadora do PPG-Mestrado em Clínica Odontológica da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, pela atenção e pela dedicação na coordenação do mestrado.

Aos meus colegas mestrandos e em especial aos meus colegas de turma, *Ana Cristina, Carlos Henrique, Emília, Isabella Madalena, Luciano, Mateus, Mileide, Vitória* e ao meu compadre e companheiro de idas e vindas *José Ricardo*, pelo companheirismo de todos vocês e que nossa amizade transcenda o término desta etapa de nossas vidas.

À minha nova amiga e mestranda *Isabella Defilipo Vieira*, pela companhia nas viagens, pela solidariedade nos momentos difíceis e pelo exemplo de superação na luta pelos seus objetivos.

Às minhas alunas orientadas da graduação, *Beatriz, Nayana, Jéssica e Priscila* sempre atenciosas e eficientes, meu reconhecimento e gratidão pelo auxílio.

Aos *mestrandos e estagiários* do Laboratório de Microbiologia da UFJF, pela paciência e boa vontade.

À Divisão Odontológica da Secretaria Municipal de Saúde da Prefeitura Municipal de Cataguases, na figura do seu coordenador, *Luiz Fernando Bittencourt*, pelo apoio e incentivo para a realização deste mestrado.

## RESUMO

Neste estudo verificou-se 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 clorexidina a 0,12% em *spray*, na descontaminação das escovas dentais. O estudo foi dividido em duas etapas, com duração de 15 dias cada: na etapa 1, os participantes foram divididos em dois grupos (G1 e G2), onde cada acadêmico recebeu escova e creme dentais. Na etapa 2, o G1 passou a se chamar experimental e o G2, controle: o experimental recebeu escova e creme dentais, um frasco borrifador com solução básica aquosa, composta de água destilada e edulcorante estévia, acrescido de digluconato de clorexidina a 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, realizada no Laboratório de Microbiologia do Instituto de Ciências Biológicas da UFJF. As escovas dentais foram inseridas em tubos de ensaio estéreis identificados, contendo 7mL de solução fisiológica esterilizada a 0,9% e 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, em aerobiose por 24h. Os dados foram submetidos a testes 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 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 das escovas dentais.

Palavras-chave: Dispositivos para o cuidado bucal domiciliar. Contaminação. Enterobactérias. Clorexidina.

## ABSTRACT

*This study evaluated the level of contamination of toothbrushes from 54 students of 2nd, 5th and 9th period of the undergraduate course in Dentistry, Federal University of Juiz de Fora, Juiz de Fora, Brazil, with respect to hygiene and storage, and the effectiveness of the aqueous solution of chlorhexidine gluconate 0.12% spray for decontamination of toothbrushes. The study was divided into two phases, with duration of 15 days each. In Step 1, participants were divided into two groups (G1 and G2), where each received a toothbrush and a dental cream. In step 2, the G1 has been called experimental and G2, control: in experimental received toothbrushes and dental cream, a spray bottle with basic aqueous solution, composed of distilled water and sweetener stevia added with chlorhexidine gluconate 0.12%. In the control, each participant received the same set and spray bottle containing basic solution. Received protocol guidelines for use, storage and disinfection of toothbrushes. Before starting the study and after two steps, the students answered questionnaires with data on their hygiene and storage of the toothbrushes. The toothbrushes were returned in sealed envelopes to the researcher for the microbiological test, performed at the Laboratory of Microbiology, Institute of Biological Sciences of UFJF. The toothbrushes were placed in sterile test tubes identified, containing 7mL of sterile saline 0.9% and agitated in the Vortex<sup>®</sup>, for 20s. With a calibrated loop was collected 1 $\mu$ L this solution and spreaded by exhaustion in the culture medium CHROMagar Orientation<sup>®</sup>. The plates were incubated at 35,5°C under aerobic conditions, for 24h. Data were subjected to statistics. The results of this study showed that an increased rate of contamination of toothbrushes of 2nd period students compared to the students of the 5th and the 9th periods. There was a marked reduction in contamination levels in step 2 and was statistically significant for 2nd and 9th periods. In the 5th period was a reduction, but without statistical significance, which can be explained by the reported occurrence of contact for their toothbrushes with other brushes in the storage location. Between groups, the reduction in contamination was statistically significant between G1 and experimental. However, a decrease was observed between G2 and the control, showing that*

*hygiene and proper storage are sufficient to reduce the contamination of toothbrushes.*

*Keywords: Devices for oral care at home. Contamination. Enterobacteria. Chlorhexidine.*

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 –	Demonstrativo do material utilizado na pesquisa.....	99
Fotografia 1 –	Conjunto para higienização bucal distribuído aos alunos (etapa 1).....	101
Fotografia 2 –	Conjunto para higiene bucal distribuído aos alunos do G1 (etapa 2).....	101
Fotografia 3 –	Conjunto distribuído aos alunos do G2 na etapa 2.....	102
Fotografia 4 –	Processamento das amostras no interior da capela de fluxo laminar.....	103
Fotografia 5 –	Agitador Vortex®.....	103
Fotografia 6 –	Momento da coleta com alça calibrada de 1µL.....	103
Fotografia 7 –	Embalagem do CHROMagar Orientation®.....	103
Fotografia 8 –	Processamento de semeadura por esgotamento realizada no interior da capela de fluxo laminar.....	104
Fotografia 9 –	Placa de Petri após o processamento de semeadura por esgotamento.....	104
Fotografia 10 –	Placa de Petri demonstrando crescimento predominante de Enterobactérias do grupo KES.....	104
Fotografia 11 –	Placa de Petri demonstrando crescimento predominante de <i>Pseudomonas</i> .....	104
Fotografia 12 –	Microscopia de <i>Pseudomonas</i> – coloração de Gram.....	105
Fotografia 13 –	Provas bioquímicas confirmando crescimento de bastonetes Gram negativos – <i>E. coli</i> .....	105
Gráfico 1 –	Gráfico dos Hábitos dos estudantes com relação às escovas.	110
Gráfico 2 –	Hábitos dos estudantes – contato com outras escovas dentais.....	112
Gráfico 3 –	Hábitos dos estudantes – fecha a tampa do vaso sanitário.....	113
Quadro 2 –	Resultados em log <sub>10</sub> UFC/mL do G1 (etapa 1).....	114
Quadro 3 –	Resultados em log <sub>10</sub> UFC/mL do G2 (etapa 1).....	115
Quadro 4 –	Resultados grupo experimental (etapa 2).....	117

Quadro 5 –	Resultados grupo controle (etapa 2).....	118
Gráfico 4 –	Média individual das bactérias (em $\log_{10}$ UFC/mL).....	119

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 –	Frequência que higieniza a escova dental.....	107
Tabela 2 –	Modo como o estudante higieniza sua escova dental.....	108
Tabela 3 –	Local de armazenamento da escova dental.....	108
Tabela 4 –	Modo de limpeza da escova dental.....	109
Tabela 5 –	Fecha a tampa do vaso (etapa 1).....	109
Tabela 6 –	Contato outras escovas (etapa 1).....	110
Tabela 7 –	Contato entre escovas (etapa 2).....	112
Tabela 8 –	Contaminação bacteriana (etapa 1).....	116
Tabela 9 –	Contaminação bacteriana (etapa 2).....	119
Tabela 10 –	Resultados do grupo controle (etapa 2).....	120
Tabela 11 –	Resultados do grupo experimental (etapa 2).....	120

## LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

- DNA - Ácido desoxidorribonucleico
- EDTA - Ácido etilenodiamino tetra-acético
- RNA - Ácido Ribonucléico
- Aa - *Agregatibacter actinomycetemcomitans*
- EAM - Ágar azul de metileno-eosina
- ETSA - Ágar de soja tripticaseína enriquecido
- CLED - Ágar deficiente-lactose cisteína eletrolítico
- BHI - Ágar Infusão de Cérebro Coração
- Ms - Ágar Mitis Salivarius
- MSB - Ágar Mitis Salivarius Bacitracina
- SAB - Ágar Sabouraud Dextrose
- SB<sub>20</sub> - Ágar sacarose bacitracina
- As - Ágar sangue
- Ak - Ágar sangue suplementado com de sangue desfibrinado de coelho
- TSA - Ágar Soja Tripticase
- TSBV - Ágar soja tripticaseína pré-reduzido
- H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> - Água oxigenada
- ATCC - *American Type Culture Collection*
- TYCSB - Bactoagar leveduras tripticaseína cisteína-sódio
- ANOVA - Cálculo estatístico da análise de covariância
- CaSa B - Caldo de sacarose bacitracina
- Cm - Centímetro
- CEMEIS - Centros Municipais de Educação Infantil
- CH - CHROMagar
- CPC - Cloreto de cetilpiridínio
- NaCl - Cloreto de sódio
- CEP - Comitê de Ética em Pesquisa
- MIC - Concentração inibitória mínima
- PVM/MA - Copolímero de ácido maleico e polivinilmetil- éter

CO<sub>2</sub> - Dióxido de Carbono  
F - Flúor  
H<sub>2</sub> - Gás Hidrogênio  
N<sub>2</sub>- - Gás Nitrogênio  
g/L - Grama por litro  
g/L - Grama por litro  
G - Gramas  
g/mL - Grama por mililitro  
°C - Graus Celsius  
KES - *Klebsiella, Enterobacter e Serratia*  
h - Horas  
CPOD - Índice de dentes permanentes cariados, perdidos, obturados  
HI - Índice de Homozigotização  
KV - kilovolts  
Log - logaritmo  
≥ - Maior ou igual  
> - Maior que  
± - Mais ou menos  
® - Marca registrada  
MDF - Máxima diluição fungicida  
RTF - Meio de transporte pré-reduzido  
< - Menor que  
KAPPA - Método estatístico de análise dinâmica de dados  
MSU - Método de triagem de amostras de urina jato médio  
μM - Micro mol  
μg/mL - Micrograma por mililitro  
μL - Microlitro  
MEV - Microscópio eletrônico de varredura  
mg/Kg - Miligrama por quilograma  
mL - Mililitro  
mm - Milímetro  
min. - Minuto  
n°. - Número

ppm - Partes por milhão  
% - Percentual  
p/v - Peso por volume  
VAP - Pneumonia associada ao ventilador  
pH - Potencial hidrogeniônico  
PCR - Reação em cadeia polimerase  
rpm - Rotação por minuto  
s - Segundos  
AIDS - Síndrome da Imunodeficiência Adquirida  
HBSS - Solução salina de *Hank's*  
PBS - Solução tampão salina-fosfato  
DR - Taxa de detecção  
T - Temperatura  
TCLE - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido  
HbA<sub>1c</sub> - Teste de hemoglobina glicosada  
CO<sub>3</sub> - Trióxido de carbono  
H<sub>2</sub>S - Sulfeto de hidrogênio  
UV - Ultravioleta  
UFC - Unidade formadora de colônias  
UFC/mL - Unidade formadora de colônias por mililitro  
UFJF - Universidade Federal de Juiz de Fora  
HCV - Vírus da Hepatite C  
v/v - Volume por volume

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>17</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>19</b>
<b>3 PROPOSIÇÃO.....</b>	<b>98</b>
<b>4 METODOLOGIA.....</b>	<b>99</b>
<b>4.1 Materiais.....</b>	<b>99</b>
<b>4.2 Método.....</b>	<b>99</b>
<b>4.3 Metodologia estatística.....</b>	<b>106</b>
<b>5 RESULTADOS.....</b>	<b>107</b>
<b>6 DISCUSSÃO.....</b>	<b>121</b>
<b>7 CONCLUSÃO.....</b>	<b>133</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>134</b>
<b>APÊNDICES.....</b>	<b>143</b>
<b>Apêndice A – Aprovação do Comitê de Ética.....</b>	<b>144</b>
<b>Apêndice B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.....</b>	<b>145</b>
<b>Apêndice C – Questionário I.....</b>	<b>146</b>
<b>Apêndice D – Questionário II.....</b>	<b>147</b>
<b>Apêndice E – Questionário III.....</b>	<b>148</b>
<b>Apêndice F – Análise Estatística.....</b>	<b>149</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Os hábitos de higienização e armazenamento adequado das escovas dentais são tão imprescindíveis quanto os hábitos de higiene bucal (MOREIRA; CAVALCANTE, 2008).

A preocupação com a contaminação das escovas dentais é relatada desde 1920, por Cobb e Mass, entretanto não existe uma conscientização de que estas possam abrigar micro-organismos (COUTINHO et al., 2007). Esta contaminação microbiana sofre a influência direta dos micro-organismos originários da cavidade bucal, mas a principal contaminação vem do ambiente onde estão armazenadas (COUTINHO et al., 2007; SATO et al., 2004). A presença de bactérias coliformes em escovas dentais pode ser proveniente do ambiente do banheiro (ANKOLA; HEBBAL; ESHWAR, 2009). E o índice de infestação de uma população está intimamente ligado à sua condição de higiene (BORGES et al., 1996).

A cavidade bucal humana possui uma grande variedade de micro-organismos (PASTER et al., 2006), que em determinado momento, podem assumir um potencial patogênico (ANKOLA; HEBBAL; ESHWAR, 2009).

As escovas dentais podem transmitir patogenias para os seres humanos também por meio da infecção cruzada (CARVAJAL et al., 1995; LOCK et al., 2006), como parasitoses intestinais (BORGES et al., 1996) e doenças infecciosas como sífilis, difteria, tuberculose, hepatite e AIDS (WARREN et al., 2001), além da Herpes Simplex tipo I (GLASS; JENSEN, 1988). A contaminação em escovas dentais de pacientes portadores de hepatite C torna possível uma rota de transmissão do vírus HCV-RNA (LOCK et al., 2006). Neste importante instrumento de higiene bucal foram encontrados, além de coliformes fecais, micro-organismos dos gêneros *Corynebacterium*, *Pseudomonas*, *Streptococcus* e *Staphylococcus* (SATO et al., 2004). Bactérias das famílias *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonadaceae* apresentam relevância, principalmente em crianças, indivíduos debilitados ou imunocomprometidos (SANTOS; JORGE, 1999).

É de suma importância a troca periódica das escovas dentais (KENNEDY et al., 2003), os cuidados com o seu armazenamento (CARVAJAL et al., 1995; DAYOUB; RUSILKO; GROSS, 1976; KENNEDY et al. 2003; LONG; SANTOS; NASCIMENTO, 2010), a limpeza, a desinfecção (CARVAJAL et al., 1995; KENNEDY

et al., 2003) e a sua secagem, como forma de prevenção da proliferação bacteriana e da redução do número de micro-organismos (SPOLIDORIO et al., 2003).

Dentre os produtos antissépticos para a limpeza das escovas dentais, o digluconato de clorexidina é o biocida mais usado, por ser eficaz, de amplo espectro, alta substantividade, baixa irritação e agir na bactéria de forma rápida (McDONNELL; RUSSELL, 1999). Na forma de aerossol apresenta efetividade prática na desinfecção das escovas dentais e na prevenção da ocorrência de infecção cruzada (AYŞEGÜL et al., 2007; SATO et al., 2005).

As escovas dentais abrigam *S. mutans* viáveis em suas cerdas por até 8h após a secagem (SARAVIA et al., 2008) e quando úmidas, por até 44h (SARAVIA, 2010). Em relação ao HSV-1, este pode permanecer viável por pelo menos 48h em escovas dentais secas e por mais de sete dias em ambientes úmidos. Os micro-organismos parecem ser transmissíveis nessa situação (GLASS; JENSEN, 1988).

Devido ao frequente traumatismo provocado durante a escovação dos dentes, existe a possibilidade dos indivíduos apresentarem uma porta de entrada e micro-organismos, razão pela qual a desinfecção das escovas dentais e a orientação do profissional são extremamente importantes, ensinando estes cuidados e motivando os pacientes a executá-los (ANKOLA; HEBBAL; ESHWAR, 2009).

Esta pesquisa avaliou a escova dental de estudantes de Odontologia como possível reservatório de micro-organismos causadores de doenças, o que é de fundamental importância, pois estes são futuros formadores de opinião da sociedade.

## 2 REVISÃO DA 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 com 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 da 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, permitem 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 esterilização ou que fosse descartável.

Davies et al. (1954) investigaram as propriedades biológicas de polibiguanidas e verificaram que as bisbiguanidas apresentaram, *in vitro*, acentuada atividade antibacteriana contra uma ampla gama de micro-organismos. Verificaram suas potencialidades por meio de observações experimentais realizadas em laboratórios e realizaram testes de compatibilidade com antibióticos, tais como a penicilina, e o efeito de possíveis meios de cultura para o crescimento bacteriano, tais como o leite e o soro, a influência do pH, o tamanho do inóculo, a presença de substâncias detergentes, a ação da droga sobre esporos bacterianos e o eventual desenvolvimento de organismos. Concluíram que a solução de digluconato de clorexidina, como antisséptico de largo espectro, apresenta ação antibacteriana contra uma variedade de bactérias vegetativas Gram positivas e Gram negativas e também contra formas esporuladas. A atividade é mantida em fluidos corporais, mas é antagonizada por uma substância contida na gema de ovo. Não conseguiram provar o desenvolvimento de resistência à droga. Possui uma toxicidade muito baixa para os animais de laboratório e não interfere na fagocitose de leucócitos humanos. Não há atividade antibacteriana em ratos, mas é muito ativa em feridas infectadas artificialmente com estreptococos hemolíticos.

Dayoub, Rusilko e Gross (1977) estudaram o grau de contaminação bacteriana das escovas dentais, após a sua contaminação e o seu armazenamento

ao ar livre ou em recipientes ventilados, bem como a capacidade desses recipientes de impedir que os micro-organismos 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 aureus*, que foram incubados por 24h a 37°C e adicionados a 400mL de saliva concentrada. Essa mistura foi usada para contaminar 103 escovas dentais estéreis e simular a efetividade da proteção das glicoproteínas salivares no potencial patogênico de contaminação das 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. Cinquenta escovas dentais foram contaminadas, mantidas num ambiente ventilado e outras cinquenta escovas contaminadas foram armazenadas em cilindros ventilados. As três escovas dentais que restaram foram usadas para determinar a contagem de 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 do líquido foi semeado em duplicata em placas contendo ágar soja tripticaseína (TSA) e incubado aerobicamente a 37°C. A média da contagem de bactérias por 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. Amostras de dez escovas dentais armazenadas por cada método apresentaram micro-organismos viáveis durante os cinco dias do teste. Menor quantidade de micro-organismos foi encontrada 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 a contaminação proveniente do ambiente. As escovas dentais foram colocadas em recipientes cilíndricos fechados e em recipientes semelhantes que tinham 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 com escovas dentais mantidas estéreis foram colocadas diretamente em cima de uma bandeja de aço inoxidável e recobertos com 2mm de meio de cultura ágar TSA com aproximadamente  $1,0 \times (10)^8$  de *P. aeruginosa* por 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 nas escovas dentais que após o uso foram armazenadas em ambientes arejados, o número de bactérias foi menor quando comparadas às escovas armazenadas em recipientes fechados e recipientes fechados com abertura para ventilação. E para prevenção da contaminação das escovas dentais armazenadas em recipientes é preferível àqueles que apresentem abertura para ventilação.

Svanberg (1978) realizou um estudo para verificar a presença do micro-organismo *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 numa rotina de higiene bucal pela manhã por três dias consecutivos e depois foram guardadas secas e à temperatura ambiente por 15min., 12h e 24h. As cabeças das escovas dentais foram imersas em meio de cultura ágar Mitis Salivarius-Bacitracina (MSB), específico para *S. mutans* e vibradas no aparelho Whirlimixer<sup>®</sup>, 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 ágar MSB e incubadas em jarros anaeróbios a 5% CO<sub>2</sub> + N<sub>2</sub> 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 micro-organismo 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 do creme dental, quanto na escova dental, foram do sorotipo C. Nas escovas dentais, o *S. mutans* representou 1,5 e 6,0 x  $10^6$ UFC, 15min. após a limpeza dos dentes. A UFC de *S. mutans* diminuiu com o tempo após o uso das escovas dentais, de 0,8 e 5,0 x  $10^5$  após 12h, para 0,9 e 4,0 x  $10^4$ , 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 *double duty* e CARAVELLER) e uma de cerdas naturais (PROR). A desinfecção destas escovas dentais também foi avaliada. No primeiro experimento, quatro escovas dentais de cada marca foram colocadas em uma suspensão de *C. albicans* ( $4 \times 10^9$ UFC/mL) por 1min. Uma 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 em leite diluído. Os micro-organismos sobreviveram em todas as escovas dentais guardadas em sua caixa original por duas semanas e em todas as escovas deixadas ao ar livre por uma semana, exceto na escova de cerdas naturais deixada ao ar livre, na qual os micro-organismos sobreviveram por duas semanas. No segundo experimento, três escovas dentais de cada marca foram colocadas em uma suspensão ( $4 \times 10^6$ UFC/mL) de *C. albicans* por 1min. E foram mantidas ao ar livre por 24h, 48h e 72h. Os micro-organismos 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* ( $4 \times 10^6$ UFC/mL) e armazenadas à temperatura ambiente por 24h. Foram imersos três grupos de três 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 2/1000 como desinfetante. O método da imersão momentânea em solução de ácido bórico a 4% ou de ácido salicílico a 2/1000 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), partindo da observação 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 a cada duas semanas, pesquisaram se escovas dentais podem reter micro-organismos patogênicos e se há uma correlação entre a contaminação destas e a presença de doenças. Analisaram trinta escovas dentais e destas, dez eram novas de duas marcas comerciais e foram cultivadas para determinar a presença de possíveis micro-organismos 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 mucosas e língua geográfica. As escovas dentais foram coletadas pela manhã, para evitar que as cerdas secassem e após a devolução, estas tiveram os seus cabos cortados e as suas cabeças foram recolhidas e transferidas para tubos de ensaio estéreis, com uma técnica asséptica. Nos pacientes doentes, as áreas específicas envolvidas também sofreram esfregaço e as amostras foram imediatamente transportadas para o laboratório para os procedimentos 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. Depois foram inoculadas e incubadas em seis placas, com meios de cultura específicos. As placas aeróbicas foram deixadas na incubadora por pelo menos 24h, enquanto as placas anaeróbicas ficaram por pelo menos 48h. Cada colônia predominante foi identificada nas placas e foram obtidas as culturas puras. Foi realizada a identificação de leveduras, *Streptococcus*, enterobactérias, *Actinomyces* e de micro-organismos anaeróbios. As escovas dentais usadas pelos pacientes eram consideradas contaminadas quando os micro-organismos eram detectados na cultura qualitativa pura ou quando os patógenos estivessem presentes. A presença de *Streptococcus* e *Staphylococcus epidermidis* foi considerada um achado normal em escovas dentais usadas. A correlação entre a contaminação das escovas dentais e a presença de doença bucal foi considerada positiva se os micro-organismos patogênicos fossem encontrados na escova dental e no material coletado na lesão. Os achados de micro-organismos em escovas dentais novas foram considerados contaminantes. Houve correlação entre a contaminação de escovas dentais e doenças bucais, no entanto, o número de unidades testadas foi considerado inadequado para análises estatísticas. Parece não ter tido correlação entre a duração do uso da escova dental e a presença de micro-organismos. Não houve forte correlação entre histórico saudável e a presença de micro-organismos nas escovas dentais. Dos vinte pacientes estudados, seis tinham um histórico de boa saúde, nove eram portadores de doenças sistêmicas secundárias e cinco com histórico de doenças sistêmicas. Dentre as dez escovas dentais novas removidas de suas embalagens e analisadas, quatro das cinco unidades pesquisadas de uma marca estavam contaminadas por *S. epidermidis*, enquanto todas as unidades da outra marca não apresentaram crescimento

bacteriano. Embora 12 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, mas ocorreram variações, podendo exercer um papel significativo no aparecimento de doenças sistêmicas. A população deve trocar as escovas dentais no mínimo uma vez por mês e logo após algumas doenças. E que medidas de descontaminação das mesmas sejam pesquisadas para utilização doméstica.

Glass e Jensen (1988) estudaram a sobrevivência do vírus herpes simples tipo I (HSV-1) em escovas dentais. Foram imersas 12 escovas dentais em 3mL de meio de cultura contaminado com o vírus. Cada grupo com duas escovas foi submetido às seguintes condições: 1 – Imersos por 10min., removidos, enxaguados e foram, respectivamente: a) vibrados no Vortex; b) colocados em solução salina de *Hank's* (HBSS) por 24h à temperatura ambiente e vibrados no Vortex; c) semeados em placas de Petri à temperatura ambiente por 24h e vibradas no Vórtex e; d) colocadas em placas de Petri por 24h, colocadas em HBSS à temperatura ambiente por 24h e vibradas no Vórtex; 2 – Imersas por 24h, removidas e enxaguadas e, respectivamente, foram: a) vibradas no Vórtex e; b) colocadas em HBSS por 24h e vibradas no Vórtex. As escovas dentais foram colocadas em tubos cônicos para centrifugação contendo 3mL de HBSS para a vibração durante 45s. O crescimento dos vírus foi quantificado em placas com 96 postos para microtitulação. Após a vibração, as soluções de HBSS sofreram diluição decimal em meio de cultura básico Eagle, suplementado com 2% de soro fetal bovino e 50µg/mL de gentamicina. Amostras quadruplicatas de 0,1mL foram inoculadas para cada diluição. As placas de microtitulação foram observadas por cinco dias para verificação dos efeitos da infecção do HSV-1 e os resultados foram gravados. Para testar a influência do desenho e os efeitos da temperatura, umidade e lavagem, escovas dentais de diferentes manufaturas e variados desenhos foram imersas em 3mL de cultura de tecido infectado em HBSS por 10min. e colocadas também em placas de Petri à temperatura ambiente ou em estufa sem umidade a 28°C. As escovas dentais foram imersas novamente em HBSS após os 10min. iniciais de exposição e conservados nesse meio por 24h, 48h, 72h e 168h. Após cada tempo específico, as escovas dentais foram vibradas no Vortex<sup>®</sup> por 45s e processadas como no primeiro experimento. As manchas deixadas pelos vírus nas escovas dentais foram

verificadas pelo método *Pap smear* e examinadas por um microscópio ótico. Os dados colhidos demonstraram que entre 45% e 64% da inoculação original foram recuperadas. Uma quantidade substancial de vírus, 18% a 64%, foi recuperada após as escovas terem sido colocadas em HBSS por 24h, sugerindo pequena ocorrência de morte ou perda de vírus quando mantidas em ambiente úmido. As escovas dentais mantidas em meio úmido HBSS por 48h apresentaram 9% da inoculação original. Nas escovas dentais deixadas para secar por 24h à temperatura ambiente, 27% a 45% da inoculação original puderam ser recuperadas. Quando reidratadas por 24h em HBSS, estas escovas apresentaram 18% a 27% da inoculação original. O resultado do estudo sugere que a diferença da inoculação recuperada pode ser um fator relacionado ao tipo de cerdas, a proximidade entre estas, ao desenho das escovas dentais, associados a fatores como umidade, temperatura e duração do armazenamento. O segundo experimento revelou que uma simples lavagem da escova dental decresce a quantidade de vírus recuperados. Os diferentes desenhos de escovas dentais parecem reter maior ou menor quantidade de vírus, dependendo do número de tufo e do número de cerdas por tufo. A pequena quantidade de tufo e de cerdas por tufo produz menos ação capilar, desta forma absorvendo e retendo menor quantidade de vírus. As manchas dos vírus nas escovas dentais demonstraram que a retenção ocorre próxima à superfície e junto dos eixos das cerdas. O exame ao microscópio revelou que os micro-organismos são aderentes tanto à parte polida, quanto aos defeitos da superfície irregular das cerdas. Finalmente foi demonstrado que, em um ambiente úmido, quase metade dos vírus puderam ser recuperados após sete dias. Aparentemente, o HSV-1 pode permanecer viável por pelo menos 48h em escovas dentais secas e por mais de sete dias em ambientes úmidos. Os micro-organismos parecem ser transmissíveis nessa situação.

Glass, Martin e Peters (1989) realizaram um estudo para responder as seguintes questões: a escovação dos dentes e da gengiva com escovas dentais estéreis produzem lesões gengivais ou outras lesões bucais? A escovação dos dentes e das gengivas com escovas dentais contaminadas pelo uso gera lesões gengivais ou outras lesões bucais quando comparadas com a escovação com escova estéril? A escovação dos dentes e das gengivas com escovas dentais contaminadas com  $10^6$  de micro-organismos *Prevotella melaninogenica*, *S. aureus* ou *C. albicans* gera mais lesões do que a escovação com as escovas anteriormente

mencionadas? A frequência da escovação dos dentes e o estado imunológico do paciente alteram a incidência de lesões gengivais ou bucais? Foram usados 18 cães adultos saudáveis, após dez dias de quarentena, divididos igualmente em três grupos. Os cães do grupo I tiveram seus dentes e gengivas escovados com uma escova dental estéril na segunda-feira, na quarta-feira e na sexta-feira do primeiro mês do estudo. Cães do grupo II tiveram seus dentes e gengivas escovados com escova dental inicialmente estéril, mas depois contaminadas pelo uso, na segunda-feira, na quarta-feira e na sexta-feira do primeiro mês do estudo. As escovas dentais usadas nos cães do grupo II foram armazenadas entre as escovações em um local aberto próximo a uma fossa sanitária, simulando o ambiente do banheiro. Cães do grupo III foram subdivididos em três grupos iguais de dois cães, que sofreram escovação com a escova dental teste, contaminada por micro-organismos. As escovas do grupo III foram inicialmente esterilizadas e depois imersas por 24h em meio contendo  $10^6$  dos micro-organismos supracitados. Lesões gengivais e outras lesões bucais foram registradas previamente para escovação em dias subsequentes, com data e tamanho das lesões observadas. Cada lesão foi também cultivada. Essas culturas foram tanto para os micro-organismos inoculados, quanto para a microbiota bucal não inoculada. Após o período de 18 dias, 18 cães foram selecionados para a segunda fase do estudo. Aqueles do grupo I foram movidos para o grupo II; os do grupo II foram para o grupo III, e os do grupo III foram para o grupo I. Seis novos cães foram introduzidos nos grupos. Para avaliar os efeitos da frequência de escovação, todos os grupos na segunda fase foram escovados na terça, quarta e na quinta-feira. Após um período de 12 dias, 18 cães foram para a terceira fase, todos os cães da segunda fase foram usados, mas os seis cães que entraram por último não foram usados. Os grupos de cães foram novamente reordenados. Doze deles completaram todas as três fases. Para determinar os efeitos da imunossupressão na incidência de úlcera e na transmissão através do sangue, dois cães de cada um dos três grupos receberam 2,5mg/kg de prednisona, dia sim, dia não. Todas as escovas eram Oral-B n°. 35 (Laboratório Oral-B®). A análise de variância foi realizada com dados dos 12 cães que completaram as três fases do estudo, das drogas, do modelo de escovação e da natureza das escovas. Os resultados mostraram 219 úlceras em 648 possíveis situações. Foram observadas 52 úlceras no grupo I, 88 no grupo II e 79 no grupo III. No grupo III, foi observada a presença de eritema gengival e na mucosa bucal. O total aproximado

de lesões para todas as fases do estudo foi de duas úlceras por cão, no grupo I, 4,9 por cão no grupo II, e 4,4 no grupo III. Nos cães imunossuprimidos foram 5,2 úlceras por cão no grupo I, 10,5 no grupo II e 6,5 no grupo III. O tipo de micro-organismo inoculado não fez diferença na incidência das úlceras: *Prevotella* produziu grande número de úlceras na primeira fase. *Candida* produziu grande número de lesões na segunda fase e *Staphylococcus* produziu grande número de lesões na terceira fase. Os resultados indicaram que a escovação até mesmo com a escova dental estéril gerou ulceração gengival ou em mucosas. A prevalência foi maior nos cães imunossuprimidos. As escovas dentais com os micro-organismos inoculados apresentaram maior prevalência de ulcerações quando comparado às escovas estéreis. Entretanto, isso não foi mais prejudicial do que as escovas dentais contaminadas naturalmente. A escovação diária aumenta a incidência de ulcerações. A cura das ulcerações pareceu depender do processo de escovação e foi mais lenta pela nova contaminação de micro-organismos. A imunossupressão aumentou a prevalência das ulcerações. A maioria das cicatrizações ocorreu após um dia sem a presença de micro-organismos.

Baselski et al. (1992) avaliaram as recomendações específicas para análise microbiológica de amostras obtidas do trato respiratório inferior, desenvolvidas pelo Grupo de Análise Laboratorial *Consensus Conference*. Para avaliação de culturas quantitativas, dois métodos podem ser utilizados: o método de diluição seriada, cuja vantagem seria a possibilidade de escolher a diluição estatisticamente mais apropriada e a capacidade de uma contagem precisa de micro-organismos em todas as escalas e o método de alça calibrada, cuja técnica é semelhante à utilizada para a cultura quantitativa de urina. Quando se utiliza a alça calibrada, os resultados devem ser relatados como  $\log_{10}$ , com intervalos de contagem de colônias de cada morfotipo. Esse método pode ser preferível em estudos por ser menos trabalhoso.

Denardi (1994) realizou uma revisão de literatura sobre os diferentes métodos de aplicação do digluconato de clorexidina, suas indicações clínicas e seus efeitos colaterais. O digluconato de clorexidina pode ser utilizado na cavidade bucal de diferentes formas: bochecho, irrigações, géis, dentifrícios, *sprays* e chicletes. Tem indicação de uso durante a fase de cicatrização de cirurgias periodontais ou outras intervenções cirúrgicas bucais, antes dos procedimentos cirúrgicos e durante as terapias de ulcerações aftosas e estomatites protéticas, quando o controle de placa

for importante, por um período limitado de tempo, e também em deficientes físicos ou mentais, quando a higiene bucal convencional for impossível de ser realizada. Afirmou que o digluconato de clorexidina, como qualquer outro agente antimicrobiano potente, deve ser administrado somente sob supervisão profissional e os diferentes métodos de aplicação devem ser adaptados às necessidades individuais do paciente.

Adams e Addy (1994) revisaram a literatura para estudar a eficácia de enxaguatórios bucais, entre eles o digluconato de clorexidina, um cátion bisbiguanida, com um amplo espectro antimicrobiano e concluíram que o digluconato de clorexidina é o melhor agente no controle de placa bacteriana da microbiota bucal.

Sedgley e Samaranayake (1994) fizeram uma revisão de literatura sobre os membros da família *Enterobacteriaceae* largamente distribuídos na natureza, que exibem substancial diversidade biológica e avaliaram sua quantidade e seu potencial patogênico para os humanos por sua presença na boca e na região de orofaringe de pacientes saudáveis. Discutiram seus efeitos sobre as diferentes doenças e as associações complexas com essas patologias, confrontando e interpretando os dados disponíveis. Relataram discrepâncias de metodologia entre os estudos epidemiológicos. Os dados avaliados indicaram um aumento da prevalência de *Enterobacteriaceae* na boca e na orofaringe de pacientes com doenças de severidade variáveis, 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 reservatório de populações bacterianas. Selecionaram 15 pacientes de ambos os sexos, com idades entre quarenta 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<sup>®</sup> macia, com orientação de utilizá-la pela manhã, sem dentífrício, durante 15 dias. Após esse período, as cabeças dessas escovas foram cortadas com um disco de corte e colocadas em frascos 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 demonstram a formação de biofilme de cocos, bacilos e estruturas filamentosas, concluindo que as escovas dentais podem ser vetores de transmissão bacteriana e que as pessoas devem ser mais bem instruídas sobre a limpeza e armazenamento das mesmas.

Meier et al. (1996) avaliaram em um estudo, *in vitro*, a eficácia de um antisséptico contendo cloreto de cetilpiridínio (CCP), sob a forma de *spray*, na desinfecção de escovas dentais. Prepararam um inóculo de *S. epidermidis* e *C. albicans* contendo aproximadamente  $1 \times 10^8$  UFC/mL. No primeiro experimento, utilizaram 52 escovas dentais, das quais 12 escovas foram utilizadas como controle positivo e negativo e quarenta escovas foram contaminadas pela imersão em 10mL dos caldos contendo um dos dois micro-organismos, seguido de agitação por 15s. Vinte escovas foram contaminadas com *S. epidermidis*, das quais dez foram desinfetadas com três borrifos de CCP, imediatamente após a contaminação e dez não foram desinfetadas e vinte escovas foram contaminadas com *C. albicans* e submetidas ao mesmo procedimento. As quarenta escovas foram mantidas ao ar livre por 12h para a secagem das cerdas. Após esse período, cada escova foi agitada em 10mL de solução salina esterilizada por 15s. Essa suspensão foi submetida à diluição decimal seriada e semeada em ágar sangue de carneiro a 5% ou ágar Sabouraud dextrose. No segundo experimento, o procedimento realizado foi similar ao do primeiro. A diferença foi que todas as escovas foram mantidas em recipientes fechados durante o período de secagem das cerdas. O uso do *spray* de CCP em escovas dentais secas ao ar livre reduziu o número de *S. epidermidis* em cem vezes, enquanto que o número de *C. albicans* foi reduzido em 94%. Concluíram que o CCP parece ser eficaz na desinfecção de escovas dentais frente aos micro-organismos avaliados, sendo este um método prático e econômico para a prevenção de contaminação cruzada e que escovas dentais armazenadas em recipientes fechados apresentaram um número significativamente maior de micro-organismos do que as armazenadas ao ar livre.

Merlino et al. (1996) avaliaram o uso do CHROMagar Orientation (CHROMagar Company, Paris, France) para identificar presuntivamente bactérias Gram negativas e *Enterococcus spp.* Por meio de uma técnica de inoculação utilizando replicador, estabeleceram um catálogo de cores e descreveram a morfologia de colônias bacterianas. De um total de 1478 isolados bacterianos de espécimes clínicos de pacientes hospitalizados testados neste novo meio de cultura,

1404 eram bactérias Gram negativas e 74 eram enterococos. Foram usados isolados de *Enterobacter cloacae* ATCC 13047, *Escherichia coli* ATCC 35218, *Enterobacter faecalis* ATCC 29212, *Proteus vulgaris* ATCC 6380, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9721, *Salmonella typhimurium* ATCC 13311 para controle de qualidade e avaliação de cor. De todas as *Escherichia coli* isoladas, 99,3% apresentaram coloração rosa avermelhada. *Proteus mirabilis* apresentaram coloração marrom claro em toda sua periferia, enquanto 15 dos 16 *P. vulgaris*, tiveram pigmentação verde azulada, com fundo ligeiramente marrom. Todos os isolados de *Aeromonas hydrophila*, possuíam tons rosa claro a 35-37°C, o que mudou depois de 2 a 3h em temperatura ambiente, com cor mais forte e maior crescimento. *Serratia marcescens* com coloração azul água, transformou-se em azul mais escuro, dependendo da mudança de temperatura. Todos os enterococos foram azuis. Uma grande semelhança nas cores de *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter* levou a um fracasso da diferenciação pelo método de cores. Entretanto estas espécies puderam ser diferenciadas de outros membros da família *Enterobacteriaceae*. *Pseudomonas aeruginosa* foi facilmente diferenciada dos membros *Enterobacteriaceae*, mas foi mais difícil distinguir-las dos outros Gram negativos, não membros dos *Enterobacteriaceae*. O novo meio de cultura facilitou a detecção visual das bactérias isoladas nas culturas. Quando usado em um sistema de replicação, crescimentos mistos de organismos foram facilmente identificados, o que poderiam por outro lado levar a resultados falsos de susceptibilidade a antibióticos. O CHROMagar Orientation® teve vantagem adicional sobre Ágar MacConkey por ter substratos que permitam uma maior diferenciação de bacilos Gram negativos e *Enterococcus spp.*. A coloração exibida por algumas espécies, em conjunto com alguns testes extras, permite a identificação presuntiva. O método CHROMagar Orientation® permitiu uma boa orientação e diferenciação para as espécies mais comumente encontradas na urina, em fluidos biliares, na cultura de sangue e em coletas feitas em feridas com *Swab*.

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 um e 14 anos, sendo 49 do sexo feminino e 49 do sexo masculino, pertencentes à população de baixa renda da periferia de Alfenas, Minas Gerais. O questionário continha as seguintes informações: identificação, local onde armazenava a escova dental, quem

a utilizava, qual o dentífrico utilizado, uma avaliação da escova utilizada, se 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 que 30% eram do sexo masculino e 25,55% do sexo feminino. Foram identificados *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, 33,67% regulares, 22,44% em estado ruim e impróprio para o 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 outros locais; 17,97% compartilhavam o uso de uma mesma escova dental, uma pessoa não utilizava dentífrico 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 está intimamente ligada ao índice de infestação.

Santos e Jorge (1998) estudaram em amostragem aleatória e heterogênea, a presença de *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonadaceae* na cavidade bucal de cem indivíduos. A cavidade bucal humana pode servir como reservatório destes micro-organismos, o que pode comprometer os indivíduos debilitados. Para cada participante foram fornecidos 10mL de solução fisiológica (NaCl a 0,85%), tampão salina-fosfato (PBS a 0,1M, pH 7,2), esterilizada em um recipiente universal estéril descartável, para enxague da boca por 60s. Os portadores de próteses não as removeram. A seguir, os pacientes retornaram o enxágue bucal para o recipiente,

que foi mantido em gelo até ser levado ao laboratório de Microbiologia, respeitando-se o período máximo de 3h entre a coleta e o processamento. Cada amostra foi centrifugada por 10min. e o sobrenadante foi descartado. Foi realizada a suspensão a partir do sedimento obtido em 2,5mL de PBS, que foi misturado em um agitador de tubos por 30s, produzindo a concentração final da suspensão. Foi semeado 0,1mL de cada amostra desta suspensão em duplicata, em placas de Ágar MacConkey (Difco®) e incubadas por 24h a 37°C. As placas foram examinadas e em caso de crescimento bacteriano, as UFC foram contadas. Quando eram bacilos Gram negativos, cada tipo morfológico diferente de colônia observado foi semeado em Ágar BHI (Difco®) e incubado por 24h a 37°C, para a obtenção de culturas puras. As amostras foram identificadas pelo sistema API 20E2 (Bio-Merieux, França). Métodos complementares para verificar mobilidade, oxidação e fermentação (Bio-Merieux, França), fermentação de adonitol e produção de pigmento amarelo em TSA (Difco®), acrescido de 5% de sangue de coelho, foram utilizados quando necessário. Entre os participantes, 51% apresentaram *Enterobacteriaceae* e/ou *Pseudomonadaceae* na cavidade bucal. Não houve correlação entre a presença destas bactérias com o índice CPOD, o índice periodontal de Russel, a idade, o sexo, a raça, a presença de próteses e o horário de coleta do material.

Samra et al. (1998) avaliaram em novecentos exames de urina, a sensibilidade do CHROMagar Orientation®. Composto por 16g de peptona, carne, extratos de levedura, uma mistura especial cromogênica e 15g de Ágar por litro, esse meio de cultura foi utilizado por um período de dez semanas, comparado com o TSA n°. 2, enriquecido com 5% de sague de carneiro desfibrinado, com o ágar McConkey e com o Ágar Mueller-Hinton, todos em placas de Petri. CHROMagar Orientation® foi bem sucedido na detecção de todos os patógenos urinários que foram detectados pelos meios de cultura de referência, incluindo bacilos Gram negativos, estafilococos, estreptococos e leveduras, tendo diferenciado com precisão *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Acinetobacter spp.* Devido à semelhança da coloração produzida pelos isolados de *Klebsiella*, *Enterobacter* e *Citrobacter*, o meio de cultura não permitiu a distinção entre eles. Os estafilococos foram facilmente identificados, bem como os enterococos. Todos os estreptococos foram identificados, entretanto houve necessidade de testes adicionais para diferenciação entre eles. As leveduras foram

identificadas pela forte pigmentação turquesa e pelas características típicas de suas colônias, cremosa, úmida e convexa. Concluíram que o CHROMagar Orientation® é recomendado como meio de cultura para isolamento direto e identificação presuntiva de patógenos urinários.

Taji e Rogers (1998) realizaram um estudo piloto com o objetivo de investigar a contaminação microbiana das escovas dentais. Foram selecionados dez adultos, que receberam uma escova dental de mesma marca e do mesmo tipo e um tubo de dentifrício fluoretado. Eles foram orientados a seguir suas rotinas normais de higiene bucal durante um período de três semanas. Ao término desse período, as escovas dentais foram coletadas em sacos plásticos estéreis e processadas após um período de 18h desde a sua última utilização. As cabeças das escovas foram cortadas e transferidas para um tubo contendo 10mL de PBS, submetidas a vigorosa mistura no Vortex® por 60s, ultrassom durante 30s e novamente no Vortex® por 15s. As soluções foram diluídas dez vezes e semeadas em placas com meios de cultura específicos para contagem de aeróbicos, Gram negativos e anaeróbicos, estreptococos, estafilococos, lactobacilos, enterobactérias, pseudomonas e fungos leveduriformes. As placas para anaeróbicos foram incubadas anaerobicamente em estufas por no mínimo 72h, enquanto as placas restantes foram incubadas em aerobiose por 48-72h. As colônias foram contadas individualmente. Também testaram 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. Estafilococos e estreptococos foram encontrados em todas as escovas dentais e muitas vezes foram numericamente dominantes. As leveduras, corinebactérias, pseudomonas e coliformes foram encontrados em 70%, 60%, 50% e 30% das escovas dentais, respectivamente. Uma quantidade significativa de colônias não pode ser identificada com precisão. O teste também foi realizado em três escovas dentais não utilizadas, sendo recuperados estafilococos em uma delas e as demais

se encontravam livres de bactérias. Concluíram que muitos fatores podem influenciar na colonização das escovas dentais.

Santos e Jorge (1999) estudaram a sensibilidade, *in vitro*, de *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonadaceae*, isolados da cavidade bucal de 51 pacientes da clínica odontológica da Faculdade de Odontologia da Universidade de Taubaté, a dez agentes antimicrobianos, enfatizando-se principalmente os mais utilizados na clínica odontológica. Bactérias das famílias *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonadaceae* podem atuar como agravantes de alguns tipos de doenças periodontais. Além disso, a cavidade bucal pode servir como reservatório destes micro-organismos, o que é importante principalmente em indivíduos debilitados ou imunocomprometidos. Também foi testada uma amostra padrão de *Klebsiella pneumoniae* (ATCC 18833). As amostras foram repicadas em ágar MacConkey e incubadas a 37°C por 24h. Os micro-organismos foram diluídos em solução salina estéril a 0,9%. Desta diluição foi semeado em duplicata 0,1mL em placas contendo Ágar Mueller-Hinton, nas quais foram colocados discos de papel contendo antibióticos em concentrações conhecidas e incubadas a 37°C por 24h, quando os halos de inibição foram medidos. Todos os micro-organismos testados foram resistentes à penicilina e sensíveis à ciprofloxacina. Somente o gênero *Pseudomonas* foi resistente ao cloranfenicol. A tetraciclina e o sulfazotrim apresentaram, depois do cloranfenicol, o menor índice de resistência, seguidos pelo ácido nalidíxico e trimetropim. As cepas de *Pseudomonas aeruginosa* foram sensíveis somente à ciprofloxacina. Cepas de *Enterobacteriaceae* apresentaram sensibilidade relativa à ampicilina, somente o gênero *Kluyvera* mostrou-se sensível à eritromicina, e apenas uma cepa de *Klebsiella pneumoniae* apresentou resistência à cefalotina. No geral, o gênero *Klebsiella* mostrou-se sensível a este antimicrobiano. A cepa padrão de *Klebsiella pneumoniae* mostrou sensibilidade semelhante às cepas de *Klebsiella pneumoniae* isoladas da cavidade bucal. Concluíram que a ciprofloxacina foi o único antimicrobiano testado capaz de inibir todos os micro-organismos das famílias *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonadaceae*.

Houang et al. (1999) compararam o meio de cultura CHROMagar Orientation® com o método de triagem de amostras de urina jato médio (MSU). Em relação a 3390 espécimes examinados ao MSU, os métodos testados produziram resultados similares em 3240 espécimes, incluindo a identificação de pelo menos 87% de *Escherichia coli*, *Pseudomonas spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Proteus*

*mirabilis/Morganella morganii e Enterobacter/Serratia/Klebsiella/Citrobacter spp.* Das 52 identificações discordantes, as leveduras foram identificadas como estafilococos erroneamente em dez situações no CHROMagar. O custo total de materiais por espécime foi de US\$0,30 para métodos de rotina e de US\$0,24 para CH. A realização de cada teste microbiológico demorou cerca de 3min. O CHROMagar plus Gram e os outros testes simples deram resultados semelhantes àqueles utilizados nos métodos tradicionais, mas com a vantagem de economizar tempo e material.

Motzfeld et al. (1999) estudaram o tipo e o grau de contaminação por bactérias e leveduras, de escovas dentais em uso habitual, 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 estéreis no período de 2h. Suas pontas ativas foram imersas no meio de cultura tioglicolato para incubação por 24h. Depois disso, amostras de cada tubo de ensaio foram semeadas em meios seletivos para *S. mutans*, *Candida*, *Lactobacilos* e microbiota anaeróbica total, respectivamente. Os resultados mostraram uma pequena porcentagem de alguns micro-organismos isolados, tais como: *S. mutans* – 2,8%, *Candida* – 2,8%, *Lactobacilos* –1,2%, mas surpreendentemente o total de bactérias anaeróbicas foi de 100%. Este último valor pode estar relacionado a uma grande quantidade de fatores, entre eles a qualidade do creme dental, cuja composição química inibe o crescimento de micro-organismos através de sua ação enzimática. Também seria possível que essas bactérias anaeróbicas derivassem da placa bacteriana acumulada no plástico onde se inserem as cerdas.

McDonnell e Russell (1999) realizaram uma revisão de literatura sobre a atividade, o modo de ação e os mecanismos de resistência antimicrobiana aos antissépticos e aos desinfetantes utilizados na clínica odontológica. Concluíram que os micro-organismos podem se adaptar a uma variedade de condições químicas e físicas, portanto, não é surpresa que sejam relatadas ocorrências de resistência aos antissépticos e aos desinfetantes e que ainda há bastante a ser conhecido sobre a modalidade de ação dos antissépticos e dos desinfetantes. Embora haja progresso nas investigações bacterianas, é preciso uma maior compreensão dos mecanismos de outros agentes infecciosos. Os estudos sobre mecanismos de ação e resistência microbiana estão associados com o uso mais eficiente dos agentes na clínica

odontológica e com o desenvolvimento de novos produtos e compostos mais efetivos.

Bunetel et al. (2000) avaliaram a retenção e sobrevivência, *in vitro*, de três espécies de micro-organismos (*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 escova manual (Jordan), previamente esterilizadas em óxido de etileno. Foram realizadas duas séries de experimentos para cada escova dental e para cada micro-organismo. A primeira série avaliou a retenção dos micro-organismos na cabeça da escova dental 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 inóculo de *P. gingivalis*, mas somente 0,2 a 0,3% do inóculo de *S. mutans*. A retenção de *C. albicans* variou de 0,3 a 1,8%. O número de micro-organismos detectados aumentou conforme a área exposta. Depois de 24h, *P. gingivalis* e *S. mutans* foram detectados em apenas um tipo de escova (Braun). *C. albicans* sobreviveu nos três tipos modelos. O fato da *C. albicans* ter sobrevivido em todos os três tipos de escovas dentais indica que a boca poderia ser inoculada por uma escova dental contaminada, as lesões existentes poderiam ser agravadas, e que *C. albicans* poderiam ser disseminados a partir de um foco bucal. Os pacientes deveriam ser alertados para enxaguar bem suas escovas dentais depois de uso e agitá-las para secá-las, com o objetivo de reduzir o nível de contaminação.

Araújo, Araújo e Campos (2001) avaliaram a atividade bactericida, *in vitro* e *in vivo*, da solução de digluconato de clorexidina a 0,12% e a 0,2% e dos produtos farmacológicos Listerine<sup>®</sup> e Duplak<sup>®</sup>. Do ponto de vista farmacológico, o digluconato de clorexidina é um antisséptico com extraordinária propriedade bactericida. Em Odontologia é uma opção eficaz, particularmente, na prevenção e no tratamento das periodontopatias, dado ao significativo poder de inibição da placa bacteriana que esta substância possui e tem sido considerado, unanimemente, como o agente mais eficaz, apesar dos efeitos colaterais e da hipótese de possíveis mecanismos de resistência bacteriana. O estudo foi dividido em duas fases: na primeira, testaram a ação das soluções manipuladas de digluconato de clorexidina a 0,12% e 0,2% e do Listerine<sup>®</sup> (Timol a 0,64%, eucaliptol a 0,092%, salicilato de metila a 0,060% e mentol a 0,042%), sobre os micro-organismos presentes na saliva total humana. Na

segunda fase, avaliaram, *in vivo*, a ação de enxaguatórios industrializados Duplak<sup>®</sup> (digluconato de clorexidina a 0,12% e fluoreto de sódio-225ppm F) e do Listerine<sup>®</sup> sobre os micro-organismos presentes na saliva humana. As soluções de digluconato de clorexidina a 0,12% e a 0,2% e o Listerine<sup>®</sup> inibiram o consumo de glicose, *in vitro*, sugerindo ter havido um efeito antibacteriano. *In vivo*, foi detectada uma inibição bacteriana provocada pelo Duplak<sup>®</sup>, enquanto que o consumo de glicose pelos micro-organismos não foi afetado com a presença do Listerine<sup>®</sup>.

Denton (2001) descreveu que o digluconato de clorexidina é composto estruturalmente por dois anéis clorofenólicos nas extremidades, ligados a um grupamento bisguanida de cada lado, conectados por uma cadeia central de hexametileno. Essa bisguanida catiônica é uma base forte, sendo praticamente insolúvel em água, daí sua preparação na forma de sal, o que aumenta a solubilidade da substância. O sal digluconato de clorexidina em solução aquosa é o mais utilizado em Odontologia. Além de possuir atividade antibacteriana de amplo espectro, o digluconato de clorexidina apresenta substantividade, sendo liberada lentamente à medida que sua concentração no meio decresce, permitindo, desse modo, um tempo de atuação prolongado. Em baixas concentrações, o digluconato de clorexidina é bacteriostático, enquanto que, em concentrações mais elevadas, ela é bactericida. Por ser uma molécula catiônica, é atraída e adsorvida à superfície bacteriana, que é carregada negativamente. Esta adsorção dá-se, principalmente, em componentes contendo fosfato, que age rompendo a integridade das membranas citoplasmáticas, resultando na perda de constituintes celulares vitais, como o ácido nucléico e o potássio, pela lise da célula. Desta maneira, embora o digluconato de clorexidina destrua formas vegetativas de bactérias, não demonstra efetividade contra esporos, exceto em temperaturas elevadas. A maioria das soluções de digluconato de clorexidina usadas na clínica odontológica tem efeito bactericida.

Chibebe Júnior e Pallos (2001) avaliaram a capacidade de esterilização de escovas dentais em um forno de micro-ondas, quando contaminadas por micro-organismos conhecidos. Foram utilizadas 128 escovas dentais da marca Condor, divididas em quatro grupos de 32 unidades e suspensões de quatro micro-organismos: *S. mutans*, *C. albicans*, *E. coli* e *Bacillus subtilis*, este último por ser considerado dentre os micro-organismos, o mais difícil de ser eliminado, sendo

comumente utilizado como indicador para testes de esterilização. Cada grupo foi contaminado pela inserção de suas cerdas durante 30s em um meio de cultura contendo um dos micro-organismos citados. Na sequência, as escovas dentais foram acondicionadas em tubos de ensaio estéril. Cada grupo foi subdividido em quatro, resultando em quatro subgrupos de oito escovas dentais e foram analisados quatro diferentes tempos de exposição no forno de micro-ondas: zero minuto (grupo controle), 5, 7 e 10min., de tal modo que cada subgrupo de 8 escovas dentais foi exposto durante um tempo diferente. Todos os tubos de ensaio foram fechados com chumaços de algodão e colocados estaticamente no forno de micro-ondas, que foi ativado em diferentes tempos. As escovas dentais foram retiradas do aparelho e introduzidas com auxílio de pinças em tubos de ensaio com caldo nutriente estéril BHI (Oxoid<sup>®</sup>) por 30s e incubados em estufa a 37°C. Após 24h, foi feita a primeira leitura e após uma semana, a segunda leitura. Os resultados foram avaliados segundo a transparência do meio de cultura. Quando turvo, indicava crescimento dos micro-organismos e quando límpido, indicava esterilidade. Todos os micro-organismos incorporados nas cerdas das escovas dentais do grupo controle (zero minuto) cresceram. No tempo de exposição de 5min., apenas dois dos micro-organismos cresceram: *S. mutans* e o *B. subtilis*; com os tempos de 7min. e 10min., houve a eliminação total dos micro-organismos testados. Demonstraram, *in vitro*, que a contaminação de escovas dentais por *S. mutans*, *C. albicans*, *E. coli* e *B. subtilis* foram eliminadas em um forno de micro-ondas caseiro, com 7min. de exposição.

A Equipe EstuMed.com (2001) referenciou que a forma mais comum de classificação de bactérias é pelo método de Gram, podendo ser coloração de Gram positiva (Gram+) ou Gram negativa (Gram-). O processo da coloração de Gram consiste de: a) violeta de ginciana, no mínimo de 1 min.; b) lugol (Iodo + Iodeto K), no mínimo 1 min.; c) agente diferenciador (álcool + acetona); d) safranina ou fucsina diluída para a contracoloração. Em algumas células o agente diferenciador não consegue penetrar: a célula continua azul (B). Em algumas células o agente diferenciador consegue penetrar retirando a coloração azul (A). Bactérias A se coram em vermelho/rosa e com as bactérias B não acontece nada, continuando azuis. Desta forma, pode-se resumir o resultado da coloração de Gram em duas formas: as bactérias Gram positivas ficam azuis, pois não permitem a entrada do

agente diferenciador. As bactérias Gram negativas ficam vermelhas, pois permitem entrada do agente diferenciador.

O Laborclin (2001) relatou que o meio de cultura Rugai consiste em um diferencial destinado à triagem (identificação presuntiva) de enterobactérias oxidase negativas, composto de nove provas bioquímicas: desaminação do L-triptofano; fermentação da glicose; produção de gás a partir da glicose; produção de gás sulfídrico; hidrólise da ureia; meio lisina-motilidade; descarboxilação da lisina; motilidade e indol. Usando a agulha bacteriológica flambada, encosta-se na superfície de uma colônia crescida e inocula-se por uma picada central que atinja a porção inferior do meio lisina-motilidade, cuidando para não entortar a ponta da agulha. Ao puxar a agulha em direção à superfície, cuidar para que esta percorra o mesmo caminho e ao atingir a superfície fazer o estriamento. A incubação é feita em estufa bacteriológica a 35°C por 18-24h com a tampa frouxa para posterior leitura dos resultados.

Martins et al. (2001) atestaram que o método tintorial predominante utilizado em bacteriologia é o método de Gram. Os custos com investimento e manutenção são consideravelmente baixos diante da eficácia alcançada com os resultados imediatos dos testes. A coloração de Gram recebeu este nome em homenagem a seu descobridor, o médico dinamarquês Hans Cristian Joaquim Gram. Em 1884, Gram observou que as bactérias adquiriram cores diferentes, quando tratadas com diferentes corantes. Isso permitiu classificá-las em dois grupos distintos: as que ficavam roxas, que foram chamadas de Gram positivas, e as que ficavam vermelhas, chamadas de Gram negativas. Após descrição do método, inúmeras propostas de modificação foram feitas. O método original utilizava violeta de genciana. Hoje se utiliza outro tipo de cristal violeta, a violeta de metila. É importante ressaltar que a solução de violeta de metila. Entretanto, a modificação mais importante foi a do corante secundário, também chamado de corante de fundo. A fucsina fenicada de Gram foi substituída pela safranina.

Quirynen et al. (2001) examinaram a aderência e a taxa de sobrevivência de micro-organismos cariogênicos e periodontopatogênicos em escovas dentais e escovas interdentais, na presença ou na ausência de diferentes tipos de creme dentais. Foram selecionados 12 pacientes caucasianos, em boa saúde geral, com idade entre 38 e 63 anos, usuários do Departamento de Periodontia do Hospital Universitário da Universidade Católica de Leuven, portadores de doença periodontal

do adulto em estágio avançado. Nenhum deles usou antimicrobianos nos últimos quatro meses ou durante o estudo e apresentavam pelo menos dois dentes multirradiculares e três dentes unirradiculares por quadrante, 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 parte 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 Prevision 3 Medium Stafford Miller, Oevel, Belgium). Posteriormente, dois espaços interdentais foram higienizados com um conjunto de quatro marcas de escovas interdentais novas, 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 RTF. Uma escova interdental também foi imersa por inteiro em um frasco com tampa de rosca contendo 3mL de RTF, após 0h, 8h, 24h e 48h, para as análises microbiológicas. 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 uso de creme dental (Sensodyne Prevision F, Stafford Miller, Oevel, Belgium). Na terceira parte, outros seis pacientes receberam escovação profissional com quatro diferentes marcas de escovas dentais, usando uma dessas escovas por quadrante e três diferentes cremes dentais: A (Sensodyne Prevision F creme, Stafford Miller, Oevel, Belgium), B (Sensodyne Prevision F gel, Stafford Miller, Oevel, Belgium), C (Zendium Classic, Kortman Intradal, Groot-Bijgaarden, 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 Vortex<sup>®</sup> por 30s e codificadas para que a análise fosse realizada cegamente. As amostras foram transferidas para o laboratório e processadas em

menos de 4h. Diluições seriadas decimais foram preparadas em RTF. Alíquotas de 0,1mL foram semeadas manualmente em placas com meio de cultura específico para *S. Mutans* e incubadas por três dias em 5 % de CO<sub>2</sub> a 37°C. Diluições de 10<sup>-2</sup> a 10<sup>-4</sup> foram semeados em duplicata em um meio de cultura não seletivos e incubados por sete dias, a 80% de N<sub>2</sub>, 10% de CO<sub>2</sub> e 10% de O<sub>2</sub>, a 37°C, para contagem total das UFC. As colônias que se desenvolveram foram subcultivadas para identificação de colônias puras. Diluições de 10<sup>-1</sup> a 10<sup>-3</sup> 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 10<sup>7</sup>, 10<sup>8</sup> e 10<sup>7</sup>UFC de espécies aeróbicas, anaeróbicas e com pigmentos negros, respectivamente. Ocorreu um decréscimo insignificante após 24h e após 48h ainda havia 10<sup>4</sup>UFC de espécies aeróbicas e anaeróbicas. Nenhum patógeno periodontal foi detectado após 8h, exceto *Fusobacterium nucleatum*. 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 do creme dental de ação detergente, limitando desta forma o risco de transmissão bacteriana.

Warren et al. (2001) avaliaram, *in vivo*, por meio de um estudo piloto, o efeito de um dentífrico contendo triclosan na contaminação residual microbiana de escovas dentais. Foram selecionados vinte pacientes com os seguintes critérios de inclusão: não ter feito nenhum tipo de tratamento radicular nos últimos seis meses; ter periodontite do tipo III ou IV; não estar grávida; não usar medicamentos que exerçam influência sobre os periodontopatógenos, tais como os agentes antimicrobianos; não ter condições sistêmicas associadas à microbiota periodontal, como por exemplo, periodontite juvenil, diabetes; não estar em uso de dentífrico com triclosan; possuir entre 25 e setenta anos; ter no mínimo três dentes posteriores em cada quadrante. Os pacientes tiveram a boca dividida em duas partes, sendo que a parte usada como controle não foi escovada com dentífrico e a outra parte foi escovada com dentífrico comum ou dentífrico com triclosan. Foi usada uma escova dental esterilizada em autoclave Crest Completa (Procter & Gamble®) na cor branca, dentífrico comum Colgate Regular (Colgate-Palmolive®), que contém

monofluorofosfato de sódio e Colgate Total (Colgate-Palmolive<sup>®</sup>), com fluoreto de sódio e triclosan. Um técnico em higiene bucal realizou todas as escovações pela técnica de Bass, com uma quantidade padronizada de dentifrício. Cada área foi escovada por 30s e a escova dental foi lavada em água estéril, agitada três vezes para a remoção do excesso da água, armazenada individualmente em sacos plásticos estéreis rotulados para identificação do paciente e encaminhadas ao laboratório, onde foram secas ao ar livre em temperatura ambiente, por 4h. As cabeças das escovas dentais foram removidas em condições assépticas e colocadas em 10mL de solução salina de peptona pré-reduzida e agitadas no Vortex<sup>®</sup> por 1min.. Foram feitas diluições seriadas, que foram inoculadas em meios de cultura para a pesquisa de anaeróbicos (*Prevotella spp*, *Porphyromonas gingivalis* e *Agregatibacter actinomycetemcomitans*). A presença ou ausência de micro-organismos foi determinada com um contador de colônias de baixa potência. Os resultados mostraram que após a secagem das escovas dentais por 4h, o dentifrício comum e o dentifrício que contém triclosan não inibiram o crescimento de patógenos. Foram detectadas as presenças de *Prevotella spp.*, *Porphyromonas gingivalis* e *Actinobacillus actinomycetemcomitans* em todos os grupos, exceto para o grupo que usou dentifrício comum, no qual não foi encontrada *Prevotella spp*. Os profissionais da área odontológica devem orientar seus pacientes, principalmente os periodontais, que exerçam constantemente a desinfecção e a troca periódica de suas escovas dentais.

Chibebe Júnior et al. (2001) avaliaram, *in vitro*, o tempo que o *Streptococcus pyogenes* permaneceu viável nas cerdas de escovas dentais previamente contaminadas, em um intervalo de 24h e a capacidade de diferentes concentrações de vinagre em reduzir sua contaminação. Foram utilizadas 160 escovas dentais Johnson & Johnson, nº. 30, cerdas macias (Reach indicator<sup>®</sup>), esterilizadas em glutaraldeído a 2% (Anti-G Plus<sup>®</sup>, Dentsply) em grupos de dez, sendo acondicionadas em recipiente plástico tampado pelo período de 10h. A seguir, foram retiradas assepticamente do recipiente e lavadas abundantemente com água destilada esterilizada para a remoção da solução esterilizante. As cabeças das escovas dentais foram inseridas durante 30s em meio de cultura BHI (Oxoid<sup>®</sup>), por 24h. As cerdas foram lavadas utilizando-se 10mL de água destilada esterilizada. Os sete grupos de dez escovas dentais foram analisados com 2h, 4h, 6h, 8h, 12h, 18h e

24h, após a contaminação com *S. pyogenes* (n = 70). Após esses períodos, as cerdas foram imersas em tubos contendo BHI por 30s. Os tubos foram incubados a 37°C por 48h a 5% de CO<sub>2</sub>, quando a leitura foi realizada considerando-se a turvação do meio de cultura. As culturas obtidas foram identificadas para constatação da presença de *S. pyogenes*. As cerdas foram submetidas a jatos de *spray* contendo vinagre branco (Belmont<sup>®</sup>), puro e diluído a 50%, 25%, 12½%, 6¼%, 3% e 1%. Aplicou-se dois jatos de *spray* em cada lado (direito e esquerdo) e nas pontas das cerdas, totalizando seis jatos por escova dental. Após 4h, as cabeças das escovas dentais foram imersas em tubos de ensaio contendo 9,9mL de soro fisiológico, ambos esterilizados e o conjunto foi agitado durante 30s. As escovas dentais foram retiradas e desprezadas. Com a solução obtida foram realizadas diluições seriadas até 10<sup>-3</sup> e 0,1mL de cada diluição foi semeado em duplicata em placas de ágar BHI (Oxoid<sup>®</sup>) e incubadas a 37°C por 48h a 5% de CO<sub>2</sub>. A leitura foi feita a partir do cálculo UFC/mL. Como controle positivo, as cerdas de dez escovas dentais (n = 10) foram borrifadas com água destilada esterilizada, enquanto que para o controle negativo (n = 10), com clorexidina a 0,12% (Periogard<sup>®</sup>, Colgate). Os autores observaram que o *S. pyogenes* permaneceu viável nas cerdas das escovas dentais nos períodos testados após a contaminação, comprovando sua viabilidade nas cerdas. O micro-organismo foi capaz de permanecer viável pelo período de até 24h e o vinagre puro ou diluído em água em concentrações acima de 3% foi efetivo na sua eliminação. O vinagre diluído em água em concentração de 1% reduziu em 75,5% a contaminação das cerdas das escovas dentais.

Scarparo et al. (2002) avaliaram o desempenho de dois meios de cultura cromogênicos, para isolamento e identificação presuntiva de patógenos do trato urinário, o CPS ID2 (bioMérieux, França) e o CHROMagar Orientation<sup>®</sup>. A detecção, a determinação da contagem bacteriana e a identificação presuntiva das bactérias que causam infecções do trato urinário foram avaliadas em três mil amostras de urina. Os dois meios cromogênicos mostraram excelente correlação com o meio padrão para a detecção e contagem de bactérias urinárias patogênicas. As cepas de *Escherichia coli* produziram a cor esperada no CHROMagar Orientation<sup>®</sup> e no meio CPS ID2 em 99% e 90% dos casos, respectivamente. Os grupos de *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus* e *Morganella-Providencia* foram facilmente identificados em ambos os meios cromogênicos, mas testes bioquímicos foram

necessários para diferenciá-los ao nível de espécies. Ambos os meios de cultura permitiram a diferenciação entre as colônias de *Pseudomonas spp* e de membros da família *Enterobacteriaceae*, com graus variados de dificuldade. Todos os isolados de *Enterococcus spp.* foram corretamente identificados e foram facilmente distinguidos dos isolados de *Streptococcus agalactiae*. Isolados de *Staphylococcus saprophyticus* foram facilmente identificados apenas no meio CHROMagar Orientation<sup>®</sup>. Nenhuma diferença significativa foi observada quando compararam os resultados dos testes de suscetibilidade das colônias recuperadas pelo meio cromogênico, com aquelas recuperadas pelo meio ágar sangue e realizados de acordo com o método padronizado de difusão em disco, conforme descrito pelo *National Committee for Clinical Laboratory Standards*. Concluíram que os meios CPS ID2 e CHROMagar Orientation<sup>®</sup> apresentaram excelente detecção, determinação de contagem e identificação presuntiva de patógenos urinários, tanto em culturas puras, quanto em mistas, sendo um teste de susceptibilidade seguro e preciso de identificação de isolados bacterianos primários. Além disso, esses meios de identificação permitiram uma considerável redução na carga de trabalho e uma economia significativa de tempo. Com base no seu desempenho, podem substituir as placas com meios de cultura clássicos, utilizados no diagnóstico de rotina de infecções do trato urinário.

Papaioannou et al. (2002) determinaram o grau de contaminação quantitativo e qualitativo, de escovas interdentais depois de um único uso, pelos patógenos periodontais mais comuns, *A. actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Campylobacter rectus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Parvimonas micra*, e *Eikenella corrodens*, em alguns sítios de pacientes portadores de doença periodontal crônica, selecionados do departamento de Periodontia da Universidade de Atenas. A correlação entre esta contaminação e a carga microbiana das bolsas periodontais também foi avaliada. Foram selecionados dez pacientes, com uma idade média de 47,6 anos. Nenhum tratamento prévio foi realizado, com exceção da sondagem das bolsas periodontais em uma consulta prévia. Não foram realizadas instruções de higiene bucal. Nenhum dos pacientes tinha usado qualquer antimicrobiano nos quatro meses anteriores ao estudo. Foram escolhidos quatro espaços interdentais por paciente, um em cada quadrante, onde havia a bolsa periodontal mais profunda. A profundidade média de sondagem registrada nesses locais foi de 6,6mm (SD = 0,9mm). Para cada paciente foi fornecida uma escova

interdental Tepe (Malmo, Suécia), previamente esterilizada. Os quatro espaços interdentais foram isolados com rolos de algodão e secos com ar comprimido. O mesmo investigador escovou estes locais, até que toda a placa supragengival fosse removida. Finalmente, a cabeça da escova dental foi cortada do cabo de plástico e colocada em um frasco contendo 1mL de RTF. Foram obtidas amostras da microbiota subgengival com dois cones de papel nº. 45, colocados em cada bolsa periodontal, totalizando quatro e deixados no local por 10s e depois foram removidos. As partes dos cones de papel que entraram nas bolsas foram cortadas com tesouras estéreis e colocadas em um frasco contendo 1mL de RTF. Todas as amostras foram levadas imediatamente para o laboratório onde foram processadas dentro de 2h. Foi realizada a microscopia de campo escuro com uma ampliação de 480x, num intervalo de até 15min., para assegurar a motilidade dos micro-organismos. Uma pequena alíquota do fluido das amostras foi colocada sobre um microscópio de varredura. Foram classificados cem micro-organismos de três campos selecionados aleatoriamente, em quatro categorias morfológicas. Dez dobras de diluições seriadas foram preparadas em RTF. Um volume de 0,1mL da primeira das três diluições foi semeado em placas de Ágar de TSA (BBL, Cockeysville, Md., E.U.A.), acrescidas de 75µg/mL de bacitracina, 5mg/mL de vancomicina e 5% de soro de cavalo estéril para a descoberta de *A. actinomycetemcomitans*. Estas placas foram incubadas com 5% de CO<sub>2</sub>, durante três dias. O *A. actinomycetemcomitans* foi identificado principalmente com base na morfologia das colônias e uma reação de catalase positiva. Isolados representativos foram submetidos à fermentação de lactose e de sacarose. Para a identificação e quantificação de outros micro-organismos, diluições de 10<sup>-4</sup> a 10<sup>-6</sup> foram semeadas em duplicata em placas de Ágar de soja tripticaseína enriquecido (ETSA) e incubadas em uma câmara de anaerobiose (85% N<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub>, e 5% H<sub>2</sub>). Depois de cinco dias de incubação a 37°C, o número total de UFC/mL foi contado. Para cada tipo de colônia, caracterizada pela cor, da morfologia, do tamanho, da translucência, e da hemólise da placa anaeróbica representativa, uma colônia típica foi subcultivada em uma placa de Ágar sangue (Columbia Agar, Oxoid, Basingstoke, Reino Unido), acrescido com 5% de sangue estéril de cavalo. Depois de 24h a 48h de incubação anaeróbica, as colônias puras foram identificadas pelo método Gram, microscopia de contraste de fase e uma série de testes bioquímicos para organismos anaeróbicos. O potencial patogênico das seguintes espécies foi

pesquisado: *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum*, e *Parvimonas micra*. As diluições foram também semeadas em meio de Hammond, seletivo para *Campylobacter rectus*. Foi realizada incubação por cinco dias a 37°C em 85% de N<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub>, e 5% H<sub>2</sub>. As placas originais foram novamente examinadas depois de 14 dias de incubação anaeróbica, para verificar o número de UFC e os tipos de colônias. A análise dos resultados da microscopia de campo escuro mostrou diferenças estatisticamente significantes entre os cones de papel e as escovas interdentais. Os cocos foram achados em altas porcentagens nas amostras das escovas interdentais, enquanto as espiroquetas foram dominantes nas amostras de cone de papel. Os dados das culturas não mostraram qualquer diferença estatisticamente significativa. Foram achados números totais altos de UFC para bactérias anaeróbicas nas escovas interdentais ( $9,5 \times 10^9$ ), sendo semelhante aos resultados dos cones de papel ( $7,2 \times 10^9$ ). Todas as espécies examinadas foram frequentemente encontradas em números comparáveis nas escovas interdentais e nos cones de papel. Espécies de *P. gingivalis*, *C. rectus*, *F. nucleatum*, e *E. corrodens* tiveram uma alta frequência de detecção nas escovas interdentais e o total de UFC nessas escovas está altamente correlacionada às amostras subgingivais.

Gupta (2002) relatou que o habitat mais comum da *Klebsiella spp.* é o ambiente natural (solo, água, etc) e a superfície da mucosa dos mamíferos. Nos seres humanos, os locais frequentes de colonização são o trato gastrointestinal, os olhos, as vias respiratórias e o sistema genitourinário. O desenvolvimento deste micro-organismo aumenta drasticamente no ambiente hospitalar na razão direta com o tempo de internação do paciente. A *Klebsiella sp.* é frequentemente associada com infecções adquiridas nas em Unidade de Terapia Intensiva (UTI) neonatal, onde constitui agente importante de sepse, meningite, infecção urinária, pneumonia e infecção articular. A *Klebsiella pneumoniae* foi o agente etiológico em 4% na sepse tardia em recém-nascidos de muito baixo peso e de 6% entre todos os recém-nascidos.

Silveira et al. (2002) avaliaram a eficácia do uso do portaescovas na prevenção de contaminação de escovas dentais por coliformes fecais e parasitas intestinais, através da aplicação de um questionário e distribuição de portaescovas, escovas dentais e dentifrícios aos participantes do grupo A e escovas dentais e dentifrícios aos participantes do grupo B, totalizando 108 pessoas residentes na

periferia de Alfenas, Minas Gerais. Os participantes receberam informações básicas sobre prevenção e manutenção da saúde bucal. O questionário constava de identificação, avaliação do estado de conservação e do local para acondicionamento das escovas dentais, o uso de fio dental e de creme dental. O portaescovas foi confeccionado a partir de garrafas PET, com furos de drenagem para impedir o acúmulo de líquido. Após sessenta dias, as escovas dentais foram colocadas em frascos contendo 60mL de soro fisiológico, agitadas vigorosamente por 1min. e 1mL foi inoculado em 10mL de caldo Brila (Merck®) e incubados a 37°C por 48h, para pesquisa de coliformes fecais; 12mL foram submetidos a centrifugação a 3000rpm por 10min.. Após desprezar o sobrenadante, o sedimento foi analisado ao microscópio ótico, para a pesquisa de cistos de protozoários e ovos de helmintos. Verificaram que 37,03% das escovas dentais apresentavam contaminação por coliformes e destas, 29,61% pertenciam ao grupo A e 44,44% ao grupo B. Não foram encontrados ovos ou cistos no grupo A e no grupo B, 5,55% apresentaram ovos e cistos de *Ancylostomatidae*, *Taenia sp* e *Entamoeba coli*. A conservação das escovas dentais foi considerada boa em 12,03% dos casos, regular em 13,88%, ruim em 51,85% e péssima em 22,24%. Somente 9,67% utilizavam fio dental e todos utilizavam dentífrico; 22,58% armazenavam a escova dental no armário da cozinha, 22,58% em caixas pequenas, 19,35% na prateleira do banheiro, 12,90% em um recipiente no chão do banheiro, 6,45% no portaescovas de pano, 6,45% no buraco da parede, 6,45% no beiral da janela e 3,24% em cima da geladeira. Concluíram que o uso do portaescovas contribui para a prevenção de doenças e que seu uso deve ser estimulado, especialmente em comunidades carentes e que não possuem local adequado de armazenamento de suas escovas dentais.

Sogi, Subbareddy e Kiran (2002) comparam em diferentes intervalos de tempo, a efetividade de soluções desinfetantes na redução da contaminação de escovas dentais. Foram selecionados 32 pacientes jovens do sexo masculino, residentes em um abrigo, com faixa etária entre 12 e 14 anos, divididos em quatro grupos iguais. Eles receberam escovas dentais novas da mesma qualidade e foram orientadas a escovarem os dentes diariamente após o café da manhã, por 3min. Além disso, receberam as seguintes instruções: grupo I – enxaguar as suas escovas dentais após o uso em água corrente da torneira, por 20s e então mergulhar as mesmas em um copo de aço contendo solução de enxaguante bucal hexidina, lavando-as por 20min., sendo que a solução era colocada no recipiente até cobrir a

cabeça da escova dental. Após esse tempo, as escovas eram removidas, a solução descartada e o recipiente lavado em água corrente. Era usada uma solução nova todos os dias. As escovas dentais eram guardadas no suporte de forma que suas cabeças ficassem expostas, em contato com o ambiente do banheiro, durante o tempo necessário para secarem. Nos grupos II e III, o procedimento foi mantido, alterando-se a solução que era usada para desinfecção. No grupo II foi usado o peróxido de hidrogênio a 3% e no grupo III foi o Dettolin. No grupo IV, por se tratar do grupo controle, as escovas dentais eram enxaguadas da mesma maneira após o uso e eram deixadas no recipiente de aço para secar, em contato com o ambiente do banheiro, sem uso de solução desinfetante. Foram analisadas oito escovas dentais novas, antes do seu uso, para verificar se havia crescimento microbiano nas mesmas logo após serem removidas das embalagens originais. Foram observados os seguintes intervalos de tempo: após a primeira escovação, após 48h, sete dias, 14 dias e 28 dias. As escovas dentais foram coletadas, cobertas com gaze estéril e colocadas dentro de um guardanapo estéril para evitar contaminação e inseridas dentro de tubos de ensaio com solução de peptona, de modo que somente a ponta ativa da escova dental ficasse imersa. Na abertura do tubo de ensaio, o cabo da escova dental foi coberto com pedaços de algodão estéreis e depois foi feita a incubação por 5h. A solução foi inoculada em placas de Petri contendo ágar sangue e em tubos de ensaio contendo Ágar Sabouraud. As placas de Petri foram incubadas por 18h em estufa para culturas anaeróbicas, para posterior observação microscópica. Os tubos de ensaio foram incubados de 48h a 72h em estufa para cultivo de fungos. Os resultados revelaram que as oito escovas dentais novas, da marca Colgate Palmolive® (Índia), não apresentaram contaminação. Quando as escovas dentais foram analisadas após o primeiro uso, os resultados não foram significantes em nenhum dos grupos. Nos tempos de 24h, 48h, 7, 14 e 28 dias, os três grupos experimentais tiveram diferenças significantes em relação ao grupo controle, mas não houve diferenças importantes entre os grupos experimentais em nenhuma das fases da pesquisa. O grupo controle possuiu a porcentagem maior de contaminação, com mais diversidade de micro-organismos, demonstrando que o processo de lavar e secar as escovas dentais após o uso não foi suficiente para prevenir contaminação. No grupo II, que usou peróxido de hidrogênio como solução desinfetante, não ocorreu crescimento bacteriano em nenhum dos intervalos pesquisados.

Mager et al. (2003) constataram que a composição da microbiota da saliva foi similar à encontrada na superfície dorsal e lateral da língua. A boca é mantida úmida e lubrificada pela saliva, que apresenta micro-organismos oriundos da superfície dos dentes, da mucosa bucal, do sulco gengival e do dorso da língua, sendo este o maior local de colonização primária. Em adultos, a microbiota bucal residente permanece estável e coexiste em razoável harmonia com o hospedeiro, por meio da dieta e das interações microbianas. Desta forma, avaliaram a proporção das amostras de quarenta espécies de bactérias oriundas de oito diferentes superfícies de tecido mole e da saliva de pacientes adultos saudáveis e compararam esta microbiota com aquelas presentes em biofilmes subgengivais e supragengivais. As espécies bacterianas avaliadas foram encontradas em todas as amostras. A principal diferença foi a proporção destas espécies nas diferentes superfícies, onde algumas regiões apresentavam maior quantidade de bactérias similares que outras regiões. As microbiotas que colonizavam as superfícies remanescentes foram similares entre si, sendo que algumas diferenças foram notadas ao longo das superfícies. As microbiotas presentes nos biofilmes dentários foram similares umas às outras, porém foram diferentes daquelas encontradas na superfície do tecido mole e na saliva, apesar das espécies presentes nos dentes terem sido encontradas também nos tecidos moles, que podem atuar como reservatórios de patógenos de origem dentária e pode exigir atenção terapêutica.

Filius et al. (2003) compararam três diferentes meios cromogênicos com o ágar MacConkey, para a detecção de bactérias aeróbicas Gram negativas da microbiota intestinal normal e para a avaliação da precisão dos meios cromogênicos na identificação direta de *E. coli*. Um total de 164 isolados clínicos Gram negativos de *E. coli*, *Proteus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Morganella* e espécies de *Pseudomonas*, além de trinta amostras de fezes foram inoculadas simultaneamente em quatro meios de cultura: *E. coli* Chromagar/Coliformes, UTI-Chromogenic, CHROMagar Orientation® e Ágar MacConkey. As colônias de cada meio de cultura que diferiram em cor e/ou morfologia foram selecionados para posterior identificação por VITEK 1 e/ou API 20E. Em cinco das 32 estirpes (16%) de *E. coli*, o *E. coli* Chromagar/Coliformes não conseguiu produzir a cor descrita pelo fabricante. Não foram encontradas discrepâncias clínicas notáveis para os outros isolados. Não houve diferença significativa na taxa de detecção de bactérias aeróbicas Gram negativos em amostras de fezes entre os ágares cromogênicos e o Ágar

MacConkey. A taxa de detecção global foi aproximadamente de 84%, e variou de 100% para os espécimes monomicrobianos a 33% para os espécimes polimicrobianos. Os valores preditivos positivos para a identificação direta de *E. coli* em *E. coli* Chromagar/Coliformes, meio cromogênico UTI e CHROMagar Orientation<sup>®</sup> foram 1,00; 0,93 e 0,93 respectivamente. Os valores preditivos negativos foram 0,53; 0,68 e 0,69, respectivamente. Concluíram que o meio cromogênico UTI e CHROMagar Orientation<sup>®</sup> são os meios de cultura preferidos por causa do maior valor preditivo negativo. Os valores preditivos positivos elevados destes ágar permitem a identificação precisa e rápida de *E. coli*.

Bambace et al. (2003) verificaram a eficácia de soluções aquosas de digluconato de clorexidina nas concentrações de 0,5%, 1%, 2%, 3% e 4%, e do álcool 70% gel e líquido, na desinfecção de superfícies e verificaram a viabilidade econômica para o uso na desinfecção dos consultórios odontológicos e que apresentassem as seguintes características: atividade antimicrobiana de amplo espectro, estabilidade no armazenamento, ausência de toxicidade, substantividade, acessível e baixo custo. Cepas de *S. mutans*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* e *K. pneumoniae* foram semeadas em meios de cultura específicos e incubadas em estufa bacteriológica a 37°C por 24h, com exceção da cepa de *S. mutans*, que foi incubada em estufa com tensão de 5% de CO<sub>2</sub>. Após a incubação, as cepas foram suspensas em 5mL de solução salina estéril a 0,9%, até atingir a escala n°. 1 de McFarland e foram homogeneizadas por 30s no Vortex<sup>®</sup>. Foram utilizadas sete superfícies de couro, sete de fórmica e sete bandejas clínicas de aço inoxidável, todas contaminadas em ambiente asséptico com 0,1mL de cada suspensão microbiana, espalhadas com alça de Drigalsky. Após 30min. foi coletado um grupo controle, sem desinfecção, com placas de superfície RODAC, contendo ágar BHI, deixadas em contato com as superfícies por 30s. Cada superfície passou por um processo de desinfecção pela técnica *spray wipe spray* com cada solução, a aplicação do desinfetante foi feita com auxílio de um borrifador e em seguida esfregada com gaze esterilizada e novamente aplicado o desinfetante com borrifador, que permanecia na superfície por 10min. Após essa desinfecção, foi realizada a coleta com placas de superfície RODAC, deixadas em contato por 30s em cada superfície, para cada micro-organismo. As UFC foram contadas e foram feitos esfregaços corados em Gram, para confirmar a morfologia da cepa. A cada experimento, as superfícies foram descontaminadas com hipoclorito de sódio a 2% e

a 2,5%, por 30min., lavadas com água, sabão e escova; embaladas e esterilizadas em autoclave por 121°C por 15min. para serem reutilizadas. Para verificar a viabilidade econômica, foram feitas cotações de preço das soluções testadas. Os resultados mostraram que todas as soluções desinfetantes demonstraram eficácia na desinfecção das superfícies usadas, considerando-se a ausência ou pequeno crescimento de UFC/placa, quando comparado ao grupo controle. A solução aquosa de clorexidina a 1% foi eficaz em todas as superfícies para todos os micro-organismos testados, quando comparadas à clorexidina a 0,5% e ao álcool 70%, gel e líquido e foi a solução que obteve melhor relação entre custo e eficácia.

Estrela et al. (2003) avaliaram a atividade antimicrobiana da solução de hipoclorito de sódio a 2% e da solução de clorexidina a 2% em micro-organismos com diferentes características estruturais, entre eles, cocos aeróbios facultativos. As cinco espécies de micro-organismos, *S. aureus*, *E. faecalis*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* e *C. albicans*, foram inoculadas em 7mL de Ágar BHI a 37°C por 24h. As células microbianas sofreram nova suspensão em solução salina para que tivessem concentração final de  $3 \times 10^8$  células/mL. Foi retirado 1mL de cada suspensão pura, para obter uma mistura de micro-organismos. Foram inoculadas 18 placas de Petri com 20mL de Ágar BHI com 1mL de suspensão de micro-organismos para o teste de difusão, usando *swabs* estéreis. Foram imersos 54 discos de papel nas soluções experimentais, três por placa, com 9mm de diâmetro, pelo tempo de 1min. e depois os três papéis foram sucessivamente substituídos na superfície de cada placa. Estas foram deixadas por 1h em temperatura ambiente e depois foram incubadas por 48h a 37°C. O diâmetro do halo de inibição foi medido ao redor dos discos de papel. Controles positivos e negativos foram feitos nas placas inoculadas e sem inoculação, pelo mesmo período de tempo e sob as mesmas condições de incubação. Foram imersos 162 papéis absorventes na suspensão experimental por 5min., para o teste de exposição direta e depois foram colocados em placas de Petri e irrigados com uma das duas soluções desinfetantes. No grupo controle, foi utilizada a água destilada. Nos intervalos de 5min., 10min. e 30min., 54 papéis absorventes foram removidos dessas substâncias, transportados individualmente, imersos em 7mL de caldo de crescimento (LB, Difco Laboratories), um meio que contém neutralizantes de lecitina, Tween 80 e tiosulfato de sódio em condições apropriadas, e incubadas a 37°C por 48h. O crescimento microbiano foi analisado através da turvação do meio de cultura. Foi retirado 1mL do inóculo das placas e

transferido para 7mL de ágar BHI, para identificação sob condições adequadas de incubação. O teste de coloração Gram foi utilizado para avaliar a contaminação e o crescimento, através de análise microscópica. Todos os ensaios foram feitos em triplicata e conduzidos sob condições assépticas. A solução de hipoclorito de sódio a 2% e a solução de clorexidina a 2% apresentaram efeito antimicrobiano contra as espécies testadas. O efeito antimicrobiano dessas soluções foi influenciado pelo tipo de método experimental, pelos micro-organismos, pelos indicadores biológicos e pelo tempo de exposição. O melhor resultado do hipoclorito foi observado no teste de exposição direta e o da clorexidina, no teste de difusão em Ágar.

Kennedy et al. (2003) estudaram a bacteremia associada à escova dental, em um caso clínico de uma criança de 12 anos, sexo masculino, neutropênica, com leucemia mielóide aguda, que apresentou bacteremia por *Streptococcus oralis*. Foi coletado material para cultura da boca do paciente, após dois dias do desenvolvimento da bacteremia. A cultura da escova dental foi realizada semanalmente, para determinar a rapidez com que a flora microbiana colonizava as cerdas da escova dental. Foram realizadas culturas dos dentes e mucosas, sendo que o material foi coletado por meio de *swabs*. Os pacientes foram instruídos a enxaguar suas escovas dentais com água após o uso e quando não estivessem em uso, que fossem guardadas em um local seco. A semeadura foi feita em placas de ágar sangue Columbia e Ágar sangue dextrose Sabouraud (E. & O. Laboratories, Bonnybridge, Reino Unido), incubadas a 37°C em 5% de CO<sub>2</sub>. Placas de Ágar sangue Columbia também foram incubadas em condições anaeróbicas. O nível de espécies de *S. viridans* dos dentes, da boca e da escova dental foi identificado pelo método Rapid ID 32 Strep System, e os antibiogramas foram determinados. As análises fenotípicas e genotípicas demonstraram que o micro-organismo isolado da escova dental do paciente era o mesmo isolado da hemocultura e da boca do paciente. A colonização bacteriana da escova dental aconteceu após duas semanas de uso. Esses achados reforçam a importância de desinfetar as escovas dentais e trocá-las periodicamente.

Spolidorio et al. (2003) compararam a viabilidade de *S. mutans* em 28 escovas dentais novas, da marca Colgate<sup>®</sup>, n.º. 35, com cerdas de náilon e cabeça de plástico, sendo 14 de material transparente e 14 de material opaco. Para identificação e quantificação de *S. mutans* nas escovas dentais, foi feita a inoculação de 100mL de BHI com aproximadamente 10<sup>6</sup>UFC de uma suspensão padronizada

de *S. mutans* (NTCC 1023). As escovas dentais foram incubadas por 24h em frasco anaeróbico a 5% CO<sub>2</sub> + N<sub>2</sub>, a 37°C e removidas da incubadora em intervalos de tempo diferentes. A ponta ativa de cada escova dental foi removida dos cabos e colocada individualmente em tubos estéreis contendo 4,5mL de solução salina estéril. Todos os tubos foram submetidos à vibração por 5min. no agitador Vortex<sup>®</sup>, em velocidade máxima. Foi realizada diluição em séries decimais de 10<sup>-1</sup> a 10<sup>-4</sup>, em 0,5mL de solução salina estéril contendo *S. mutans*. Alíquotas de 25µL de cada diluição foram inoculadas em duplicata em ágar bacitracina sacarose e incubadas em jarras de microaerofilia por 48h a 37°C. Um dispositivo eletrônico foi usado para contagem UFC/mL de colônias de estreptococos. Apenas placas com menos de trezentas colônias foram contadas. Valores médios de duas placas de mesma diluição, com um número determinado de colônias, foram usados para determinação da contagem microbiana. A análise estatística dos dados, usando a contagem de *S. mutans versus* o tempo de incubação demonstrou que as escovas dentais possuem uma superfície favorável para colonização de *S. mutans*. O número de microorganismos encontrados nas escovas dentais diminuiu com o tempo, com maior intensidade nas escovas dentais de material transparente após 30min., o que revela a viabilidade de *S. mutans* nas escovas dentais e a sua capacidade de atuar como um reservatório para *S. mutans*.

Neal e Rippin (2003) avaliaram a eficácia do desinfetante Brushtox<sup>®</sup>, sob a forma de *spray*, desenvolvido para a desinfecção de escovas dentais, frente a três espécies de bactérias patogênicas, *S. aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Salmonella choleraesuis* e duas espécies de fungos, *C. albicans* e *Trichophyton mentagrophytes*. Foram utilizados quatro diferentes testes: teste de difusão em TSA e ágar Sabouraud dextrose, teste Europeu de suspensão, teste Association of Official Analytical Chemists (AOAC), para produtos germicidas em *spray*, para avaliar a eficácia do Brushtox<sup>®</sup> como um *spray* desinfetante e o teste de desinfecção *in vitro* de escovas dentais, no qual as cabeças de seis escovas dentais foram colocadas em placas de Petri e inoculadas com 0,1mL de uma mistura da suspensão das três bactérias, na concentração de 1x10<sup>6</sup>UFC/0,1mL a 5x10<sup>6</sup>UFC/0,1mL, juntamente com 0,5% de soroalbumina bovina para simular condições de sujidade. As cabeças de três escovas dentais foram borrifadas nove vezes com o Brushtox<sup>®</sup> e incubadas a 20°C por 2h. As cabeças das três escovas restantes foram utilizadas como controle não tratado. Todas as cabeças das

escovas dentais foram colocadas individualmente em garrafas de vidro esterilizadas contendo pérolas de vidro e caldo TSA, com um agente neutralizante. Após a agitação vigorosa por 1min., as amostras foram submetidas à diluição decimal seriada, semeadas em TSA e incubadas a 37°C por 18h a 24h. No teste de difusão em ágar, o Brushtox<sup>®</sup> apresentou uma ação inibitória significativa contra os micro-organismos testados. Em relação aos outros três testes, o Brushtox<sup>®</sup> apresentou quase 100% de eficácia. Frente às evidências, concluíram que o Brushtox<sup>®</sup> foi eficaz contra bactérias e fungos presentes em escovas dentais e na promoção da saúde bucal de indivíduos debilitados ou saudáveis.

Attin et al. (2003) avaliaram a redução do número de *S. mutans* na saliva e na placa interproximal quando se utiliza verniz contendo clorexidina, em altas e baixas concentrações. Foram selecionados 24 pacientes, que receberam higiene dental profissional e orientações sobre higiene bucal. Esses pacientes foram impedidos de realizar a higienização bucal por 24h. Os participantes foram divididos em dois grupos. No primeiro grupo, a pesquisa teve duração de três semanas, os 12 pacientes fizeram aplicação do Cervitec (Vivadent, Schaan, Liechtenstein), um verniz contendo baixa concentração de diacetato de clorexidina a 1% e timol a 1%, sobre as superfícies dentárias e nas áreas interproximais, e receberam orientação de ficar 3h sem alimentação e 24h sem escovarem os dentes antes da coleta dos dados. Os demais participantes foram tratados com EC40 (Explore, Nijmegen, Netherlands), um verniz com clorexidina a 40%, que foi aplicado sobre as superfícies dentárias, por 8min. e depois foi removido com escova e creme dental. O verniz EC40 foi aplicado uma única vez, a não ser nos casos em que após uma semana ainda existiam muitas UFC e foi necessário mais uma aplicação. Os níveis de *S. mutans* foram avaliados dentro de quatro a 12 semanas após o final do tratamento. Os resultados mostraram que existe diferença estatisticamente significativa entre os grupos. O verniz em alta concentração conseguiu manter a redução desses micro-organismos por um tempo superior a 12 semanas, o que não foi conseguido pelo verniz em baixa concentração. Nas amostras de saliva, depois da primeira aplicação do verniz EC40, houve o efeito prolongado. Em ambos os grupos estudados, houve redução nos níveis de micro-organismos no período de quatro a 12 semanas. A clorexidina em baixas concentrações não elimina efetivamente os *S. mutans* e eles proliferam e retornam ao número original.

Nelson Filho et al. (2004) avaliaram a ação de dentifrícios com e sem triclosan, nos níveis de contaminação por *S. mutans* em escovas dentais de quarenta crianças, de ambos os sexos, com idade entre cinco e sete anos, selecionados da Escola Albert Einstein (Ribeirão Preto, SP, Brasil), sob o aspecto microbiológico e por MEV. As crianças não estavam em tratamento dental, nem usando antibióticos ou líquidos antissépticos para limpeza bucal por pelo menos três meses anteriores à pesquisa. O estudo foi dividido em três fases, com um intervalo de uma semana entre elas. Na primeira fase, cada criança do grupo I (controle) recebeu uma escova dental Johnson Jr. (Johnson & Johnson, São Bernardo do Campo, São Paulo, Brasil) e foi submetida à escovação dental supervisionada durante 4min., usando só água da torneira, sem dentifrício. Na segunda fase, no grupo II (experimental), as mesmas crianças receberam outra escova dental Johnson Jr. e foram submetidos à escovação dental supervisionada durante 4min., com uma quantidade padronizada de dentifrício fluoretado, cobrindo um terço das cerdas (Tandy, Kolynos Brasil Ltda, São Paulo, Brasil). Na terceira fase, as mesmas crianças no grupo III (experimental) receberam a escova dental Johnson Jr e executaram escovação dental supervisionada durante 4min., com a quantidade padronizada de dentifrício que contém triclosan (Colgate Total, Colgate-Palmolive, Osasco, Brasil). Depois do uso, as escovas dentais foram enxaguadas cuidadosamente com água da torneira e o excesso de líquido foi removido por agitação suave pelo mesmo profissional. Foram coletadas, numeradas e transportadas em um recipiente especial para evitar contato entre elas, para ser submetida ao processamento microbiológico. O recipiente fechado com as escovas dentais foi mantido em temperatura ambiente por 4h, simulando o período entre escovações. Três escovas dentais novas adicionais foram removidas das suas embalagens originais e submetidas a exame microbiológico antes do uso. As escovas dentais de cada grupo foram colocadas de forma a evitar contato das cerdas com a parede do tubo de ensaio, que continham 10mL de caldo de sacarose bacitracina (CaSaB), meio seletivo para *S. mutans*, durante três a quatro dias a 37°C e foram retiradas e enxaguadas no caldo com uma agitação suave para remover a microbiota planctônica, deixando as bactérias sésseis aderidas. As cerdas foram analisadas cuidadosamente de todos os lados e ângulos, e os biofilmes/colônias sésseis de *S. mutans* foram contados, com base na morfologia, sob condições assépticas, com um microscópio estereoscópico (Nikon®) sob luz refletida. O número

de colônias foi expresso em UFC. A confirmação de que os micro-organismos eram *S. mutans* foi feita transferindo-se quatro a cinco colônias/biofilmes das cerdas de três a quatro escovas dentais, representantes do desenvolvimento bacteriano do grupo, em tubos contendo 2mL de solução tamponada de fosfato e pérolas de vidro, que foram vibradas no Vortex<sup>®</sup> por 2min. e a suspensão resultante foi semeada em placas de Ágar CaSaB, que foi preparado com modificação pela substituição da sacarose pelo açúcar da cana. As colônias que se desenvolveram foram submetidas a testes de fermentação de manitol, sorbitol, rafinose, e melibiose, hidrólise de arginina e esculina, produção de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e sensibilidade para bacitracina 2.0IU. Depois de submetido a processamento microbiológico, foram removidos dois tufo de cerdas de quatro escovas dentais, representativas de cada grupo. Destes tufo, quatro a cinco cerdas foram separadas, cortadas e montadas secas em suportes e submetidas a processamento para análise em MEV (modelo JSM 5410<sup>®</sup>) a 15kV, para avaliar a formação do biofilme bacteriano cariogênico. Os resultados microbiológicos obtidos foram submetidos à análise estatística para dados pareados. Dos quarenta pacientes iniciais, só trinta completaram as três fases do estudo. O *S. mutans* esteve presente em 93% das escovas dentais do grupo I, e a variação das UFC foi de 11 a acima de 100, sendo incontáveis em 12 delas. Só duas (7%) não foram colonizadas por *S. mutans*, porém, eles tiveram uma cultura positiva por turvação do meio. Do grupo II, 23 escovas dentais (77%) foram contaminadas por *S. mutans*, com o número de unidades formadoras de colônias variando de cinco a mais que cem, sendo incontáveis em 11 delas. Não havia contaminação de *S. mutans* em 23% destas escovas dentais, porém os micro-organismos só estavam ausentes em um caso (3%). As cerdas de apenas 12 escovas dentais (40%) do grupo III foram contaminadas por *S. mutans*, com UFC variando de dois a mais de cem, sendo incontáveis em apenas duas. Dezoito escovas dentais (60%) não foram colonizadas por *S. mutans*, porém, a cultura foi positiva para outros micro-organismos em 47% delas. Não haviam micro-organismos em quatro escovas dentais (13%). A contaminação foi maior no grupo I (93%), com a menor contaminação observada no grupo III (40%). A análise estatística mostrou que estas diferenças foram estatisticamente significantes entre grupos. Não houve contaminação bacteriana nas três escovas dentais novas após incubação a 37°C, por vinte dias. Não foi possível a comparação dos resultados com a literatura, porque não há estudo que avalie o efeito do dentifício na contaminação bacteriana

por micro-organismos cariogênicos das cerdas de escovas dentais de crianças. A contaminação por *S. mutans* ocorreu depois de apenas um uso e o dentifrício que contém triclosan reduziu significativamente a contaminação bacteriana e que este pode ser indicado para reduzir contaminação por *S. mutans* das escovas dentais de crianças. Sugeriram dados de um piloto para indicar que o uso de dentifrícios antibacterianos ou que contenha flúor podem influenciar esses resultados.

Sreenivasan e Gittins (2004) avaliaram a eficácia de um enxaguatório bucal formulado com solução de digluconato de clorexidina a 0,12% contra os micro-organismos presentes na saliva e no dorso da língua. Foram selecionados 13 voluntários adultos, que apresentavam boas condições de saúde geral e bucal. Os participantes não foram submetidos previamente a procedimentos de higienização bucal e foram divididos em dois grupos: no grupo controle, os participantes bochecharam 10mL de água potável durante 10s, e em seguida, esse conteúdo foi devolvido e colocado em tubo estéril para obter uma amostra da saliva de cada um. Depois, utilizaram uma escova estéril para esfregar uma das metades da porção longitudinal da língua, e a amostra foi colocada em 2mL de PBS e agitadas em um Vortex®. O grupo de estudo realizou bochecho com 10mL de solução de clorexidina a 0,12% durante 30s. Os pacientes ficaram 3h sem se alimentarem para que novas amostras de saliva e do esfregaço da outra metade da língua fossem colidas. As amostras dos dois grupos foram imediatamente diluídas na solução salina. O valor de 0,1mL de cada diluição foi dispensado em um meio de cultura enriquecido com sangue de carneiro, apropriado para o crescimento de micro-organismos Gram positivos e Gram negativos, e incubados em condições anaeróbias a 37°C, para posterior contagem das UFC/mL e cálculo da análise de covariância (ANOVA). A solução de clorexidina a 0,12% demonstrou ter efeito significativo em todas as linhagens de bactérias testadas, presentes na saliva e na língua. Também ocorreu um ligeiro decréscimo das bactérias Gram positivas.

Sato et al. (2004), analisaram, *in vivo*, a taxa de sobrevivência bacteriana em escovas dentais e a efetividade de sua desinfecção com soluções antimicrobianas em aerossóis. Foram selecionados trinta indivíduos, sendo 15 homens e 15 mulheres, com idade entre 23 e 56 anos, com pelo menos vinte dentes na boca. Nenhum deles fazia uso de agentes antimicrobianos. Três soluções aerossóis, nomeadas 1, 2 e 3, foram usadas em um teste cego. A solução 1 era composta de cloreto de cetilpiridínio (CPC) e uma formulação básica, que continha

conservante, veículo e água destilada. A solução 2 continha apenas a formulação básica e a solução 3, controle, água de torneira. Todos os indivíduos usaram a mesma solução por um período de uma semana. No começo da semana, os indivíduos receberam uma nova escova dental multifios, com cerdas de fibra sintética macia (Kolynos Standard, Kolynos, São Bernardo do Campo – SP, Brasil), um tubo de pasta de dentes (Sorriso, Kolynos, São Bernardo do Campo – SP, Brasil) e um dos três aerossóis. Depois do uso, as escovas dentais foram enxaguadas em água corrente da torneira e os indivíduos orientados a borrar a solução nas cerdas seis vezes, removendo o excesso por agitação. As escovas dentais foram enxaguadas novamente debaixo de água corrente antes de cada uso, para remover o resíduo da solução e coletadas junto com as soluções usadas ao fim de uma semana. A seguir foram afixadas em uma prateleira sem contato entre as cerdas, e transportadas para o laboratório em uma caixa. Novas escovas dentais foram fornecidas aos voluntários junto com uma das soluções remanescentes, até que todos os indivíduos tivessem usado os três aerossóis. Essas escovas foram codificadas de forma que a análise microbiológica pudesse ser executada cegamente. As amostras foram processadas em até 4h após o último uso, tendo sido assepticamente introduzida em um tubo de ensaio com 10mL de caldo de Lethen (Laboratórios de Difco, Detroit. MI, E.U.A.), de tal maneira que só a cabeça e as cerdas eram imersas e o conjunto era submetido ao ultrassom durante 5s (Thornton-Inpec Eletronica, Vinhedo-SP, Brasil). Depois da remoção da escova dental, as suspensões resultantes foram diluídas dez vezes em PBS e porções de 10 $\mu$ L foram semeadas usando a técnica de gotejamento, em meios de cultura seletivos para contagem de anaeróbicos, aeróbicos, estreptococos e bacilos aeróbios Gram negativos. As placas semeadas foram incubadas a 37°C em anaerobiose por cinco dias ou aerobicamente em condições de microaerofilia em um sistema de jarra de microaerofilia, durante dois a três dias. Depois do período de incubação, o número de UFC foi contado através de estereomicroscópio (Nikon, Japão) sob luz refletida e o UFC/mL foi determinado. Os micro-organismos foram identificados com base na morfologia da colônia e na coloração pelo método de Gram. O crescimento de micro-organismos nas cerdas borrifadas com água ocorreu em 83,3%, 80,0%, 73,3% e 46,7% das escovas dentais, nos respectivos meios de cultura. O crescimento de anaeróbicos foi observado em 83,3% das amostras, com uma média de  $1,0 \times 10^6$  UFC/mL, enquanto bacilos Gram-negativos aeróbicos foram

os micro-organismos menos recuperados (46.7%), com uma média de  $1,0 \times 10^6$  UFC/mL. O teste de *Friedman* mostrou uma diferença significativa entre os 3 grupos testados. Quando foram comparados os pares de produtos pelo teste de *Dunn*, os aerossóis 1 e 2 não mostraram uma diferença significativa para quaisquer dos micro-organismos investigados. Uma redução no nível de contaminação foi observada nas escovas dentais quando os aerossóis 1 e 2 foram ambos comparados com o aerossol 3. Houve uma diferença estatisticamente significativa entre os aerossóis 1 e 3 e entre os de número 2 e 3 para contagem de anaeróbicos, de aeróbicos e de estreptococos. Só o aerossol 1 foi significativamente diferente do aerossol 3 para bacilos Gram negativos aeróbicos. Depois da escovação, tanto aeróbicos, quanto anaeróbicos obrigatórios foram encontrados nas cerdas de escovas dentais. A solução que contém o CPC e a formulação básica demonstraram eficácia na redução da contaminação das escovas dentais.

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 em óxido de etileno e depois suas cabeças foram imersas por 2min. em uma solução de *S. mutans*. 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 Vortex em 10mL de solução salina. Foi feita uma diluição de 1/10 e 40mL foi semeado em ágar Mitis Salivarius. A contagem de 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 12h do que após 24h, mas as escovas dentais descobertas não apresentaram diferença significativa após 12 e 24h. Concluíram que as capas protetoras inicialmente influenciaram na retenção de *S. mutans*, mas à medida que as escovas dentais secaram, o nível de bactérias 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.

Ribeiro et al. (2004) avaliaram os efeitos indesejáveis do uso do digluconato de clorexidina em relação a sua toxicidade celular no sangue e nas células da mucosa bucal de trinta ratos machos Wistar. Foram divididos em três grupos: controle negativo, grupo experimental tratado com 0,5mL de digluconato de

clorexidina a 0,12%, duas vezes ao dia por oito dias e grupo controle positivo, que recebeu 4-nitroquinolina, 1-óxido, em 0,5g/L de água potável. Foi verificada uma diferença estatisticamente significativa do grupo tratado com digluconato de clorexidina em relação aos outros grupos, onde foi observado um aumento de danos ao DNA de leucócitos e de células da mucosa bucal. Entretanto, não foi encontrado um aumento de células micronucleadas em reticulócitos de células sanguíneas. Analisados em conjunto, os dados indicam que o digluconato de clorexidina é capaz de induzir danos primários no DNA de leucócitos e células da mucosa bucal.

Wetzel et al. (2005), compararam a retenção de micro-organismos cariogênicos, tais como *S. mutans*, lactobacilos e espécies de *Candida* em escovas dentais fabricadas com três técnicas diferentes de ancoragem das cerdas: tufo presos por grampos metálicos, tufo moldados e cerdas moldadas individualmente. Utilizaram 120 escovas dentais, sendo quarenta delas para cada técnica de ancoragem das cerdas. Na técnica de tufo presos por grampos metálicos (escova dental A), as cerdas são agrupadas, dobradas ao meio por uma âncora de metal no centro e direcionadas para orifícios pré-fabricados. Inevitavelmente existem aberturas através das quais há continuidade com a superfície externa da escova dental, o que pode permitir a retenção de micro-organismos. Na técnica de tufo moldados (escova dental B), as cerdas são cortadas na base, agrupadas, coladas entre si e fixadas à perfurações na cabeça da escova dental. Um material sintético é injetado nestas cavidades, circundando o grupo de cerdas e fixando-as. A escova dental C era um protótipo que ainda não havia sido lançada no mercado, sendo testada pela primeira vez. Nesta técnica, os filamentos são colocados individualmente nas cavidades e fixados com material sintético. Todas as escovas dentais utilizadas eram de um mesmo fabricante. Foram selecionadas, antes do uso, cinco cabeças de cada tipo de escova dental, que foram cortadas em várias camadas, verticais e horizontais para análise em microscópio eletrônico de varredura. Participaram 45 crianças, entre seis e 13 anos. Elas foram instruídas a escovar os dentes por 3min., com a técnica de Bass. Cada criança usou duas escovas dentais, limpando os dentes maxilares e mandibulares de um lado com uma e os dentes do lado oposto com a outra e foram separadas aleatoriamente em três grupos: o grupo I (15 pacientes, idade média de 8,7 anos), usou escovas dentais A e B; o grupo II (15 pacientes, idade média de 8,6 anos), usou escovas A e C; o grupo III (15 pacientes, idade média de 8,7 anos), usou escovas B e C. Usaram uma

pequena quantidade padronizada de dentifrício fluoretado. Posteriormente, as escovas dentais foram lavadas em 50mL de água da torneira, enxaguadas dez vezes em um recipiente com água e levadas para análise microbiológica imediatamente após o uso, após 2h e após 8h de secas ao ar livre. As escovas dentais foram colocadas separadamente, com as cabeças para cima em papel de seda absorvente para a secagem, em uma caixa estéril, à temperatura ambiente. A distância entre elas foi de aproximadamente 5cm. A caixa não era ativamente ventilada para evitar transmissão de germes. Foram examinadas dez escovas dentais de cada tipo, a cada intervalo de tempo. As cáries dentárias foram diagnosticadas e avaliadas de acordo com os princípios padronizados internacionalmente por Baume. As cabeças das escovas dentais foram imersas em 15mL de solução Sputasol (Oxoid, Basingstoke, Hampshire, England), em um dispositivo ultrassônico (Bandelin Sonorex, Bandelin GmbH Eletrônico, Berlim, Germany), para isolar os micro-organismos. Foi feita centrifugação de 1mL da suspensão bacteriana a 20.000rpm durante 4min., sendo desprezados 800µL da superfície. Uma suspensão a partir do sedimento foi realizada nos 200µL e foi semeado 20µL em cada lateral da placa para realizar o teste microbiológico (teste CRT, Ivoclar Vivadent, Schaan, Liechtenstein). As instruções do fabricante foram seguidas e foi realizada a contagem de colônias. O número de micro-organismos contidos em 20µL da suspensão foram contados de forma absoluta e calculados de acordo com o que foi extraído em 1mL da suspensão. Foram cultivadas amostras em placas com ágar Sabouraud (Merck KgaA, Darmstadt, Germany), para o isolamento de espécies de cândida. Algumas colônias foram cultivadas adicionalmente em ágar cromogênico (CHROMagar, Paris). As amostras foram incubadas a 37°C durante 48h. O *S. mutans* foi maioria, seguido por lactobacilos. Em todos os casos onde foram encontradas espécies de cândida, as colônias eram de *C. albicans*, mas este micro-organismo não foi achado em todas as amostras. Análises estatísticas demonstram que os sistemas de ancoragem e os intervalos de secagem são ambos altamente significativos na contaminação bacteriana das escovas dentais. Não há interação óbvia entre sistemas de ancoragem e intervalos de secagem. Os resultados mostram que as diferenças na contaminação microbiana das escovas dentais A e B, A e C, e B e C não foram significantes no que se refere a retenção de *S. mutans* e lactobacilos. Entretanto uma quantidade menor de *S. mutans* e de lactobacilos foi encontrado no produto C. Como só algumas escovas

em todos os três grupos continha *C. albicans*, não houve uma base adequada para uma análise estatística. Concluíram que a adaptação das cerdas nas escovas dentais representa um risco bacteriano independente da técnica de ancoragem usada.

Souza Júnior e Castro Prado (2005) avaliaram o potencial de recombinação gênica do digluconato de clorexidina para as células diplóides de *Aspergillus nidulans*. Foram utilizados o digluconato de clorexidina a 20%, cepas de *A. nidulans* cultivadas em *Czapek-Dox* com 1% (p/v) de glicose como meio de cultura básico, complementados por nutrientes necessários para cada cepa e 1,5% de ágar, incubados por seis dias à 37°C. O digluconato de clorexidina foi introduzido no meio de cultura até atingir concentrações de 1µM, 5µM e 10µM. Conídios foram inoculados em cinco placas contendo o meio de cultura básico (grupo controle) e em cinco placas contendo o meio de cultura básico acrescido de clorexidina (grupo tratamento). O tamanho das colônias foi medido após 24h, 48h, 72h, 96h e 120h de incubação e comparadas estatisticamente através do teste ANOVA. Após o crescimento das colônias, foram selecionados apenas segregantes mitóticos estáveis para o teste de recombinação gênica e determinação dos Índices de Homozigotização (HI), baseado na razão entre a formação de segregantes prototróficos e auxotróficos. Valores de HI  $\geq 2$  indicam que a solução de digluconato de clorexidina induziu a recombinação gênica, o que poderia eliminar os genes responsáveis pela supressão de tumores. Na análise citológica, as amostras foram colhidas, coradas com azul de lactofenol e examinadas sob um microscópio ótico após 24h e 48h. A solução de digluconato de clorexidina em concentrações de 1µM a 10µM, menores que o uso clínico, reduziu o crescimento fúngico. Valores de HI  $> 2$  foram obtidos em todas as concentrações testadas para alguns marcadores genéticos nutricionais de *A. nidulans*. A análise citológica mostrou alterações morfológicas, com presença de conidióforos e conídios anormais nas três concentrações de solução de digluconato de clorexidina testadas.

Sato et al. (2005) avaliaram em um estudo cego a eficácia de três soluções em aerossol, rotulados com os números 1, 2 e 3, para desinfecção de escovas dentais: uma solução básica associada com digluconato de clorexidina; apenas a solução básica sem digluconato de clorexidina e água da torneira estéril (grupo controle). A solução básica continha propilenoglicol e água destilada, os veículos da formulação eram os mesmos das outras substâncias, além de

metilparaben e propilparaben, usados como conservantes para prevenir a deterioração do aerossol, polivinilpirrolidona K30, como agente dispersante, o álcool etílico, como solvente. Participaram 30 adultos, de ambos os sexos, cada um testou as três soluções, por uma semana, durante três semanas. Os voluntários recebiam uma escova dental nova (Kolynos Standard, Kolynos<sup>®</sup>), um tubo de pasta dental (Kolynos, Sorriso<sup>®</sup>) e um dos três aerossóis. Após a escovação, os participantes enxaguaram suas escovas dentais em água corrente e usavam a solução do aerossol por seis vezes nas cerdas. O excesso de solução foi removido por agitação mecânica e as escovas dentais foram enxaguadas com água para eliminar os resíduos da solução. Após uma semana, estas foram coletadas e armazenadas em suportes para evitar o contato com as cerdas de outras escovas e novas escovas dentais foram fornecidas com um dos três aerossóis. Transportadas para o laboratório, as escovas dentais foram introduzidas assepticamente em um tubo de ensaio de 150mm, com suas cerdas completamente imersas em 10mL de caldo Lethen (Calet<sup>®</sup>) e submetidas a sonicação por 5s e foram removidas do Calet e introduzidas em um tubo de ensaio contendo 10mL de CaSaB. As suspensões em Calet foram submetidas a dez diluições seriadas em PBS, e alíquotas de 10 $\mu$ L das diluições foram semeadas em duplicata nos seguintes meios de culturas específicos para contagem total de anaeróbios, de aeróbios, de estreptococos, de bacilos Gram negativos e de *S. mutans*. Após o período adequado de incubação, as escovas dentais removidas do CaSaB tiveram as cerdas avaliadas em relação a formação de biofilme de *S. mutans*, em condições assépticas, em um microscópio estereoscópico sob luz refletida. As UFC identificadas foram transportadas para um tubo de ensaio com 2mL de PBS, para confirmação da presença de *S. mutans*. Os tubos foram agitados vigorosamente por 2min. para desintegração das colônias e as suspensões foram colocadas em SB<sub>20</sub>. Uma diferença estatisticamente significativa foi encontrada entre os aerossóis em relação aos anaeróbios. O *S. mutans* foi identificado nas colônias colocadas em SB<sub>20</sub>, confirmando sua presença no biofilme das escovas dentais. O grupo que utilizou água da torneira esterilizada apresentou os maiores índices de contaminação por *S. mutans*. A redução da contaminação foi altamente significativa e parece justificar o uso do aerossol contendo clorexidina na desinfecção e na prevenção da ocorrência de infecção cruzada e na contaminação das escovas dentais.

Tortora, Funke e Case (2005) descreveram que o método de contagem em placa é a técnica mais utilizada na determinação do tamanho de uma população bacteriana, onde as células viáveis são quantificadas. É preciso esperar, em geral por 24h, para o aparecimento de colônias visíveis. Esse método considera que cada colônia é originada do crescimento e da multiplicação de apenas uma bactéria. Entretanto, uma colônia é formada não de uma única bactéria, mas de uma cadeia ou um grupo de bactérias. Essas contagens são denominadas unidades formadoras de colônia ou UFC. Para obter o valor da UFC, deve-se multiplicar número de colônias na placa pelo índice de diluição da amostra, obtendo o número de bactérias/mL. O trabalho bacteriológico normalmente necessita de culturas puras de bactérias e para a obtenção dessas culturas, o método mais utilizado é o de esgotamento. Uma alça de inoculação estéril deve ser utilizada para ser mergulhada na cultura mista e posteriormente semeada na placa com meio de cultura com nutriente sólido. No momento da semeadura, a bactéria é removida da alça, sendo espalhada sobre a superfície do meio. No final da semeadura devem existir poucas células ainda na alça, que uma vez semeadas, originarão colônias isoladas. Essa metodologia pode ser aplicada com sucesso para o isolamento de organismos presentes em grande número, relativos à população microbiana e é a técnica mais comumente empregada na obtenção de colônias puras destes micro-organismos.

Pereira et al. (2005) analisaram microbiologicamente as cerdas de diferentes escovas dentais de marcas nacionais novas e após comprovar a sua contaminação, imergiram-nas em várias soluções antimicrobianas e antissépticas, para verificar a permanência da contaminação. Um questionário respondido por cinquenta pacientes em tratamento na clínica de Periodontia da EAP-ABO/PE determinou a escolha dos dois modelos de escovas dentais a serem testados, sendo que 42% dos entrevistados preferiram o modelo da Oral B, 26% preferiram o modelo da Kolynos<sup>®</sup> e 32% preferiram outras marcas. Perguntados quanto ao uso da escova dental imediatamente após a abertura da embalagem, 50% responderam que a utilizavam sem higienização prévia e 50% lavavam a escovas dentais antes do uso em água corrente. As escovas dentais foram adquiridas no comércio, perfazendo um total de 42 unidades, sendo 21 da Oral B<sup>®</sup>, modelo Indicator<sup>®</sup> e 21 Kolynos<sup>®</sup>, modelo Doctor, ambas com cabeças pequenas. A análise dos espécimes foi realizada no laboratório do Departamento de Biologia da Universidade Federal Rural de Pernambuco, sendo a leitura microbiológica considerada contaminada quando

ocorresse turvação do meio de cultura. As embalagens das escovas dentais foram abertas dentro de uma câmara asséptica, sob o bico de Busen, com luvas estéreis e com uma pinça esterilizada para apreendê-las pela ponta do cabo, impedindo qualquer contato que pudesse contaminá-las. Foram colocadas imediatamente nos tubos de ensaio, contendo o caldo nutriente desidratado Broth-Dyco, com 3g de extrato Bacto beef e 3g de Bactopeptona e levadas para estufa de crescimento a 37°C, onde foram observadas diariamente em períodos de 24h, 48h e 72h. Imediatamente após a confirmação de contaminação das mesmas, foi realizada a imersão das cerdas em solução antisséptica por um período de 20min., utilizando-se os seguintes produtos: Periogard<sup>®</sup> (digluconato de clorexidina a 0,12%), Cepacol<sup>®</sup> (cloreto de cetilperidínio), Plax<sup>®</sup> (triclosan), Listerine<sup>®</sup> (óleos essenciais) e Peroxyl<sup>®</sup> (peróxido de hidrogênio). As escovas dentais foram novamente colocadas no caldo nutriente para verificar a permanência ou não da contaminação, nos intervalos de 24h, 48h e 72h. A leitura microbiológica revelou que nove escovas dentais da Oral B<sup>®</sup> e 17 escovas dentais da Kolynos<sup>®</sup> estavam contaminadas após 24h. Após 48h, 16 escovas dentais da Oral B<sup>®</sup> e 17 da Kolynos<sup>®</sup> apresentaram contaminação, mesmo resultado foi observado após 72h de imersão em caldo nutriente. Após estas 72h, trinta escovas dentais foram escolhidas aleatoriamente, e, para cada substância testada, foram distribuídas seis escovas, sem repetições, para imersão das cerdas em 20mL de solução antisséptica por 20min. A seguir as cerdas foram recolocadas no tubo de ensaio com novo caldo nutriente, nos períodos de 24h, 48h e 72h, onde foi constatada a sua descontaminação nas primeiras 24h em todas as substâncias testadas, exceto com o Cepacol<sup>®</sup>, que descontaminou apenas uma das escovas dentais testadas, permanecendo as demais contaminadas durante as 72h do teste. Concluíram que 78,6% das escovas dentais novas encontraram-se contaminadas, escovas dentais de um mesmo fabricante apresentaram-se ora contaminadas e ora descontaminadas e as soluções Listerine<sup>®</sup>, Plax<sup>®</sup>, Periogard<sup>®</sup> e Peroxyl<sup>®</sup> se mostraram eficientes na descontaminação das escovas dentais no tempo testado.

Paster et al. (2006) relataram que as bactérias presentes nos tecidos moles e duros da cavidade bucal apresentam grande influência na saúde e nas doenças bucais, daí a importância da identificação e do conhecimento do potencial patogênico de todas as bactérias que colonizam a cavidade bucal para o

conhecimento total das doenças bucais. Baseados nos estudos tradicionais de identificação de bactérias por meio de cultura e mais, recentemente, pela identificação de bactérias em estudos moleculares, foram descritas mais de setecentas espécies de bactérias na cavidade bucal, sendo que mais de quatrocentas dessas bactérias foram identificadas na bolsa periodontal e as trezentas espécies remanescentes foram identificadas em outras regiões bucais, tais como na língua, na mucosa bucal, em lesões cariosas e em infecções endodônticas. Ressaltam que, cada indivíduo pode ter, aproximadamente, de cem a duzentas dessas setecentas espécies de bactérias, gerando grande diversidade na população, porém a maior parte é típica de uma determinada região bucal, como bolsa periodontal, dorso da língua ou palato duro.

Lock et al. (2006) avaliaram em um estudo prospectivo, a contaminação em escovas dentais de pacientes portadores de hepatite C, como um modelo para uma possível rota pouco convencional de transmissão e associaram a contaminação viral à parâmetros clínicos, bioquímicos e virais. Foram selecionados trinta pacientes, sendo 12 do sexo feminino e 18 do sexo masculino, com idade média de 39,7 anos, portadores de hepatite C crônica, da clínica de hepatite C do Hospital Universitário da *University of Regensburg*, com sorologia HCR-RNA positiva e que não estavam usando medicação retroviral. Após a escovação supervisionada por 2min. com uma escova dental nova e seca, sem creme dental, foram coletados 2mL de saliva. As escovas dentais foram enxaguadas com 2mL de NaCl a 0,9%. A saliva de cada paciente foi examinada antes e após a escovação, bem como a solução que enxaguou as escovas dentais. O RNA desse material foi isolado e o RNA do vírus da hepatite C (HCV) foi identificado. Os resultados foram classificados qualitativamente como positivos ou negativos, sendo os resultados limítrofes foram considerados como negativos. Cada paciente foi examinado por um Cirurgião-Dentista, que classificou a higiene bucal como boa, regular ou ruim, de acordo com a saúde bucal, índice de placa bacteriana e de sangramento papilar. Antes da escovação, a saliva foi positiva para HCV-RNA em nove pacientes, e negativa em 11 pacientes. Destes 11 pacientes, cinco apresentavam testes negativos da saliva antes da escovação. A reação em cadeia polimerase (PCR) foi positiva em 12 das trinta amostras da água usada como enxaguante das escovas dentais. Em seis desses 12 pacientes, antes da escovação, a saliva tinha sido negativa para HCV-RNA. Pacientes com HCV-RNA positivo no líquido enxaguante não foram estatisticamente diferentes daqueles com

HCV-RNA negativo, com relação a parâmetros clínicos, bioquímicos e virológicos. Não houve diferença nos níveis séricos entre os pacientes com líquido enxaguatório das escovas dentais positivo e negativo com relação ao HCV-RNA. Contudo, houve uma leve associação, mas não significativa, entre a presença e a ausência de HCV-RNA na saliva e a carga viral sérica. A presença de HCV-RNA em considerável número de escovas dentais sugere, no mínimo, um risco potencial de infecção pelo compartilhamento desse objeto de uso pessoal entre indivíduos da mesma família.

Afessa et al. (2006) verificaram a eficácia e a qualidade da técnica da alça calibrada comparada com a técnica de diluição seriada para cultura quantitativa de fluidos broncoalveolares. Apesar da técnica de diluição seriada ser considerada padrão ouro, ela é muito mais trabalhosa do que a técnica da alça calibrada. Foram realizadas contagens de colônias de bactérias obtidas pela técnica de diluição seriada e pela técnica da alça calibrada em 121 amostras de lavagem broncoalveolar de 104 pacientes com suspeita de pneumonia associada ao ventilador (VAP). Os micro-organismos mais frequentemente isolados foram *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Stenotrophomonas maltophilia*. A maioria dos pacientes estava fazendo uso de antibióticos na hora da broncoscopia. Os resultados mostraram que houve uma total concordância dos resultados obtidos pela técnica da alça calibrada em comparação à técnica de diluição seriada, mostrando que a técnica da alça calibrada pode ser usada na avaliação do crescimento quantitativo de micro-organismos de fluidos broncoalveolares de pacientes com suspeita de pneumonia VAP. A única discrepância observada de resultados entre essas duas técnicas foi quando as concentrações de micro-organismos nos fluidos broncoalveolares foram muito altas, assim as contagens exatas não puderam ser medidas pela técnica da alça calibrada, apesar desses resultados não comprometerem o tratamento dos pacientes com suspeita de Pneumonia VAP.

Nelson Filho et al. (2006) avaliaram, *in vivo*, a contaminação de escovas dentais pelo *Streptococcus mutans*, após o uso por 52 crianças de dois a quatro anos, e a eficácia, *in vivo*, de 3 soluções antissépticas: solução de clorexidina a 0,12% (Periogard-Colgate, Palmolive, Kolynos do Brasil Ltda, São Paulo, Brasil), o antisséptico aerossol *Brushtox*, composto por etanol 35-40% (v/v), com um biocida (Dentox Limited, Warwickshire, England), e de uma solução experimental cuja composição é Cosmocil CO<sub>3</sub> (Myacide Pharma<sup>®</sup>), na desinfecção dessas escovas

dentais através de um experimento clínico aleatório. A água da torneira esterilizada foi usada no grupo controle. Por último, avaliaram, *in vitro*, a atividade dessas soluções antimicrobianas. As 52 crianças, de ambos os sexos, foram escolhidas de acordo com os seguintes critérios: ter dentição primária completa, não estar sob tratamento odontológico, nem sob terapia com antibióticos ou enxaguatórios de antissépticos bucais há pelo menos três meses e apresentar *S. mutans* na saliva. Para realizar uma avaliação cega das soluções, os frascos foram cobertos com papel alumínio e codificados. As crianças foram separadas aleatoriamente, formando quatro grupos de 13 crianças. Todas as soluções foram usadas em todos os estágios, mas cada solução foi usada por um grupo diferente de crianças em cada fase do estudo. Em cada estágio, as crianças foram submetidas a 1min. de escovação, executada no dia por um único Cirurgião-Dentista, estudante de pós-graduação, sem creme dental e usando escovas dentais novas. Após a escovação, as cerdas foram enxaguadas e o excesso de água foi removido por agitação mecânica. As escovas dentais foram mantidas na posição vertical e as soluções foram borrifadas seis vezes nas cerdas a uma distância de 5cm. O excesso de solução antimicrobiana foi removido por batidas contra a pia. As escovas dentais foram mantidas em recipientes para evitar o contato entre elas e guardadas numa sala à temperatura ambiente por mais de 4h, simulando o intervalo entre as escovações. Cinco escovas dentais novas e suas embalagens foram submetidas a uma análise microbiológica. As escovas dentais de cada grupo foram individualizadas e transferidas para tubos de ensaio de 25 x 150mm, contendo 10mL de CaSaB por três a quatro dias a 37°C e depois retiradas, enxaguadas neste caldo e levemente agitadas para a remoção da microbiota planctônica, deixando as bactérias sésseis aderidas, formando colônias e/ou biofilmes. As cerdas das escovas dentais foram criteriosamente analisadas de todos os lados e os *S. mutans* foram contados em condições assépticas, com base na morfologia, através de um estereomicroscópio de luz refletida. A confirmação da presença de *S. mutans* foi obtida pela coleta de quatro a cinco colônias/biofilmes representantes do crescimento bacteriano, das cerdas de três a quatro escovas dentais e transferidas para tubos de ensaio contendo 2mL de solução tampão salino-fosfato e grânulos de vidro, levadas ao Vortex<sup>®</sup> por 2min. A suspensão resultante foi semeada em ágar SB<sub>20</sub> e incubada a 37°C em microaerofilia por 72h. Após a verificação do crescimento bacteriano, os seguintes testes foram realizados para identificação

bioquímica: fermentação em manitol, sorbitol, rafinose e melibiose, hidrólise de arginina e esculina, produção de  $H_2O_2$  e sensibilidade para bacitracina 2.0UI. Foram analisadas quatro escovas dentais representativas de cada grupo por MEV. No experimento, *in vitro*, a atividade antimicrobiana de Brushtox<sup>®</sup>, Periogard<sup>®</sup> e da solução experimental foi avaliada pelo teste de difusão no Ágar. Os seguintes tipos de micro-organismos isolados foram usados: 1) *Micrococcus luteus*; 2) *S. aureus*; 3) *C. albicans*; 4) *C. tropicalis*; 5) *E. coli*; 6) *Os. aeruginosa*; 7) *Enterococcus mutans*; 8) *S. mutans* e; 9) *Streptococcus sobrinus*. Das 52 crianças envolvidas no início do estudo, 45 (87%) participaram dos quatro estágios do experimento. Colônias e/ou biofilmes de *S. mutans* foram detectados nas cerdas de todas as escovas dentais no grupo controle. Após o uso do Brushtox<sup>®</sup> antisséptico, as colônias de *S. mutans* foram observadas em 12 escovas dentais. Baseado nos testes microbiológicos foi possível deduzir que Brushtox<sup>®</sup>, Periogard<sup>®</sup> e a solução experimental reduziram ou preveniram a formação de colônias e/ou biofilmes nas superfícies das cerdas das escovas dentais e que todas essas soluções diferiram estatisticamente da solução controle. Periogard<sup>®</sup> e a solução experimental foram similares estatisticamente entre si e tiveram resultados melhores que o Brushtox<sup>®</sup>. Não houve contaminação bacteriana nas escovas dentais novas testadas, após incubação a 37°C por vinte dias.

Passos et al. (2006) verificaram as condições higiênico-sanitárias e as condições físicas de 359 escovas dentais, de crianças de idade entre dois e cinco anos, de ambos os gêneros, frequentadoras de seis creches da cidade de João Pessoa/PB, bem como as formas de acondicionamento destas escovas. A coleta de dados seguiu uma metodologia com abordagem indutiva e procedimentos comparativos, estatísticos e técnicos, por observação direta intensiva (formulário pré-estruturado). O índice utilizado para a avaliação macroscópica das condições físicas das escovas dentais em uso baseou-se na divergência e no espaçamento das cerdas, avaliando a deterioração e o desgaste das escovas dentais. No grau 0, não há certeza do uso das escovas dentais. No grau 1, as cerdas estavam divergentes em alguns tufo, mas a escova dental foi considerada de pouco uso. No grau 2, os tufo de cerdas, na sua maioria, estavam divergentes (curvados e inclinados), com tufo cobrindo outros tufo. Já no grau 3, a maioria dos tufo estava encoberta, com muitas cerdas divergentes, sendo a escova dental considerada imprópria para o uso. A concordância de diagnóstico entre os examinadores das

condições físicas das escovas dentais foi aferida pelo teste estatístico KAPPA, cujo valor foi de 0,64, sendo considerado uma concordância satisfatória. Para a avaliação da forma de acondicionamento das escovas dentais, foi observado se havia identificação das mesmas, bem como o seu tipo, além dos tipos de portaescovas utilizados, a condição de higiene da escova dental mediante o uso do portaescovas em particular, o material utilizado para confecção deste recipiente e as suas condições de higiene, se o portaescova permitia o estabelecimento de contato entre as escovas dentais ou das cerdas com ele mesmo. Os dados foram transferidos para um banco de dados informatizado. Na avaliação das condições físicas das escovas dentais, observou-se que 91% (327) receberam escore 0 e 1, enquanto 8,9% (32) apresentaram escores 2 e 3. Com relação à identificação na escova, 96,4% (346) apresentavam-na legível, sendo que a maioria, 48,5% (174) estava identificada com esparadrapo e caneta esferográfica. O resquício mais encontrado nas escovas dentais foi o dentifrício, em 31,7% (114) delas, seguido da umidade, em 33,4% (120). Foi realizada análise macroscópica de 19 portaescovas e a maioria deles foi confeccionado de plástico, 80,95% (17), sendo 52,63% (10) abertos e 47,36% (9) fechados. Entre os portaescovas examinados, 84,21% (16) eram de uso coletivo, 94,73% (18) havia contato entre as cerdas das escovas, e 84,21% (16) com contato entre as cerdas e o portaescovas. Concluíram que as escovas dentais pesquisadas das crianças das creches municipais apresentavam boas condições físicas, mas o armazenamento e os cuidados com a escova dental após a higienização bucal foram deficientes. Sugeriram a necessidade de orientação e motivação dos educadores das creches quanto ao uso correto e à discussão de alternativas de acondicionamento das escovas dentais para evitar a disseminação de doenças.

Azuma et al. (2006) estudaram a atividade antimicrobiana do ácido acético de diversos tipos e procedências sobre a *C. albicans*. Testaram dez marcas de vinagre frente a 21 isolados bucais de *C. albicans*, pertencentes à Micoteca da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos/UNESP, e uma amostra padrão de *C. albicans* (ATCC 18804). Prepararam-se placas com ágar Sabouraud dextrose (Difco, Detroit, EUA) e concentrações sequenciais de 50% a 0,75% de cada solução-teste. Suspensões padronizadas com  $1 \times 10^6$  células/mL de cada cepa a ser testada foram obtidas com auxílio da câmara de Neubauer. A seguir, os isolados clínicos e a amostra padrão foram inoculados nas placas com o auxílio de

um inoculador de Steers, em duplicata. As placas foram incubadas a 37°C, por 24h, e após este período, o crescimento de cada amostra foi observado para a determinação da máxima diluição fungicida (MDF) de cada solução-teste frente às amostras testadas. Os resultados obtidos foram expressos em valores de MDF efetivos frente aos isolados testados. Observaram o crescimento característico dos isolados de *C. albicans*. A totalidade das amostras inoculadas foi inibida na concentração de 6% da solução-teste. Os resultados mostraram efetiva atividade fungicida das diferentes marcas e origens de vinagre. As soluções analisadas foram efetivas em baixas concentrações, de 3 a 6%, viabilizando o interesse na aplicabilidade do produto. O ácido acético provou atividade antimicrobiana semelhante àquela demonstrada por desinfetantes consagrados na Odontologia, como hipoclorito de sódio e glutaraldeído. Concluíram que todas as soluções testadas em baixas concentrações apresentaram efetividade contra cepas de *C. albicans*.

Chaves et al. (2007) avaliaram a taxa de sobrevivência bacteriana e a eficácia da descontaminação pelo borrifamento de soluções antibacterianas de baixo custo em escovas dentais de pré-escolares. Foram selecionados aleatoriamente trinta pré-escolares assíduos, com idade entre seis e sete anos, devidamente matriculados em uma escola municipal de educação infantil do município de Franca-SP. Durante a pesquisa nenhuma criança fez uso de antibióticos. Os estudantes receberam a cada semana uma escova dental nova da marca Ultra (Curitiba/PR, Brasil), que foram utilizadas durante os 5 dias letivos da semana. Os alunos realizavam uma única escovação, com duração de 1min após a merenda escolar. O dentífrico Colgate (São Bernardo do Campo – SP, Brasil) foi aplicado utilizando a técnica transversal, para melhor controle do uso de fluoretos, efetuando em seguida o enxague da escova dental com água da torneira. As escovas dentais foram coletadas e o excesso de água retido nas cerdas foi removido batendo-se levemente o cabo contra a borda da pia e entregues à professora para que fossem borrifadas com a solução antibacteriana. Como controle foi utilizada água deionizada esterilizada (solução 1) e para o teste, foi empregado o hipoclorito de sódio a 1% (solução 2) e o ácido acético a 0,05% (solução 3). As soluções foram armazenadas separadamente em borrifadores numerados e utilizadas por uma semana. A solução foi borrifada seis vezes com a escova posicionada de maneira a formar um ângulo de 90° em relação ao solo, a uma distância entre o bico do borrifador e as cerdas de

aproximadamente 5cm. O excesso da solução foi removido por agitação das escovas dentais e as mesmas foram armazenadas na sacola das crianças. Após uma semana foram substituídas, imediatamente recolhidas e armazenadas em um tubo de ensaio contendo 10mL de caldo Leethen (Difco®). O tempo de transporte das escovas ao Laboratório de Microbiologia da Universidade de Franca foi inferior a 2h, onde foram submetidas à sonificação em aparelho de ultrassom (Odontobrás®) por 5s, para que houvesse a liberação das bactérias aderidas nas cerdas. O material foi diluído em uma solução de cloreto de sódio a 0,85% a uma proporção de 1:10. Com auxílio de uma micropipeta, foram semeados 10µL da diluição no meio de cultura ágar sangue e incubados a 37°C, por 48h, em aerobiose para contagem total das UFC/mL. Ágar MacConkey foi utilizado para contagem de bacilos Gram-negativos, semeado e incubado nas mesmas condições descritas para o ágar sangue. Ágar Mitis Salivarius foi usado para cultura de estreptococos bucais, sendo incubado a 37°C por três dias em jarra para microaerofilia. Os resultados foram submetidos a testes estatísticos. No meio de cultura ágar sangue, em aerobiose, houve recuperação bacteriana em 42% e 90% das amostras com uso das soluções 1 e 3, respectivamente. Com o uso da solução 2, houve recuperação bacteriana em apenas 10% das amostras. No meio ágar Mitis Salivarius em microaerofilia, houve recuperação bacteriana em 85,71% e 76,92% das amostras, quando do uso da solução 1 e 3 respectivamente. Quando usada a solução 2, a recuperação bacteriana foi em apenas 10,34% das amostras. No meio de cultura ágar MacConkey, não houve recuperação bacteriana. Os resultados mostraram que o hipoclorito de sódio a 1% foi a solução mais eficaz na descontaminação das escovas dentais.

Efstratiou et al. (2007) avaliaram a contaminação e a taxa de sobrevivência de espécies cariogênicas e causadoras de periodontopatias em escovas dentais com propriedades antibacterianas, após um único uso em pacientes portadores de periodontite crônica. O efeito da descontaminação pelo uso de creme dental também foi avaliado. Foram selecionados dez pacientes com média de idade de 50,9 anos na Clínica de Periodontia da Faculdade de Odontologia da Universidade de Atenas. Esses pacientes não receberam tratamento prévio e nem instruções de higiene bucal e não usaram antimicrobiano nos quatro meses anteriores ao estudo. Os pacientes deveriam ter pelo menos três dentes unirradiculares em cada quadrante, dois dentes multirradiculares por quadrante no

maxilar e um dente multirradicular por quadrante na mandíbula, ter pelo menos quatro sítios com profundidade de 6mm e sangramento à sondagem, assim como perda óssea radiográfica de um terço do comprimento da raiz. Foram colhidas amostras de placa subgingival das regiões interdentais, na área dos molares, de cada quadrante para determinar o perfil microbiano de cada paciente. Foram utilizadas quatro escovas dentais diferentes para cada paciente. Dois quadrantes foram escolhidos aleatoriamente e receberam escovação profissional com escovas dentais que tinham seus filamentos revestidos com triclosan, sendo uma dessas com creme dental fluoretado, contendo sulfato de sódio, copolímero PVM/MA e triclosan. Os demais quadrantes foram escovados com escovas dentais sem filamentos revestidos por triclosan e utilizando em um dos quadrantes o mesmo creme dental. Após o uso, as escovas dentais foram lavadas em água corrente por 10s e armazenadas em ambiente seco à temperatura ambiente. Foram cortados quatro tufo de cada escova dental, após 0h, 4h e 24h, para a análise microbiológica. Escovas novas também foram examinadas da mesma forma para avaliar se elas estavam contaminadas antes do uso ou se uma contaminação acidental ocorreu durante a lavagem. As amostras foram levadas imediatamente para o laboratório em frascos tampados com 3mL de RTF, homogeneizadas por Vortex por 10s e feita a diluição seriada até  $10^{-6}$ . Foram usados meios seletivos e não seletivos para a cultura e identificação qualitativa e quantitativa dos vários micro-organismos, inoculados com uma alíquota de 0,1mL da diluição. Após cinco dias de incubação, foi contado o número de UFC. Uma segunda série de placas foi cultivada por 15 dias para a identificação e quantificação de bactérias com pigmentos negros. As placas foram incubadas por três dias a 37°C. Para o isolamento de lactobacilos, as placas foram incubadas em câmara de anaerobiose a 37°C durante cinco dias. A identificação das colônias foi baseada em sua morfologia, teste de Gram, mobilidade, fermentação de açúcares, atividade enzimática e uma série de testes bioquímicos, após repicagem das colônias. Concluíram que a carga microbiana das escovas dentais usadas reduz gradualmente e que esta redução é significativa durante as primeiras horas de armazenamento. Após 4h, a redução do número de bactérias é menos pronunciada. O uso de creme dental é uma maneira eficaz e fácil de reduzir a carga microbiana das escovas dentais e tem se mostrado mais eficiente do que o tempo. A eficácia do revestimento dos filamentos das escovas dentais com triclosan não foi comprovada.

Coutinho et al. (2007) verificaram a forma de acondicionamento e as condições das escovas dentais dos pré-escolares, buscando orientar os educadores sobre os cuidados necessários no manejo dessas escovas. Treze Centros Municipais de Educação Infantil CEMEIS da Secretaria 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 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 ou úmidas e de que forma eram 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 o 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 pacientes que guardavam suas escovas secas, 87,9% as secavam com toalhas 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 registro 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.

Lima et al. (2007), avaliaram *in vivo* o nível de formação de biofilme com estreptococos do grupo mutans (SM), nas hastilhas de escovas dentais Monobloc<sup>®</sup> da linha Científica<sup>®</sup> (Dental Line Robodente Ltda., Ribeirão Preto, SP), que apresenta cabo, cabeça e 116 hastilhas feitas de polietileno de baixa densidade, atóxico e insolúvel em água, que estão dispostas aos pares e separadas por espaços estreitos. Foram utilizados por 52 estudantes com idade entre 18 a 24 anos, de ambos os sexos, que não estavam fazendo uso de antibióticos ou antissépticos bucais, alunos do 5º período do curso de Farmácia-Bioquímica da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/USP. As escovas dentais foram usadas durante 2min., por uma única vez. O estudo clínico aleatório foi realizado em 3 etapas: na etapa I foi avaliado o nível de contaminação por biofilme com SM nas hastilhas das escovas dentais sem a utilização de dentífrício; na etapa II foi avaliado o nível de contaminação por biofilme com SM nas hastilhas das escovas dentais com a utilização de dentífrício sem agente antimicrobiano e na etapa III foi avaliado o nível de contaminação por biofilme com SM nas hastilhas das escovas dentais utilizando o dentífrício com agente antimicrobiano triclosan. Os alunos foram divididos em três grupos. Cada grupo efetuou os procedimentos descritos para cada uma das três etapas, com intervalos de uma semana entre cada etapa, para evitar qualquer tipo de influência nos resultados. Os grupos estiveram sujeitos aos mesmos fatores de divergências ambientais e experimentais. Na etapa I, ou controle, cada indivíduo recebeu uma escova dental nova e efetuou a escovação de maneira habitual durante 2min., sem dentífrício. Na etapa II, os mesmos indivíduos receberam uma nova escova da mesma marca e modelo da utilizada na etapa I e efetuaram a escovação, desta vez utilizando o dentífrício fluoretado Sorriso Super Refrescante (Colgate-Palmolive Indústria e Comércio Ltda, São Bernardo do Campo, SP). Na etapa III, o procedimento foi similar ao da etapa II, porém com o uso do dentífrício Colgate Tripla Ação (Colgate-Palmolive Indústria e Comércio Ltda, Osasco, SP), que em sua formulação apresenta o flúor e o agente antimicrobiano triclosan. Após a escovação, as escovas dentais foram enxaguadas com água da torneira pelos próprios participantes e o excesso de líquido foi eliminado. As escovas dentais foram fixadas em posição vertical em um suporte de espuma e acondicionadas dentro de um contêiner de papelão, evitando o contato entre elas e levadas ao laboratório de Microbiologia do Departamento de Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de

Ribeirão Preto/USP, para o processamento microbiológico. Após cerca de 1h de secagem, as escovas dentais foram colocadas/semeadas em tubos de ensaio de 25x150 mm, contendo o meio de cultura seletivo enriquecedor CaSaB para SM, e incubadas em estufa a 37°C por três a quatro dias. Após a incubação, as escovas dentais foram analisadas com o auxílio de um microscópio estereoscópico (Nikon, JP) sob luz refletida para a contagem das UFC de biofilme com SM. Dos 52 alunos, apenas 35 (67,3%) completaram todas as três etapas do estudo, porém somente trinta indivíduos (57,7%) foram considerados, uma vez que cinco deles não apresentaram SM na saliva. Os números de UFC de SM nas hastilhas das escovas dentais foram transformados em escores e o teste estatístico dos sinais foi realizado para verificar as possíveis diferenças entre os grupos. Ocorreu formação de colônias/biofilmes com SM nas hastilhas de 22 das trinta escovas dentais da etapa I (73,3%) (grupo controle), com valores variando de 1UFC a mais de 100UFC. Após a utilização do dentifrício Sorriso Super Refrescante® (etapa II) foi observada a formação de biofilme com SM nas hastilhas de 4 (18,2%) das 22 escovas dentais positivas para SM (etapa I), com valores variando de 1 a 8UFC. Na etapa III, com uso de dentifrício Colgate Tripla Ação®, não houve a formação de biofilme com SM nas hastilhas das 22 escovas dentais. De acordo com a análise estatística, não houve diferença entre os resultados dos dentifrícios Sorriso Super Refrescante® e Colgate Tripla Ação®. O uso de ambos reduziu a formação de biofilme com SM nas hastilhas das escovas dentais e amenizaram essa fonte de disseminação microbiana.

Mialhe, Silva e Possobon (2007) avaliaram os hábitos referentes ao armazenamento e desinfecção das escovas dentais por todos os acadêmicos (n = 201) do 1º ao 5º ano do curso de Odontologia da Unioeste/PR, por meio de questionários do tipo múltipla escolha. Os alunos foram abordados em sala de aula e convidados a participar do estudo. Dois auxiliares da pesquisa, que receberam treinamento prévio por parte do pesquisador, conduziram a coleta dos dados. As questões eram referentes ao tempo de aquisição da escova de dente, procedimentos realizados após a escovação, os locais de armazenamento e práticas de desinfecção. Os dados coletados foram inseridos em planilhas, analisados por meio de estatística descritiva. A frequência de participação dos alunos foi de 86,1%, dos acadêmicos convidados a participar do estudo, 173 aceitaram e responderam devidamente o instrumento de coleta de dados. Com relação aos procedimentos

realizados com a escova dental após o uso, quase metade dos acadêmicos (42,5%) tinha por hábito lavar e bater a mesma na pia para remoção do excesso de água, sendo que menos de 20% da amostra empregava algum tipo de produto antisséptico para a desinfecção. A maioria dos alunos (72,3%) armazenava sua escova dental dentro do armário do banheiro, enquanto que 9,2% armazenavam em cima da pia, dentro de algum recipiente ou suporte e 7,5% em suportes na parede sobre a pia. O resultado da questão relativa à periodicidade de troca das escovas dentais mostrou que 71,5% dos entrevistados as trocavam num período de um a três meses, 24,5% não utilizavam nenhum critério específico de tempo e 4% trocavam as escovas de dente após um período médio de 4 a 5 meses. Verificaram que boa parte dos graduandos não secava as cerdas, nem utilizava qualquer produto desinfetante após sua utilização, fato este que poderia favorecer o acúmulo microbiano nesse importante instrumento de higiene bucal.

Ayşegül et al. (2007) determinaram o nível de contaminação por *Streptococcus* do grupo *mutans* nas escovas dentais de crianças e também avaliaram a eficácia do digluconato de clorexidina a 0,12% como desinfetante das mesmas. Foram escolhidas aleatoriamente 71 crianças e separadas em três grupos de acordo com o nível de infecção por *Streptococcus* de cada criança, sendo os grupos de baixo risco de cárie dentária, 0-21UFC/mL, médio risco, 21-100UFC/mL e com risco elevado, acima de 100UFC/mL. Foram selecionadas 24 crianças do grupo de risco elevado de cárie dentária, que receberam instruções de higiene bucal e realizaram escovação assistida durante cinco dias consecutivos. Após esse período, as escovas dentais foram recolhidas e separadas em três grupos: no primeiro as escovas foram imersas em um tubo de ensaio contendo 10mL de solução de gluconato de clorexidina a 0,12% e benzidamina a 0,15%; no segundo foi borrifado sobre as cerdas a mesma solução; e no terceiro, as escovas foram imersas em uma solução salina estéril, para controle. Observaram diferença estatisticamente significativa entre o grupo controle (3) e os grupos de ensaio (1 e 2). Porém, não houve diferença entre os grupos 1 e 2. Houve grande crescimento de *Streptococcus mutans* em todas as escovas imersas em solução salina estéril. Tanto o uso de imersão, como por borrifamento da solução de digluconato de clorexidina a 0,12% se mostraram eficazes na descontaminação das escovas dentais.

Ribeiro, Hashizume e Maltz (2007) realizaram uma revisão de literatura sobre como as diferentes formulações de clorexidina reduziram o nível de

*Streptococcus mutans* na cavidade bucal. Os estudos tiveram variações em relação à quantidade de solução de digluconato de clorexidina utilizada para o bochecho, o período e o tempo do tratamento. Concluíram que o enxague bucal com solução de digluconato de clorexidina produziu um efeito por um curto período sobre os *S. mutans* presentes na saliva. O gel de digluconato de clorexidina a 1% reduziu os níveis de *S. mutans* por um período de quatro a 26 semanas depois de um tratamento intensivo ou por meio de aplicações diárias por períodos de dez a 14 dias. O tratamento com o verniz de digluconato de clorexidina mostrou grande variação na intensidade da redução dos níveis de *S. mutans*. Os estudos não mostraram diferença estatisticamente significativa entre a aplicação do gel ou do verniz. Os efeitos do tratamento com o digluconato de clorexidina devem ser monitorados, refinando a análise para as variações individuais que ocorrem como resposta a esse tratamento.

Devine et al. (2007) avaliaram a eficácia do EDTA tetrassódico na erradicação de biofilmes derivados de saliva inócua ou de culturas puras de *C. albicans* em discos de polimetilmetacrilato ou biofilme de escovas dentais utilizadas em condições normais por quatro a oito semanas. A eficiência da neutralização também foi determinada. O tratamento noturno por 16h com EDTA tetrassódico a 4% (p/v) reduziu o biofilme viável de *C. albicans* em 99%. A remoção do biofilme foi confirmada através de microscópio de varredura multifocal a laser. Infecções por Herpes simples e suspensões de vírus da poliomielite foram reduzidas em 99% com tratamentos por 1h e 2h, respectivamente. Concluíram que a solução de EDTA tetrassódico foi eficiente na desinfecção do biofilme e de vírus das escovas dentais e dos discos de polimetilmetacrilato de bases de próteses totais, sendo um método rápido, efetivo, não tóxico e facilmente implantável.

Mehta, Sequeira e Bhat (2007) avaliaram o nível de contaminação de escovas dentais que após o uso foram mantidas ao ar livre e daquelas cujas cabeças foram cobertas 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 creme dental. Na primeira fase as escovas dentais eram secas ao ar livre após o uso. Na segunda fase, as

mesmas foram imersas, por 12h, em solução de digluconato de clorexidina a 0,2% ou Listerine<sup>®</sup>. 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 estavam contaminadas com *S. aureus*, *S. viridans*, *S. epidermidis* e *Acinetobacter spp.* Na segunda etapa, a imersão em gluconato de clorexidina se mostrou mais eficiente que a de Listerine, pois com uso deste último, duas das cinco escovas dentais examinadas apresentaram crescimento microbiano. Já na terceira etapa, sete das dez escovas apresentaram micro-organismos, sendo que 6 foram colonizadas por *Pseudomonas aeruginosa* e uma por *Klebsiella spp.* Concluíram que a solução digluconato de clorexidina é mais eficaz para a descontaminação de escovas dentais após o uso do que o Listerine<sup>®</sup> 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 bacteriano.

Semenoff et al (2008) compararam a efetividade *in vitro* do gel *in natura* de *Aloe vera in natura*, do gel de digluconato de clorexidina a 0,12% e do gel de digluconato de clorexidina a 2% na inibição de crescimento de *E. faecalis*. Foram usadas quarenta placas de Petri, com meio de cultura ágar Sangue (Newprov Produtos Laboratoriais, São José dos Pinhais, PR, Brasil). Desse total, dez placas não foram semeadas para avaliar a ausência de contaminação, representando o controle negativo. Trinta placas foram usadas para semeadura, sendo vinte para teste das substâncias e dez para avaliar o crescimento dos micro-organismos. Foram feitas aberturas com 6mm de diâmetro e 2mm de profundidade no centro do meio de cultura, para a colocação dos discos de papel com as substâncias. Utilizou-se cepa de *Enterococcus faecalis*, (ATCC 10231). Os micro-organismos foram inoculados em 7mL de BHI (Difco Laboratories, Detroit, MI, EUA) e levados à estufa a 37°C por 24h. Em seguida, os mesmos foram suspensos em solução salina, atingindo a concentração próxima de  $3 \times 10^8$  células/mL. Desta suspensão foi inoculado 0,1mL por toda a extensão das placas de modo uniforme, utilizando-se swabs estéreis (Rayswab Indústria Brasileira, Diadema, SP, Brasil). Os discos de papel absorvente (Papel Filtro Qualy, São José dos Pinhais, PR, Brasil) com 5mm de diâmetro foram previamente esterilizados e embebidos nas seguintes substâncias:

gel de gluconato de clorexidina a 0,12%, gel de gluconato de clorexidina a 2%, gel de *Aloe Vera* e água destilada esterilizada e inseridos nas placas e colocadas na estufa a 37°C e por 60h. Uma única examinadora experiente e calibrada utilizou uma lupa estereoscópica (Estek, São Paulo, SP, Brasil) e um paquímetro digital (Mitutoyo Sul Americana Ltda. – modelo 500144B, Suzano, SP, Brasil), para a mensuração dos halos de inibição. A análise estatística utilizou o teste ANOVA, com correção de Bonferroni, ao nível de significância de 5%. As placas de controle negativo apresentaram-se livres de qualquer crescimento bacteriano e as de controle positivo demonstraram crescimento uniforme das bactérias por toda a extensão do meio de cultura. Houve diferença estatisticamente significativa entre todos os grupos, sendo que a inibição do crescimento dos micro-organismos em ordem decrescente foi: gel de clorexidina a 2%, gel de clorexidina a 0,12%, gel de *Aloe Vera in natura* e água destilada (controle). Concluíram que frente ao micro-organismo *Enterococcus faecalis* o gel de *Aloe vera in natura* teve efetividade menor em relação ao gel de clorexidina 0,12% e ao gel de clorexidina a 2%.

Semenoff, Semenoffn Segundo e Biasoli (2008) compararam a efetividade antimicrobiana, *in vitro*, dos enxaguatórios bucais Periogard<sup>®</sup>, Cepacol<sup>®</sup> e Plax<sup>®</sup> Classic, cujas composições contêm digluconato de clorexidina 0,12%, cloreto de cetildipiridíneo e triclosan, respectivamente e que foram adquiridos em farmácias de Cuiabá, MT sobre os micro-organismos *S. aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*. Foram usadas 16 placas com o meio de cultura Mueller Hinton para *P. aeruginosa* e 16 placas com ágar sangue para *S. aureus*, duas placas de Ágar sangue e duas de Mueller Hinton para avaliação do crescimento dos respectivos micro-organismos, servindo como controle positivo. Para o controle negativo, duas placas de ágar sangue e duas de Mueller Hinton, sem a realização da semeadura dos micro-organismos para avaliar a ausência de contaminação dos respectivos meios de cultura. Foram inoculados em 7mL de Ágar BHI e levados à estufa por 24h para replicação. Ao final dessa etapa, buscaram atingir concentração próxima de  $3 \times 10^8$  células/mL. Para o teste de difusão foi inoculado 0,1mL da suspensão com *swab* estéreis. Discos de papel absorvente com 5mm de diâmetro foram esterilizados previamente e embebidos nos enxaguatórios bucais por um período superior a 1min., além de em água destilada, usada como controle. A inserção dos discos de papel nas placas seguiu o exemplo de um mostrador de relógio, sendo Plax<sup>®</sup> às 12h, Cepacol<sup>®</sup> às 15h, Periogard<sup>®</sup> às 18h e água destilada às 21h. As placas foram

colocadas em estufa a 37°C por 48h. A mensuração dos halos de inibição foi feita por um único examinador, calibrado, cegamente, com auxílio de lupa estereoscópica e um paquímetro digital. Os dados foram analisados por ANOVA e teste de Bonferroni, ao nível de significância 5%. Para calibragem, usou-se o teste t de *Student* para amostras pareadas. Os resultados revelaram que contra o *P. aeruginosa*, o Periogard® foi mais eficaz, seguida pelo Cepacol®, sendo que o Plax® e a água destilada, não apresentaram efeitos inibitórios. Contra o *S. aureus*, todas as substâncias apresentaram efetividade, porém o Cepacol® demonstrou melhores resultados, seguido do Periogard® e Plax®, respectivamente. Portanto, é possível concluir que os enxaguatórios usados no estudo possuem diferentes potenciais de inibição para o crescimento de *S. aureus* e *P. aeruginosa*.

Chang et al. (2008) compararam o uso do CHROMagar Orientation® (CH) e do CPS ID 3 (CPS3) com meios de rotina tradicionais para recuperação, contagem e identificação de micro-organismos em culturas de urina. Foram usadas 1.386 amostras enviadas ao laboratório de Microbiologia do Hospital de Taiwan. Do total da amostra, 1.270 eram de fluxo médio, coletadas a vácuo e semeadas de modo semelhante em duas placas em BP/EMB (Becton Dickinson Microbiology®), em CO e em CPS3 com alça calibrada de 1µL; e 116 amostras recolhidas por cateterização foram semeadas em duplicata em BP/BEM, com alça calibrada de 1µL e 10µL e em CO e CPS3 com alça calibrada de 1µL. Foi usada a técnica semiquantitativa de riscos para semeadura. As placas cromogênicas foram incubadas em condições ambientais, a 35°C durante a noite e depois feita a leitura por um observador. As placas BP/EMB foram incubadas em 5% de CO<sub>2</sub>. Foram consideradas clinicamente significantes se até dois micro-organismos fossem recuperados em uma amostra, um isolado quantificado de  $\geq 100.000$ UFC/mL em amostras coletadas a vácuo ou  $\geq 1000$  UFC/mL em amostras recolhidas por cateterização. Foram identificados todos os isolados clinicamente significativos que apresentaram crescimento nas placas BP/EMB. Métodos convencionais e o sistema VITEK® foram usados para identificação. As colônias que cresceram no ágar cromogênico foram registradas em relação à contagem, cor, forma e ocasionalmente coloração Gram. O crescimento em BP/EMB serviu de referência. Os resultados foram interpretados de acordo com a relevância das infecções do trato urinário. Foram seguidas as orientações dos fabricantes e de publicações anteriores. As colônias foram identificadas de acordo com as cores. Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística. Concluíram

que o uso de CO e CPS3 como meio de cultura de eleição para exames clínicos de urina foram promissores, além de observarem significativa economia de tempo e trabalho nos laboratórios de Microbiologia.

Trabulsi, Toledo e Gomes (2008) relataram que o *Pseudomonas aeruginosa* é um bacilo Gram negativo não fermentador, considerado atualmente 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 micro-organismos mais ubiqüitários, pois é encontrada no solo, água, vegetais, animais, alimentos e nos mais diversos ambientes hospitalares. Raramente causa infecção num indivíduo imunocompetente, porém é um dos principais agentes de infecção em indivíduos com defesas diminuídas. Pode estar associada a diferentes tipos de infecções oportunistas em pacientes imunocomprometidos. É causa importante de infecções nosocomiais 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.

Tomás et al. (2008) avaliaram a ação antimicrobiana do digluconato de clorexidina nas concentrações de 0,2% e 0,12% sobre a microbiota microbiana presente na saliva, por meio de um bochecho único. Participaram da pesquisa vinte voluntários adultos, que concordaram em não realizar qualquer tipo de higienização bucal na noite anterior à coleta de saliva e não se alimentar por 1h antes e durante a realização dos procedimentos. Foram coletados 2mL de saliva de cada participante, nos tempos de 30s e 1h, após cada procedimento. O estudo foi dividido em três grupos: no primeiro grupo (controle), os participantes realizaram um único bochecho com 10mL de água destilada, com duração de 30s. No segundo grupo, os participantes fizeram bochecho com 10mL de digluconato de clorexidina a 0,2% (Oraldine Perio<sup>®</sup>), durante 30s. No terceiro grupo, o bochecho foi realizado com 10,0mL de digluconato de clorexidina a 0,12% (Paroex<sup>®</sup>), durante 30s. Foi estabelecido o intervalo de duas semanas entre as coletas das amostras de um grupo para o outro. A saliva colhida de cada amostra foi misturada a uma solução neutralizante de clorexidina, composta por 3% de Tween 80; 0,3% de lecitina e 0,1% de cisteína. As amostras mistas de saliva e de solução neutralizante foram

imediatamente inoculadas num meio de transporte (BBLTM<sup>®</sup>) e sofreram diluição seriada de  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ . Uma das partes não sofreu a diluição. Para a cultura de bactérias aeróbicas ou anaeróbicas facultativas foi utilizado o ágar sangue (BioMérieux<sup>®</sup>), em condições aeróbicas, em uma atmosfera de 5% a 10% de gás carbônico por 24h e para o cultivo de bactérias estritamente anaeróbicas, o Ágar sangue de carneiro (BioMérieux<sup>®</sup>), foi usado sob condições anaeróbicas por 48h a 72h. O número de UFC/mL foi expresso em escala logarítmica decimal ( $\log_{10}$ UFC/mL) e enviado para análise estatística. O teste ANOVA foi empregado para analisar as amostras. O bochecho com a solução de digluconato de clorexidina a 0,2% produziu uma diminuição significativa da microbiota presente na saliva, após 30min. e 1h. A concentração da solução de clorexidina interfere na atividade antimicrobiana, uma vez que, a clorexidina a 0,2% apresentou um resultado melhor do que a clorexidina a 0,12% nos dois tempos pesquisados, podendo dessa forma garantir a alta atividade antimicrobiana nas situações clínicas.

Saravia et al. (2008) avaliaram, *in vitro*, a viabilidade de *S. mutans* nas cerdas de escovas dentais, em relação ao tempo de secagem. Foram imersas 45 escovas dentais novas Johnson Jr (Johnson & Johnson, São Paulo, Brasil) em uma suspensão de *S. mutans* (ATCC 25175), em uma concentração de 1.720.000 UFC/mL durante 4min. As escovas dentais foram lavadas durante 5s com água da torneira esterilizada. O grupo I (controle) foi submetido à análise microbiológica imediatamente após a lavagem. Os outros grupos de escovas dentais foram numerados de dois a nove e mantidos em temperatura ambiente durante 4h, 8h, 12h, 24h, 36h, 48h, 60h e 72h, respectivamente. Foi usado um recipiente fechado que evitava o contato entre as escovas dentais, mas que permitia a circulação de ar para secagem das mesmas. Um grupo controle adicional, contendo cinco escovas dentais novas, foi submetido à análise microbiológica para investigação da contaminação decorrente da fabricação. Depois do tempo de secagem de cada grupo, as escovas dentais foram colocadas individualmente em posição vertical em um tubo de ensaio com dimensões de 25 x 150mm, contendo 10mL de CaSaB, evitando o contato entre as cerdas das escovas dentais e as paredes do tubo, durante três a quatro dias, a 37°C. As escovas dentais foram retiradas e lavadas no caldo, com agitação suave para remoção da microbiota planctônica, deixando aderidas as bactérias sésseis. As cerdas foram analisadas, em todos os lados e ângulos, por um examinador experiente. As colônias/biofilmes de *S. mutans* foram

identificadas com base na sua morfologia. A contagem foi realizada em condições assépticas e com o auxílio de um microscópio estereoscópico (Nikon, Tóquio, Japão). O número de colônias/biofilmes de *S. mutans* na superfície das cerdas foi classificado de acordo com uma determinada escala: Escore 0 = sem colônias/biofilmes, indicando ausência de micro-organismos; Escore 1 = uma a cinquenta colônias/biofilmes; Escore 2 = 51 a cem colônias/biofilmes; Escore 3 = mais de cem colônias/biofilmes, indicando intenso crescimento bacteriano, não permitindo precisão na contagem das colônias/biofilmes. Os dados foram submetidos à análise estatística. Os resultados revelaram que à medida que o tempo de secagem aumentava, o número de colônias/biofilmes diminuía. Além disso, foi verificado que após o período de secagem de 12h não houve crescimento de *S. mutans*. Os grupos 1, 2 e 3 se comportaram de forma semelhante e diferiram significativamente dos outros grupos, que por sua vez foram semelhantes entre si. Os *S. mutans* permaneceram viáveis nas cerdas das escovas dentais até 08h após a secagem.

Nascimento et al. (2008) avaliaram a eficácia do Periogard<sup>®</sup> e do Plax<sup>®</sup>, sob a forma de *spray* na inibição da formação do biofilme de *Streptococcus* do grupo *mutans* nas cerdas de escovas dentais utilizadas por 53 estudantes universitários. O grupo controle utilizou a água destilada esterilizada. Em cada uma das três etapas do estudo, os estudantes realizaram a escovação dos dentes sem dentifrício, por 2min. As escovas dentais foram enxaguadas e cada solução borrifada seis vezes sobre as cerdas. Após um período de 3h à temperatura ambiente, as escovas dentais foram colocadas em tubos contendo 10mL de CaSaB e incubadas a 37°C por três a quatro dias. A contagem das colônias/biofilmes formadas sobre as cerdas foi realizada em estereomicroscópio sob luz refletida. As 3 fases do estudo foram completadas por 41 estudantes e 38 (92,7%) indivíduos do grupo controle apresentaram UFC de *S. mutans* variando de uma a incontáveis colônias. O Periogard<sup>®</sup> e o Plax<sup>®</sup>, em *spray*, reduziram/eliminaram a formação de biofilme sobre as cerdas das escovas dentais em 97,4% e 84,2%, respectivamente.

McCoy et al. (2008) estudaram os efeitos adversos associados ao uso da solução de digluconato de clorexidina em um ensaio clínico cego e randomizado como terapia complementar no tratamento de pacientes veteranos de guerra, com doença periodontal e diabetes descompensada, realizado entre dezembro de 2000 e novembro de 2004. Os pacientes possuíam taxa de hemoglobina glicosada A<sub>1c</sub>

(HbA<sub>1c</sub>) igual ou superior a 8,5% e foram submetidos à terapia periodontal, incluindo raspagem com ultrassom, irrigação subgengival com solução de digluconato de clorexidina a 0,12%, raspagem manual e tratamento químico complementar com bochecho de solução de digluconato de clorexidina a 0,12% duas vezes por dia durante quatro meses e doxiciclina sistêmica 100mg por dia durante 14 dias e instruções orais e escritas sobre como proceder. Quando o paciente relatava algum efeito adverso, o uso do medicamento era suspenso. Ao final do tratamento os pacientes foram submetidos a questionário e entrevista. Os dados coletados foram armazenados e as análises estatísticas foram calculadas com margem de erro de 5%. Os resultados mostraram que a taxa de efeitos adversos foi maior do que estimada e foi relatada por 31% dos pacientes, sem gravidade. Apenas 7% relataram efeitos adversos no primeiro mês de uso. Em ordem de prevalência os efeitos foram: alterações do paladar, manchas sobre os dentes, língua e/ou prótese; boca, língua e/ou garganta inflamada e irritação na ponta da língua; chiado no peito e falta de ar. Os efeitos adversos eram inversamente proporcionais ao índice de massa corporal e estes são comuns em pacientes submetidos a bochecho com solução de digluconato de clorexidina e que é de responsabilidade médica esclarecer ao paciente sobre esses efeitos e orientá-los a interromper imediatamente a medicação quando estes ocorrerem.

Cousido et al. (2008) testaram a eficácia de um sistema de neutralização da atividade antimicrobiana da solução de digluconato de clorexidina a 0,2%. Foram utilizadas amostras de bactérias sobreviventes à ação antimicrobiana do enxaguatório bucal na microbiota da saliva. Participaram da pesquisa vinte voluntários adultos, que apresentavam boas condições de saúde geral e bucal e sem histórico de uso de enxaguatório bucal ou antibiótico nos últimos três meses. Foram coletadas amostras de 4mL de saliva dos participantes após 30s e 1h de fazerem um bochecho com 10mL de solução de digluconato de clorexidina a 0,2% (Oraldine Perio, Pfizer, Barcelona, Spain). As amostras foram divididas em duas alíquotas, a primeira parte foi misturada com a solução neutralizante, que era composta de 3% Tween 80 (p/v); 0,3% de lecitina; 0,1% de cisteína, diluídas em água e a outra metade foi misturada com água destilada, formando o grupo controle. As amostras passaram pelo processo de diluição seriada até 10<sup>-4</sup> e, posteriormente, algumas diluições foram cultivadas no ágar sangue por 24h, numa atmosfera de 5-10% de CO<sub>2</sub>, para calcular as bactérias aeróbicas e anaeróbicas facultativas.

Algumas diluições foram cultivadas em ágar sangue de carneiro, sob condições anaeróbias por 48h a 72h, a fim de identificar as bactérias anaeróbias estritas. Para excluir as bactérias anaeróbicas facultativas, as colônias de bactérias previamente cultivadas em atmosfera anaeróbica foram subcultivadas em ágar sangue em uma atmosfera de 5 a 10% de CO<sub>2</sub>, sob condições aeróbicas por 24h. O número de UFC/mL foi contado e o resultado foi expresso em logaritmo (log<sub>10</sub>UFC/mL). Um único bochecho por 30s. da solução de digluconato de clorexidina a 0,2% resultou em efeito antibacteriano imediato e pronunciado na flora bacteriana da saliva, que permaneceu por pelo menos 1h após a aplicação. Houve uma diferença estatisticamente significativa na soma total de bactérias entre a solução neutralizante e o grupo controle nas amostras de saliva que foram coletadas 30s e 1h após o bochecho. Concluíram que o neutralizante não é tóxico para a flora bacteriana da saliva e efetivamente desativa a flora residual, e que a atividade antimicrobiana da solução de digluconato de clorexidina a 0,2% dura pelo menos por 1h após um único bochecho com esse antisséptico.

Bezirtzoglou et al. (2008) verificaram a contaminação das escovas dentais depois de usadas por diferentes micro-organismos e a susceptibilidade destes à ação do gás ozônio. O efeito experimental do ozônio sobre estas escovas foi estimado microbiologicamente antes e após a saturação com o gás. Foram analisadas cinquenta escovas dentais. Elas foram usadas pelos pacientes por um período entre um a mais de três meses. Nenhuma das escovas dentais foi previamente descontaminada e os participantes foram divididos em dois grupos: crianças com idade de sete a dez anos e adultos de vinte a setenta anos. Os voluntários levaram suas escovas dentais para o laboratório em sacos plásticos estéreis após escovarem seus dentes e as enxaguarem e estas foram processadas imediatamente. As cerdas das escovas dentais foram transferidas para tubos com 9mL de PBS. O conteúdo foi agitado por 10min., para que as células sésseis fossem desprendidas. Foram semeados 100µL de cada solução em diferentes meios de cultura, seletivos e não seletivos. As placas foram incubadas por 24h a 37°C aerobicamente, e anaerobicamente por cinco dias a 37°C. A identificação foi baseada na formação de colônias, características biológicas e na morfologia das células. Na segunda fase do estudo, as diluições das amostras (T = 20°C) foram saturadas com gás ozônio (Air & Water System PC1325, USA), por meio de um microdifusor estéril e as amostras de micro-organismos foram analisadas após 5, 10,

15, 20 e 30min. Uma avaliação quantitativa do crescimento microbiano foi obtida com inoculação de diluições seriadas de  $10^{-1}$  a  $10^{-7}$  de cada amostra no ágar sangue. A concentração de ozônio foi estimada por meio de um método fotométrico (Hach Co., Loveland Co., USA). A concentração final de ozônio descrita foi de 3 a 3,5ppm. A avaliação quantitativa do crescimento bacteriano foi realizada após o fim da ozonização. A diferença entre a contagem bacteriana antes e depois da ozonização foi estimada. Foram identificadas 16 espécies bacterianas nas escovas dentais de adultos e de crianças. O mais frequente foi o gênero *Streptococcus*, identificado em 31,5 % das escovas dentais, distribuídos igualmente entre as crianças (32%) e os adultos (31%). Nas escovas das crianças foram identificados também *Aerococcus viridans* (68%), *C. albicans* (52%), e *Lactobacillus spp.* (40%), enquanto estafilococos foram dominantes no grupo adulto. Algumas enterobactérias estiveram presentes, especialmente no grupo infantil. A avaliação quantitativa da microbiota revela que o número total de micro-organismos presentes foi entre  $10^2$  a  $10^6$  UFC por escova dental. Com relação ao experimento com o ozônio em ambos os grupos, após apenas 10min. de ozonização, diferenças estatísticas significantes com a concentração original de micro-organismos foi observada, sendo que após 5min. a diferença foi insignificante. Uma sanitização eficiente ocorreu após 30min. de ozonização, quando não foi observado um número viável de micro-organismos nas amostras. Pelo fato da escova dental representar uma possível fonte de infecção e reinfecção, a desinfecção deve ser recomendada depois de cada uso. O ozônio, por sua capacidade de afetar as paredes das membranas citoplasmáticas das células das bactérias, pode ser considerado um promissor agente bactericida, antiviral, e antifúngico. Uma alta dose de água ozonizada deveria ser testada para a descontaminação de escovas dentais.

Moreira e Cavalcante (2008) analisaram a influência da higienização na contaminação das escovas dentais, comparando microbiologicamente as escovas que foram e que não foram submetidas a métodos de higienização. Participaram do estudo quarenta pacientes dos quais vinte pertenciam ao grupo tratamento e os vinte restantes ao grupo controle. Ao grupo tratamento foi entregue um conjunto composto de escova dental de cerdas macias, capa protetora para escova dental, solução antisséptica bucal, copos plásticos e uma lista de orientações para utilização e armazenamento, contendo as seguintes informações a serem seguidas após o uso: lavar a escova dental e a capa protetora em água corrente, batê-la na borda da

pia para tirar o excesso de água, mergulhá-la junto com a capa protetora em solução antisséptica bucal durante 5min., colocar a capa protetora na escova dental e deixar sob a pia, dentro do copo plástico. Os participantes do grupo controle receberam uma escova dental com cerdas macias e nenhuma orientação. Após 15 dias da distribuição, o material foi devolvido pelos pacientes para serem submetidas à análise microbiológica. Os resultados do grupo tratamento foram significativos, quando comparado com os resultados do grupo controle. Detectaram ainda, que 100% das escovas dentais usadas pelos pacientes do grupo controle estavam contaminadas por quatro espécies de micro-organismos: *C. albicans*; *E. coli*; *S.mutans* e *B. subtilis*. Das escovas dentais do grupo tratamento, 25% estavam contaminadas. A análise do questionário, realizado antes da participação dos pacientes na pesquisa, também apontou que cerca de 50% dos pacientes de ambos os grupos, após utilizarem a escova dental, guardam a mesma no armário do banheiro; 24% deixam as escovas dentais sobre a pia do banheiro e 16% enxugam as escovas na toalha de rosto, antes de guardá-la no armário. Uma mudança significativa neste comportamento foi observada no grupo tratamento. Após 15 dias realizando a manutenção e o armazenamento da escova dental de forma orientada, o percentual de pacientes que as guardavam no armário após o uso caiu para 3%, enquanto o de pacientes que a deixavam sobre a pia e que a enxugavam em toalhas de rosto caiu para 0,4% e 1%, respectivamente. Isso indicou que 95,6% do pacientes do grupo tratamento seguiram criteriosamente as regras de higienização proposta na pesquisa. Concluíram que os hábitos de higienização e armazenamento adequados das escovas dentais são tão imprescindíveis quanto os hábitos de higiene bucal.

Turner et al. (2009) realizaram um estudo duplo cego aleatório para determinar a efetividade do recobrimento das cerdas com solução de digluconato de clorexidina no controle da contaminação bacteriana de escovas dentais por micro-organismos patogênicos. Segundo o fabricante, o digluconato de clorexidina residual liberado durante a escovação não gerava nenhum efeito sistêmico ao usuário. Foram selecionados 64 adultos, que passaram inicialmente por um exame individual e foram excluídos aqueles que usaram antibióticos ou antissépticos nos últimos trinta dias, as grávidas, os que apresentavam doença periodontal severa ou cáries dentárias, os portadores de doenças sistêmicas, como a diabetes e os imunocomprometidos. Foram distribuídos em dois grupos, sendo um experimental e

um controle. Durante o estudo cinco mulheres foram excluídas. Ambos os grupos, receberam escovas dentais e dentifrícios idênticos, para que o resultado final não fosse afetado. As escovas dentais possuíam cerdas sintéticas, com revestimento de digluconato de clorexidina, com exceção do grupo controle, cujas escovas não possuíam esse revestimento. As escovas dentais não eram previamente esterilizadas, sendo entregues aos pacientes dentro de suas embalagens originais lacradas. Estes foram orientados a seguir seus hábitos normais de higiene, usar exclusivamente a escova dental e o dentifrício fornecido a eles e a enxaguar as escovas dentais em água corrente por 30s e depois cobri-las com um dispositivo de proteção que permitia ventilação. Embora o hábito de cobri-las favoreça a proliferação bacteriana, isso foi feito para proteger as escovas da contaminação com micro-organismos do ambiente ou de outras escovas dentais próximas. Foram feitos alguns testes para determinar as diluições apropriadas em TSA e Ms, com incubação por 24h a 37°C. No último dia do estudo, os pacientes usavam as escovas pela manhã e a entregavam ao examinador em um pacote lacrado. As 59 escovas dentais, 28 do grupo controle e 32 do grupo experimental, foram enviadas ao laboratório para as análises microbiológicas. Cada escova foi colocada em um frasco tampado, com solução salina estéril, agitados no Vortex<sup>®</sup> por 30s e incubadas em condições aeróbicas por 24h a 37°C. O Ms foi escolhido por ser um meio seletivo para estreptococos, prevenindo a inibição deles por outros micro-organismos. Já o TSA com 5% de sangue de carneiro foi indicado como meio não seletivo para crescimento de bactérias aeróbias totais. As placas com trinta a trezentas colônias foram selecionadas para análise e as placas que as colônias fossem maior que esses números, porém identificáveis, eram consideradas como grau máximo de crescimento microbiano. Os resultados revelaram que as diferenças não foram estatisticamente significantes quanto ao crescimento de micro-organismos nas cerdas das escovas entre grupo controle e o grupo experimental, nos dois meios de cultura usados, após trinta dias de observação.

Ankola, Hebbal e Eshwar (2009) relataram em uma revisão de literatura, que até recentemente pouca atenção era dada ao papel que as escovas dentais exerciam na saúde humana. É do conhecimento geral que a cavidade bucal humana abriga uma grande variedade de micro-organismos e que alguns destes, em determinado momento, podem assumir um potencial patogênico. Os micro-organismos normalmente encontrados nas escovas dentais são: *S. mutans*,

*Streptococcus* beta-hemolíticos, *C. albicans*, bactérias coliformes provenientes do ambiente do banheiro e o *Herpes simplex* tipo I. O frequente traumatismo provocado pelas escovações tornam os pacientes susceptíveis a um risco potencial de apresentar uma porta de entrada para os micro-organismos. Com relação à necessidade de desinfecção das escovas dentais, a educação profissional é relevante para orientar e motivar os pacientes a executá-la. Existem quatro opções práticas viáveis de desinfecção: desinfecção química, *sprays* de desinfecção, sanitizadores por luz UV e escovas dentais modificadas, como aquelas recobertas por uma camada de digluconato de clorexidina ou que apresentam cristais zeolíticos de zinco e prata incorporados às cerdas durante a manufatura.

Balappanavar et al. (2009) avaliaram a eficácia de várias soluções desinfetantes na redução da contaminação de escovas dentais e compararam a eficácia do gluconato de clorexidina a 0,2%, Neem a 3%, hipoclorito de sódio a 1% e triclosan a 2% na eliminação de *S. mutans*, partindo de uma hipótese nula. Fizeram um estudo duplo-cego, de cruzamento linear dentro de um grupo, com medições *in vitro*, repetidas e comparadas na pesquisa, cuja duração foi de cinco meses. Das 191 crianças com idade entre 12 e 15 anos de uma escola, 132 preencheram os critérios de inclusão, após a entrevista e o exame clínico. Destes, quarenta escolares (vinte meninos e vinte meninas) foram selecionados por sorteio e instruídos a escovar os dentes duas vezes ao dia e a enxaguar as escovas dentais por duas vezes em água corrente da torneira após a escovação. As escovas dentais foram guardadas separadamente, usando recipientes de vidro disponíveis, de maneira que a cabeça da escova ficasse com o lado das cerdas virado para o lado de fora e havia uma abertura à esquerda para secagem. Depois de cada fase as instruções de higiene bucal foram reforçadas. Para controle de esterilidade, oito escovas dentais novas foram removidas das embalagens para análise microbiológica. Foram analisadas 5 soluções: 1) água destilada (controle); 2) Neem a 3%; 3) triclosan a 2%; 4) digluconato de clorexidina a 0,2% e; 5) hipoclorito de sódio a 1%. Depois das instruções necessárias, os escolares receberam escovas dentais e dentifrícios fluoretados novos. As escovas dentais foram coletadas após cinco dias e introduzidas assepticamente em tubos de ensaio contendo meio de cultura tioglicolato. Somente a cabeça das escovas dentais foi imersa para análise microbiana. Enquanto os dados eram obtidos, novas escovas dentais foram fornecidas para os mesmos pacientes, sendo coletadas após cinco dias e

introduzidas assepticamente em tubos de teste contendo 5mL de água destilada, utilizando o mesmo procedimento. Após 12h de imersão na solução, foram submetidas à análise microbiológica. O mesmo procedimento foi repetido com todas as outras soluções pesquisadas. Todas as soluções foram efetivas na descontaminação das escovas dentais. A eficácia do Neem a 3% foi notável, seguido do triclosan a 2%, digluconato de clorexidina a 0,2% e hipoclorito de sódio a 1%.

Sharma e Chopra (2009) relataram o caso clínico de uma paciente de 19 anos com queixa principal de sangramento gengival e que após o exame clínico, foi submetida a profilaxia bucal e recebeu a prescrição de realizar bochechos com solução de digluconato de clorexidina (Rexidin<sup>®</sup>), na proporção 1:1, por pelo menos 1min., duas vezes ao dia, por um período de três semanas. Após 12h do primeiro uso, a paciente relatou vermelhidão da frente, face e lado do pescoço. No dia seguinte apresentou urticária na sua frente e face, na frente do joelho e antebraço, ao lado e na região superior posterior do pescoço e no baixo ventre. Nenhuma alteração bucal foi observada. A paciente não apresentara nenhuma reação alérgica anterior. O teste alérgico confirmou que as reações foram em consequência do uso da solução de digluconato de clorexidina, cujos efeitos adversos com o seu uso para bochecho são raros, mas, apesar de subestimados, são potenciais causa de choque anafilático.

Oliveira et al. (2009) avaliaram, *in vivo*, a eficácia da descontaminação de escovas dentais com uso do *spray* de óleo essencial da *Eugenia uniflora L.* (Pitanga), por meio de um ensaio clínico cruzado duplo cego, com o objetivo de prevenir em ambiente familiar a proliferação e reinfecção de micro-organismos na cavidade bucal. Foram selecionados 28 estudantes universitários entre 19 e 25 anos de idade, de ambos os gêneros, que não utilizavam antibióticos ou soluções antissépticas. Eles fizeram uso de três *sprays*: o *spray* teste foi confeccionado a base de óleo essencial da pitanga a 2%, o *spray* de digluconato de clorexidina a 2% foi utilizado como controle positivo, para avaliar o grau de eficácia do produto testado e para o controle negativo, usou-se um *spray* contendo água destilada e Tween-80 a 0,1%. A cada semana, foi disponibilizado um conjunto contendo escova dental, creme dental, um meio adequado para acondicionar a escova e um dos três *sprays*, tendo um intervalo de uma semana entre o uso destes. As escovas dentais depois do uso de cada *spray* foram recolhidas, protegidas de contaminação e

encaminhadas ao laboratório em no máximo 4h para avaliação do grau de contaminação bacteriana. A região do cabo das escovas foi descontaminada por fricção de álcool a 77% v/v e as cerdas foram imersas em tubos de ensaio esterilizados, contendo 8mL de soro fisiológico e submetidos a uma agitação por 5min. em velocidade máxima (Mixtron-Leucotron). Logo após, 0,1mL desta suspensão foi retirada e realizada as diluições até  $10^{-3}$  e feita a semeadura em duplicata, no meio de cultura Ágar sacarose bacitracina, específico para o crescimento de *Streptococcus mutans*. As placas foram incubadas em estufa a 37°C por 48h em microaerofilia, pelo método de chama de vela. A contagem das UFC/mL foi feita por meio de observação direta sob luz refletida. Após a análise estatística dos dados, foram observadas diferenças significantes nível de 1% ( $p = 0,01$ ) entre as médias de UFC/mL entre o *spray* teste (Pitanga) e o controle positivo, entre *spray* teste e o controle negativo, bem como para comparação entre o controle positivo e o negativo. Concluíram que o óleo essencial da folha da pitangueira foi considerado eficaz na descontaminação de *S. mutans* presentes nas escovas dentais.

Komiyama et al. (2010) avaliaram a eficácia de diferentes agentes químicos na desinfecção de escovas dentais contaminadas experimentalmente, visando principalmente a aplicação caseira dos métodos propostos. Foram incluídas duzentas escovas dentais de dimensões e cerdas padronizadas (Dentalprev, São Paulo-SP), divididas em vinte grupos experimentais ( $n = 10$ ), considerando-se o micro-organismo e o agente químico utilizado. Foram experimentalmente contaminados os grupos de cinquenta escovas por suspensões padronizadas ( $1 \times 10^6$  células por mL), com o auxílio de espectrofotometria (Micronal 8582, São Paulo, SP) dos micro-organismos: *S. mutans* ATCC 35688, *S. pyogenes* ATCC 700294, *S. aureus* ATCC 6538 ou *C. albicans* ATCC 18804. A escova dental, previamente esterilizada em autoclave, foi imersa em 10mL de caldo de soja tripticaseína, para as amostras bacterianas e caldo Sabouraud, para *C. albicans* no qual foi inoculado 0,2mL da respectiva suspensão microbiana padronizada. Este conjunto foi incubado a 37°C de temperatura e 5%  $CO_2$  por 24h. Os seguintes agentes químicos foram incluídos no estudo: a) digluconato de clorexidina 0,12% (Periogard, Colgate, São Paulo, SP); b) vinagre branco Agrin (Castelo, Jundiaí, SP), diluído em 50% de água deionizada esterilizada; c) dentifrício contendo triclosan (Colgate, São Paulo, SP). A solução do dentifrício foi obtida diluindo-se 5g do mesmo em 20mL de água deionizada esterilizada; d) pastilhas efervescentes a base de perborato de sódio

(Aquafresh, GlaxoSmithKline, Tokyo, Japan) e; e) água deionizada esterilizada. As escovas dentais foram desinfetadas pelo método de imersão no agente químico por 10min., e em seguida foram imersas em tubos de ensaio contendo água destilada esterilizada por 2s. para a retirada do excesso do agente químico. Foram a seguir transferidas para tubos contendo 10mL de solução fisiológica de NaCl a 0,9% esterilizada, acrescido de pérolas de vidro e agitados por 30s. em aparelho agitador de tubos (Phoenix AP56, São Paulo, SP), para a desprendimento das células microbianas. Partindo da suspensão inicial, diluições decimais de  $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$  e  $10^{-3}$  foram obtidas em solução fisiológica esterilizada e alíquotas de 0,1mL foram semeadas em duplicata em ágar Sabouraud dextrose ou ágar soja tripticaseína. As placas foram incubadas a 37°C por 48h a 5% de CO<sub>2</sub> para *S. mutans* e *S. pyogenes*. Foram selecionadas placas que continham de trinta a trezentas colônias e foram realizadas contagens das UFC por escova dental. O grupo perborato de sódio foi o menos efetivo e não diferiu estatisticamente dos valores de UFC/escova dental do grupo controle, seguido pelos grupos dentifrício, vinagre, e digluconato de clorexidina que levaram à redução estatisticamente significativa em relação ao grupo controle. O digluconato de clorexidina foi o agente químico mais efetivo e causou a eliminação total da cepa de *S. mutans* e do número de *Staphylococcus aureus* após 10min. Foi observada uma diferença estatisticamente significativa do digluconato de clorexidina e da solução de dentifrício em relação aos outros grupos. Entre os demais não houve diferença estatisticamente significativa. O grupo perborato de sódio não diferiu do grupo controle e os grupos vinagre e dentifrício apresentaram efetividade intermediária e com diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo controle. Os grupos perborato de sódio e vinagre não reduziram significativamente as contagens de *C. albicans* em relação ao grupo controle. Dentifrício e digluconato de clorexidina apresentaram desempenho semelhante. Concluíram que as soluções de dentifrício e de ácido acético (vinagre) são alternativas viáveis para a desinfecção de escovas dentais e que a utilização da solução de ácido acético parece altamente promissora para aplicação em saúde pública considerando a larga disponibilidade, baixo custo e ausência de toxicidade.

Lee et al (2010) avaliaram in vitro os mecanismos de citotoxicidade da clorexidina em células osteoblásticas humanas U2OS, através da proliferação celular e síntese de colágeno. Para determinar se os níveis de glutathiona (GSH) foram importantes para determinar a citotoxicidade da clorexidina, as células foram

pré-tratadas com ácido 2-oxotiazolidina-4-carboxílico (OTZ) para aumentar os níveis de GSH ou butionina sulfoximina (BSO) e para eliminar a GSH. Os resultados demonstraram o efeito citotóxico da clorexidina sobre as células U2OS de maneira dose dependente, inibindo a proliferação celular e síntese de colágeno. A adição de OTZ age como um protetor dos efeitos da CHX na indução da citotoxicidade. Em contrapartida, a adição de BSO elevou a sua citotoxicidade. GSH parece ser um dos mecanismos fundamentais da toxicidade da clorexidina

Nascimento, Watanabe e Ito (2010) avaliaram a contaminação *in vivo*, de escovas dentais por *Candida spp.* e a eficácia dos *sprays* desinfetantes Periogard (Colgate-Palmolive, São Bernardo do Campo, Brasil) e Neem Sattiva (Floresça, Aparecida de Goiânia, Brasil). Participaram 61 estudantes do curso de Odontologia da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, de ambos os gêneros, que não usaram antibióticos, agentes antifúngicos ou enxaguantes bucais durante um período de 30 dias anteriores ao estudo, que foi dividido em três fases, com intervalos de uma semana. Ao final, todos os participantes usaram as três soluções. Os voluntários receberam escovas dentais novas (Sorriso, Kolynos Original, Colgate-Palmolive, São Bernardo do Campo, Brasil) e realizaram a escovação com pasta dental durante 2min. A escova dental era enxaguada e o *spray* correspondente era borrifado seis vezes nas cerdas a uma distância de 7cm, com as escovas dentais mantidas em posição vertical. O excesso de solução foi removido por agitação. Em seguida as escovas foram guardadas em um suporte para evitar o contato entre as cerdas e colocadas num recipiente em uma sala à temperatura ambiente por 4h, simulando o período entre as escovações. As escovas dentais foram introduzidas em um tubo de ensaio de 25 x 50mm com 10mL de Letheen Broth modificado (Difco, Detroit, MI) com 4% de glicose, evitando o contato das cerdas com as paredes e com o fundo do tubo e incubadas a 35°C por dez dias. O biofilme microbiano das cerdas foi semeado em Ágar Sabouraud dextrose e CHROMagar *Candida* e incubados a 35°C por 48h, para isolamento de leveduras. A identificação das leveduras isoladas foi baseada na produção de tubo germinativo, microscopia, morfologia, zimograma, auxanograma e crescimento a 42°C. Dos 61 participantes iniciais, 59 completaram as três fases do estudo. No grupo controle, as escovas dentais usadas por 22 participantes (37,3%) apresentaram crescimento de *Candida spp.* Trinta e sete escovas dentais (62,7%) tiveram crescimento de microorganismos. A *C. albicans* foi isolada em vinte escovas dentais (33,9%). *C.*

*parapsilosis* foi isolada em apenas duas escovas (3,4%). Ainda no grupo controle, cinco escovas dentais não mostraram crescimento de *Candida spp.*, entretanto, o micro-organismo foi isolado após o uso do *spray* de Neem Sattiva em duas escovas. Em um caso, o micro-organismo também foi isolado após o uso do *spray* de Periogard®. As escovas dentais usadas por 27 participantes (45,8%) apresentaram crescimento de *Candida spp.* nas três fases do estudo. Foram isoladas 62 espécies de *Candida spp.*: 57 *C. albicans* (91,9%), quatro de *C. parapsilosis* (6,5%) e uma de *Candida spp.* (1,6%). Após o uso do *spray* Periogard®, 13 escovas dentais (48,1%) não apresentaram crescimento de *Candida spp.* e as escovas dentais usadas por 14 participantes (51,9%) apresentaram crescimento de micro-organismos. O *spray* Periogard® inibiu o crescimento de 9 isolados *C. albicans* (39,1%) e de todos os isolados de *C. parapsilosis* (100%) e *Candida spp.* (100%). Após o uso de Neem Sattiva, somente duas escovas dentais (7,4%) não apresentaram crescimento de *Candida spp.* As escovas dentais usadas por 25 participantes (92,6%) apresentaram crescimento de micro-organismos. Neem Sattiva inibiu o crescimento de *C. parapsilosis* (50%), mas nenhum isolado de *C. albicans* foi inibido. A análise estatística entre os três fluidos mostrou diferença significativa na inibição do crescimento de *Candida spp.* Periogard® foi estatisticamente mais eficaz na eliminação de *Candida spp.* que a água destilada e o Neem Sattiva. A contaminação por *Candida spp.* foi observada em várias escovas dentais do grupo controle, após uma única escovação. Não houve diferença significativa entre Neem Sattiva e água.

Saravia (2010) avaliou a eficácia do meio de cultura SB-20 modificado (SB-20M) na diferenciação morfológica de colônias de *S. mutans* e de *S. sobrinus*, comparativamente à análise bioquímica das colônias isoladas na saliva de crianças. Comparou os meios de cultura SB-20, SB-20M e MSB na quantificação de unidades formadoras de colônias e na diferenciação morfológica e bioquímica de *S. mutans* e de *S. sobrinus* na saliva de crianças e o emprego do meio de cultura SB-20M sem Ágar, denominado caldo de sacarose-bacitracina modificado (CaSaB-20M), para avaliar a viabilidade de cepas padrão de *S. mutans* (ATCC25175), *in vitro*, e a viabilidade de *Streptococcus* do grupo *mutans*, *in vivo*, nas cerdas de escovas dentais, após diferentes períodos de secagem. A eficácia do meio de cultura SB-20M foi avaliada tomando-se amostras de saliva não estimulada de 145 crianças de seis a 12 anos, por meio da técnica da espátula de madeira. Após semeadura e incubação em microaerofilia a 37°C por 72h, foi efetuada a contagem das UFC em

microscópio estereoscópico e realizada a identificação morfológica e bioquímica das colônias de *S. mutans* e de *S. sobrinus*. Os resultados obtidos após as identificações morfológicas e bioquímicas foram comparados empregando o teste  $\chi^2$ . A comparação dos meios de cultura SB<sub>-20</sub>, SB<sub>-20M</sub> e MSB foi efetuada em amostras de saliva não estimulada, colhidas de vinte crianças na faixa etária de quatro a 12 anos, em tubos de ensaio. Amostras de saliva pura e diluída até  $10^{-4}$  foram semeadas em placas contendo os referidos meios de cultura, por um micrométodo, e incubadas em microaerofilia pela técnica de chama de vela, a 37°C por 24h. A seguir, foram efetuadas a contagem das UFC e a identificação morfológica e bioquímica das colônias de *S. mutans* e de *S. sobrinus*. Os resultados obtidos foram submetidos à análise estatística, utilizando o teste de *Wilcoxon* e o teste exato de *Fisher*. No estudo, *in vitro*, 45 escovas dentais infantis, divididas em nove grupos (n = 5), foram contaminadas com uma suspensão contendo *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), na concentração de 1.720.000UFC/mL, durante 4min. Logo após a lavagem, as escovas dentais no primeiro experimento foram colocadas dentro de um tubo de ensaio contendo meio de cultura CaSaB<sub>-20M</sub>, com as cerdas totalmente imersas. Os tubos foram fechados com algodão e incubados por três a quatro dias, a 37°C. As escovas dentais dos grupos 2 a 9 foram mantidas à temperatura ambiente por 4h, 8h, 12h, 24h, 36h, 48h, 60h e 72h, respectivamente, previamente a realização do mesmo processamento microbiológico. A seguir, foi efetuada a contagem de UFC de *S. mutans* nas cerdas, através de um microscópio estereoscópico sob luz refletida. Os resultados obtidos foram analisados por meio do teste de *Kruskal-Wallis*. Participaram do estudo *in vivo*, no terceiro experimento, vinte crianças de quatro a oito anos, com alto risco à cárie dental. Cada criança recebeu 13 escovações, com intervalo de três dias entre cada escovação, empregando sempre uma escova dental nova, sem dentífrico. As 260 escovas dentais obtidas foram divididas em 13 grupos (n = 20). As escovas dentais do experimento 1, controle, foram submetidas ao processamento microbiológico idêntico ao descrito para os estudos, *in vitro*, logo após a lavagem. As escovas dentais dos grupos 2 a 13 foram mantidas à temperatura ambiente por 4h, 8h, 12h, 16h, 20h, 24h, 28h, 32h, 36h, 40h, 44h e 48h, respectivamente, previamente à semeadura e incubação em meio CasaB<sub>-20M</sub>. Após a incubação de 72h a 37°C, foi efetuada a contagem de UFC de *S. mutans* e a quantificação dos polissacarídeos extracelulares presentes nas cerdas. Os dados obtidos foram avaliados por meio do teste de *Wilcoxon*. O nível de significância em

todas as análises estatísticas foi de 5%. Concluíram que o método de identificação morfológica, empregando o meio de cultura SB<sub>20</sub>M, foi confiável para a identificação de *S. mutans* e de *S. sobrinus*. Os meios SB<sub>20</sub> e SB<sub>20</sub>M foram semelhantes na quantificação de estreptococos do grupo *mutans* e na identificação morfológica e bioquímica de *S. mutans* e de *S. sobrinus*, evidenciando que a substituição da sacarose pelo açúcar cristal não alterou a eficácia do meio. Quando comparado ao meio MSB, o SB<sub>20</sub>M apresentou resultados estatisticamente superiores, com relação à quantificação de UFC e com relação à identificação morfológica e bioquímica de *S. mutans* e de *S. sobrinus*. O caldo sacarose-bacitracina modificado (CaSaB<sub>20</sub>M) permitiu avaliar a viabilidade de estreptococos do grupo *mutans* nas cerdas de escovas dentais, após diferentes períodos de secagem. De acordo com o estudo, *in vitro*, com a cepa padrão de *S. mutans* (ATCC 25175), observaram viabilidade de micro-organismos nas escovas dentais por até 8h. Por outro lado, no estudo, *in vivo*, os *Streptococcus* do grupo *mutans* permaneceram viáveis por períodos superiores, até 44h.

### 3 PROPOSIÇÃO

Verificar o nível de contaminação de escovas dentais de estudantes do curso de graduação em Odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora, com relação à higienização e ao armazenamento e avaliar a eficácia da solução aquosa do digluconato de clorexidina a 0,12%, em *spray*, no processo de descontaminação.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Materiais

MATERIAL	FABRICANTE
Envelopes autolaváveis estéreis	Cristófoli Biossegurança, Campo Mourão, Paraná, Brasil.
Capela de Fluxo Laminar	Veco, Campinas, São Paulo, Brasil
Tubos de ensaio de vidro	Contenco Indústria e Comércio Ltda, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brasil
Cloreto de sódio a 0,9%	Laboratório de Microbiologia UFJF/MG, Brasil.
Solução aquosa de digluconato de clorexidina a 0,12%	Alchimiz Farmácia de Manipulação, Cataguases/MG, Brasil.
Creme dental Superdent	Vernes, Tecnodent Ind. Com. Ltda., São Paulo/SP, Brasil.
Escova dental macia	Ezact Kromm, Vigodent SA Indústria e Comércio, Rio de Janeiro/RJ, Brasil.
Placas CHROMagar Orientation	Probac Brasil Prod. Bacteriológicos Ltda., São Paulo/SP, Brasil.
Alças calibradas de 1µL estéreis	Distribuidora Paranhos Artigos para Laboratórios Ltda., Belo Horizonte/MG, Brasil.
Agitador Vortex	Coleman Equipamentos para Laboratórios Comércio e Importação Ltda., São Paulo/SP, Brasil.
Estufa B.O.D.	Eletrolab, São Paulo/SP, Brasil.

Quadro 1 – Demonstrativo do material utilizado na pesquisa.

### 4.2 Métodos

Atendendo à determinação da Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, este estudo foi submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Juiz de Fora (CEP/UFJF) e aprovado sob o parecer n°. 221/2010 (Apêndice A), e após conscientizados dos objetivos da pesquisa, todos os envolvidos assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice B).

Inicialmente 78 alunos foram selecionados para participar desta pesquisa, todos matriculados no curso de graduação em Odontologia da UFJF, sendo 26 do 2º período (n = 26), 26 do 5º período (n = 26) e 26 do 9º período (n = 26). Como 08 alunos do 5º período não devolveram suas escovas dentais no prazo pré-estabelecido, foram excluídos. Em função desta exclusão e com o objetivo de obter quantidades iguais de participantes por período, foram recolhidas apenas 18 escovas dentais dos demais períodos para a análise microbiológica, ficando assim distribuídos: 2º período (n = 18), 5º período (n = 18) e 9º período (n = 18). A pesquisa foi realizada na cidade de Juiz de Fora – Minas Gerais, Brasil, na Faculdade de Odontologia e no Laboratório de Fisiologia e Genética Molecular Bacteriana do Departamento de Parasitologia, Microbiologia e Imunologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Juiz de Fora e foi dividida em duas etapas.

Na etapa 1, embora não houvesse diferença entre os procedimentos realizados, os participantes foram distribuídos em dois grupos: G1 (n = 9 de cada período) e G2 (n = 9 de cada período), totalizando 27 acadêmicos em cada grupo, com o objetivo de facilitar a comparação com os resultados da segunda etapa.

Nesta etapa, cada acadêmico respondeu a um questionário criado especificamente para esta pesquisa (Apêndice C), com dados sobre seus hábitos de higiene e em seguida recebeu um conjunto para higienização bucal, composto de escova dental de cerdas macias (MedFio Industria e Comércio de Artigos Odontológicos Ltda., Curitiba, PR, Brasil), creme dental fluoretado, sem agente antimicrobiano (Superdent, GPI Costa Industrial Ltda., Penápolis, São Paulo, Brasil) e um envelope estéril para acondicionamento e devolução da escova dental ao pesquisador (Fotografia 1).

Os acadêmicos não receberam orientação para utilização, higienização e armazenamento da escova dental e após 15 dias, devolveram o envelope lacrado e identificado, com a escova dental em seu interior, para a análise microbiológica.

No momento da entrega dos envelopes, foi aplicado o questionário II (Apêndice D), para obtenção de informações a respeito dos hábitos de higiene bucal dos acadêmicos durante esta etapa.



Fotografia 1 – Conjunto para higienização bucal distribuído aos alunos etapa 1.

Na etapa 2, os participantes continuaram divididos nos mesmos dois grupos, sendo que o G1 passou a receber a denominação de “experimental” e o G2 de “controle”. Cada participante do grupo experimental recebeu um conjunto para higienização bucal, composto de escova dental de cerdas macias e creme dental, idênticos aos da primeira etapa, frasco borrifador com solução básica aquosa de digluconato de clorexidina a 0,12% e um envelope estéril para acondicionamento e devolução da escova dental ao pesquisador (Fotografia 2).



Fotografia 2 – Conjunto para higiene bucal distribuído aos alunos do G1 etapa 2.

No grupo controle, cada participante recebeu um conjunto semelhante ao do experimental, diferindo o conteúdo do frasco borrifador, que possuía uma solução básica composta de água destilada, edulcorante estévia, sabor menta, sem o antisséptico (Fotografia 3).



Fotografia 3 – Conjunto distribuído aos alunos do G2 na etapa 2.

Os participantes dos dois grupos receberam um protocolo de orientação para utilização, higienização e armazenamento da escova dental, para ser seguido durante esta etapa: 1) lavar as mãos com água e sabão antes de escovar os dentes; 2) lavar a escova dental em água corrente após a escovação; 3) bater a escova dental na borda da pia para tirar o excesso de água; 4) não usar toalhas de pano para secagem; 5) borrifar a solução fornecida no frasco, a uma distância aproximada de 2cm, duas vezes em cada face da cabeça da escova dental; 6) bater a escova dental novamente na borda da pia para remover o excesso da solução e guardar da maneira habitual e; 7) não usar capa protetora para cerdas.

Após 15 dias, os participantes devolveram o envelope lacrado e identificado com a escova dental em seu interior para a análise microbiológica. No momento da entrega dos envelopes foi aplicado o questionário III (Apêndice E), para verificar se as recomendações foram seguidas durante esta etapa da pesquisa.

A análise microbiológica das escovas dentais foi realizada dentro de uma câmara de fluxo laminar, previamente descontaminada por radiação ultravioleta (UV) por 15min. e em perfeitas condições de assepsia.

Os cabos das escovas dentais foram submetidos à desinfecção por fricção, com uma gaze esterilizada embebida em álcool 70v/v e posteriormente as escovas dentais foram inseridas em tubos de ensaio estéreis identificados, contendo 7mL de solução fisiológica a 0,9%, esterilizada, o suficiente para cobrir as cerdas (Fotografia 4).

Os tubos de ensaio foram vedados com papel laminado estéril e agitados para desprendimento das bactérias no aparelho agitador Vortex<sup>®</sup>, por 20s, na velocidade máxima (Fotografia 5).



Fotografia 4 – Processamento das amostras no interior da capela de fluxo laminar.

Fotografia 5 – Agitador Vortex<sup>®</sup>.

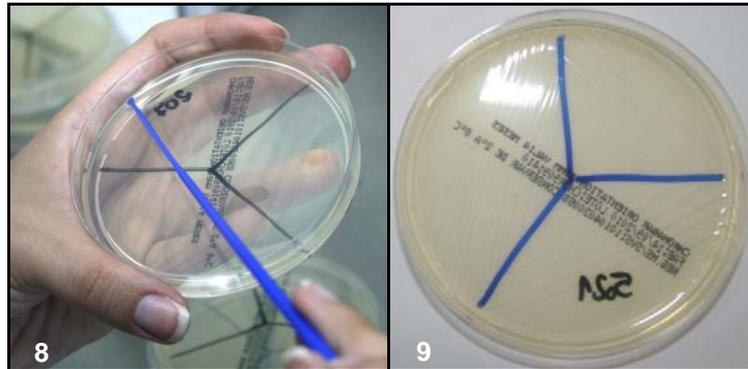
Com o auxílio de uma alça calibrada, foi coletado 1 $\mu$ L desta solução e semeada por esgotamento (AFESSA et al., 2006; BASELSKI et al., 1992; TORTORA; FUNKE; CASE, 2005) no meio CHROMagar Orientation<sup>®</sup> (Fotografias 6 e 7) para a identificação presuntiva de bactérias, em procedimento já descrito na literatura (CHANG et al., 2008; HOUANG et al., 1999; MERLINO et al., 1996; SAMRA et al., 1998; SCARPARO et al., 2002).



Fotografia 6 – Momento da coleta com alça calibrada de 1 $\mu$ L.

Fotografia 7 – Embalagem do CHROMagar Orientation<sup>®</sup>.

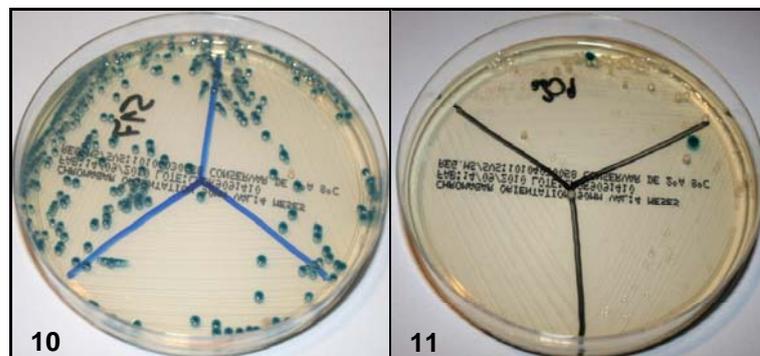
As placas foram divididas em três setores e a mesma alça foi esgotada sempre inicialmente no setor 1, depois no 2 e posteriormente no 3 (Fotografias 8 e 9). Para cada amostra, foi utilizada uma alça calibrada nova e estéril. As placas foram incubadas em aerobiose em estufa bacteriológica a 35,5°C, por 24h. (BAMBACE et al., 2003; ESTRELA et al., 2003; TORTORA; FUNKE; CASE, 2005). Após o período de incubação foi realizada a contagem das UFC no terceiro setor de cada placa, em ambiente laboratorial. O número de UFC determinado neste setor foi multiplicado por mil para se estimar quantitativamente o número em UFC/mL de micro-organismos no lavado das escovas dentais. E os dados foram plotados em escala logarítmica ( $\log_{10}$ ) em uma tabela (COUSIDO et al, 2008; TOMAS et al, 2008).



Fotografia 8 – Processamento de sementeira por esgotamento realizada no interior da capela de fluxo laminar.

Fotografia 9 –Placa de Petri após o processamento de sementeira por esgotamento.

As instruções do fabricante do CHROMagar Orientation<sup>®</sup> determinam que a pré-identificação das colônias seja feita com base na sua coloração (Fotografias 10 e 11).

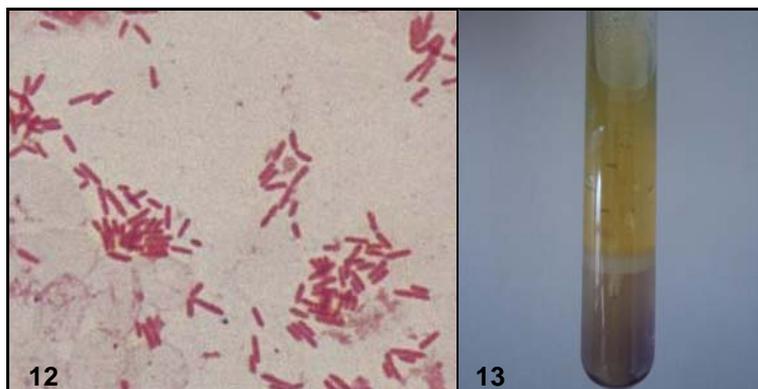


Fotografia 10 – Placa de Petri demonstrando crescimento predominante de Enterobactérias do grupo KES.

Fotografia 11 – Placa de Petri demonstrando crescimento predominante de *Pseudomonas*.

Desta forma, as colônias de cor vermelha identificam presuntivamente a *E. coli*; na cor turquesa, *Streptococcus spp.*; na cor azul acinzentado, *Klebsiella spp.*; na cor creme, translúcida, *Pseudomonas spp.*; na cor dourada opaca, *Staphylococcus aureus*; na cor rosa opaca, *Staphylococcus saprophyticus* e as colônias que apresentam halo na cor marrom, *Proteus spp.*

Como o meio de cultura CHROMagar Orientation<sup>®</sup> fornece um resultado presuntivo, adicionalmente foi utilizada a coloração pelo método de Gram em lâminas obtidas a partir do esfregado de colônias crescidas no meio de cultura CHROMagar Orientation<sup>®</sup> (Fotografia 12). Também foi realizada a triagem das colônias por intermédio do meio de cultura Rugai (Fotografia 13).



Fotografia 12 – Microscopia de *Pseudomonas* – coloração de Gram.  
Fotografia 13 – Provas bioquímicas confirmando crescimento de bastonetes Gram negativos – *E. coli*.

A coloração de Gram identificou as colônias de cor vermelha como bastonetes Gram negativos, presuntivamente *E. coli*; as de cor turquesa, como cocos Gram positivos, presuntivamente *Streptococcus spp.*; na cor azul acinzentado, presuntivamente bastonetes Gram negativos do grupo KES; e na cor creme translúcida, como bastonetes Gram negativos, presuntivamente *Pseudomonas spp.*

As amostras das colônias que cresceram também foram submetidas às provas bioquímicas de Rugai, confirmando a identificação presuntiva das bactérias. Este método identifica presuntivamente as principais espécies de enterobactérias e fornece oito provas bioquímicas: indol, L-triptofano, sacarose, glicose, glicose com produção de gás, uréia, produção de sulfeto de hidrogênio (H<sub>2</sub>S) e lisina, além da prova de motilidade.

Condições assépticas foram mantidas em todas as fases do estudo. Todo material contaminado foi armazenado em sacos plásticos e autoclavados por 20min. antes do descarte.

Os dados obtidos foram submetidos a análise estatística.

### **4.3 Metodologia Estatística**

Foram utilizadas médias e desvio-padrão para a análise descritiva das variáveis métricas e pontos percentuais para as variáveis categóricas. O coeficiente de correlação de *Pearson* foi aplicado para correlacionar as variáveis métricas e o teste U de *Mann-Whitney* foi utilizado para comparar variáveis dicotômicas com variáveis métricas. O teste de *Kruskal-Wallis* foi usado quando as variáveis assumiam mais de duas categorias. O nível de significância considerado em todos os testes foi  $p < 0,05$ .

## 5 RESULTADOS

Os resultados foram obtidos a partir das informações oriundas dos três questionários e da contagem das UFC no meio de cultura CHROMagar Orientation® de 54 acadêmicos que concluíram todas as etapas desta pesquisa.

O primeiro dos três questionários foi aplicado aos 78 acadêmicos que iniciaram o estudo, mas só foram considerados os 54 que concluíram o estudo. Cada participante recebeu um conjunto para higiene bucal (escova e creme dental), juntamente com um envelope estéril para a devolução das escovas dentais. No 5º período, houve desistência de oito acadêmicos e por este motivo, foram recolhidas apenas 18 escovas dentais dos demais períodos para a análise microbiológica, resultando em uma amostra de 54 acadêmicos, com idade entre 18 e 27 anos. Destes, 38 (70,4%) pertenciam ao sexo feminino.

No que diz respeito ao primeiro quesito do questionário I (Apêndice C), dois (3,7%) participantes responderam estar em tratamento médico, sendo um por hipertensão e outro por hipotireidismo.

Quando questionados se faziam uso de medicação, cinco (9,3%) responderam positivamente, sendo que três faziam uso de anticoncepcionais, um de hormônio para a tireóide e um de hipotensor arterial.

Com relação ao estado de saúde, 53 (98,1%) o consideravam bom e apenas um (1,9%) dos participantes respondeu que era razoável.

A respeito da frequência com que faziam a higienização de suas escovas dentais, oito (4,8%) responderam que a faziam uma vez por semana, um (1,9%) duas vezes por semana, um (1,9%) três vezes na semana, 29 (53,7%) diariamente e sete (13%) de outro modo (Tabela 1).

Tabela 1 – Frequência que higieniza a escova dental.

	Número de estudantes	%
1 vez semana	8	4,80
2 vezes semana	1	1,90
3 vezes semana	1	1,90
Diariamente	29	53,70
Outro modo	7	13,00
Total	54	100,00

Para a realização da limpeza de suas escovas dentais, 32 (59,3%) dos participantes relataram que a faziam com água corrente, sete (13%) com água corrente seguida de secagem com toalhas, cinco (9,3%) com água corrente e retiravam o excesso de água por agitação, um (1,9%) com água fervente e oito (14,8%) não faziam higienização. Apenas um (1,9%) dos acadêmicos respondeu que utilizava produto químico (água oxigenada) para limpeza das cerdas (Tabela 2).

Tabela 2 – Modo como o estudante higieniza sua escova dental.

Modo de limpeza	Número de estudantes	%
Água fervente	1	1,90
Imersão em antisséptico	1	1,90
Lava com água corrente	32	59,30
Lava e seca por agitação	05	9,30
Lava e seca com pano	7	13,00
Não limpa	8	14,80
Total	54	100,00

Quanto ao modo que armazenavam suas escovas dentais, 29 (53,7%) as deixavam em portaescovas sobre a pia, 15 (27,8%) dentro do armário do banheiro, dois (3,7%) dentro de bolsas e oito (14,8%) fora do banheiro (Tabela 3).

Tabela 3 – Local de armazenamento da escova dental.

Local	Número de estudantes	%
Armário do banheiro	15	27,80
Fora do banheiro	8	14,80
Bolsa	02	3,70
Portaescova (pia)	29	53,70
Total	54	100,00

Quarenta e cinco acadêmicos (83,3%) responderam que suas escovas dentais eram mantidas no mesmo ambiente do vaso sanitário.

Ao final da etapa 1, foi aplicado o segundo questionário (Apêndice D), com objetivo de verificar os hábitos dos participantes nesta etapa da pesquisa.

No que diz respeito ao modo que limpavam as suas escovas dentais, 14 (25,9%) as lavavam com água corrente, 23 (42,6%) as lavaram com água corrente e

removeram o excesso de líquido das cerdas, 11 (20,4%) as lavavam com água corrente, removeram o excesso de líquido das cerdas e depois as secavam, quatro (7,4%) as lavavam com água corrente e as secavam e apenas dois (3,7%) não realizaram nenhum tipo de cuidado de limpeza (Tabela 4).

Tabela 4 – Modo de limpeza da escova dental.

Modo de limpeza	N°. de estudantes	%
Água corrente	14	25,90
Água corrente e removeram o excesso de líquido	23	42,60
Água corrente, removeram o excesso de líquido e depois secaram	11	20,40
Água corrente e apenas secaram	4	7,4
Nenhum tipo de cuidado de limpeza	2	3,7
Total	54	100,00

Comparando com o que responderam no questionário inicial, verificou-se que 75% dos participantes que não realizavam limpeza de suas escovas dentais, passaram a realizá-la.

Nesta etapa nenhum participante utilizou produtos químicos para higienizar as cerdas de suas escovas dentais e apenas 14 (25,9%) dos alunos fizeram uso de algum colutório após a escovação dos dentes.

Questionados se tinham o hábito de tampar o vaso sanitário quando utilizam a descarga, 24 (44,4%) responderam que não (Tabela 5).

Tabela 5 – Fecha a tampa do vaso (etapa 1).

	Número de estudantes	%
Sim	30	55,6
Não	24	44,4
Total	54	100,00

Quanto ao uso de protetor para a cabeça das escovas dentais 44 (81,5%) responderam que não usavam esse dispositivo (Gráfico 1).

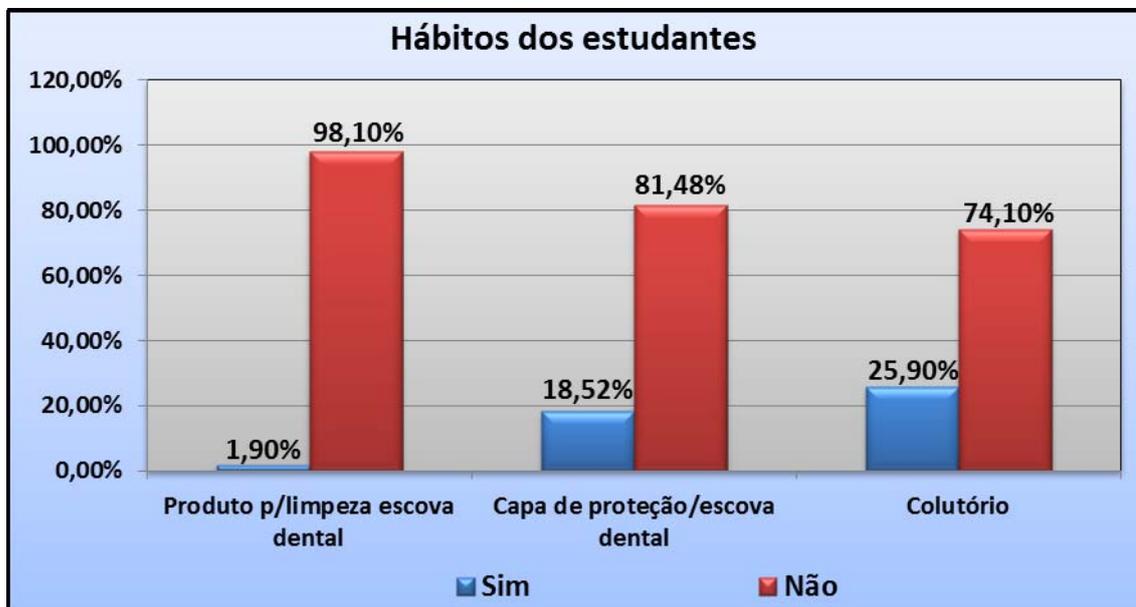


Gráfico 1 – Hábitos dos estudantes com relação às escovas dentais (etapa 1).

Quando questionados sobre a existência de contato com outras escovas dentais, 48,1% (n = 26) admitiram haver contato das cerdas de suas escovas com as cerdas de outras escovas dentais (Tabela 6).

Tabela 6 – Contato outras escovas (etapa1).

	Número de estudantes	%
Sim	26	48,1
Não	28	51,9
Total	54	100,00

Quando comparada a existência deste contato por períodos, pode se observar que doze alunos do 2º período, oito alunos do 5º período e seis alunos do 9º período o permitiram.

Houve uma relação estatisticamente significativa entre este contato e um maior índice de contaminação das cerdas das escovas dentais.

Ao final da etapa 2, foi aplicado o questionário III, para verificar se os participantes seguiram as orientações fornecidas para esta etapa.

No quesito se usou alguma medicação durante este período da pesquisa, além daqueles que já haviam informado nos questionários anteriores, apenas um (1,9%) participante relatou ter feito uso de antibiótico.

Quando questionados se haviam seguido as instruções fornecidas para limpeza e armazenamento das suas escovas dentais, 53 (98,1%) responderam que sim e apenas um (1,9%) participante relatou não ter seguido as referidas instruções.

Apesar disso, seis (11,1%) participantes responderam que usaram protetor de cabeça nas escovas dentais, contrariando as orientações fornecidas.

Em relação ao local de armazenamento das escovas dentais, 24 (44,4%) responderam que a armazenaram sobre a pia do banheiro, 24 (44,4%) dentro do armário do banheiro e seis (11,1 %) no quarto.

Nesta etapa, 25 (46,3%) dos participantes afirmaram que sua escova dental entrou em contato com outras, sendo dez (18,6%) do 2º período, dez (18,6%) do 5º período e cinco (9,3%) do 9º período. Notou-se uma diminuição desses percentuais no 2º e no 9º períodos, e um acréscimo dentre os acadêmicos do 5º período (Tabela 7).

Tabela 7 – Contato entre escovas (etapa 2).

	Número de estudantes	%
Sim	25	46,3
Não	29	53,7
Total	54	100,00

No Gráfico 2, observa-se a comparação do contato das escovas dentais entre as duas etapas da pesquisa, mostrando que ocorreu redução, exceto no 5º período.

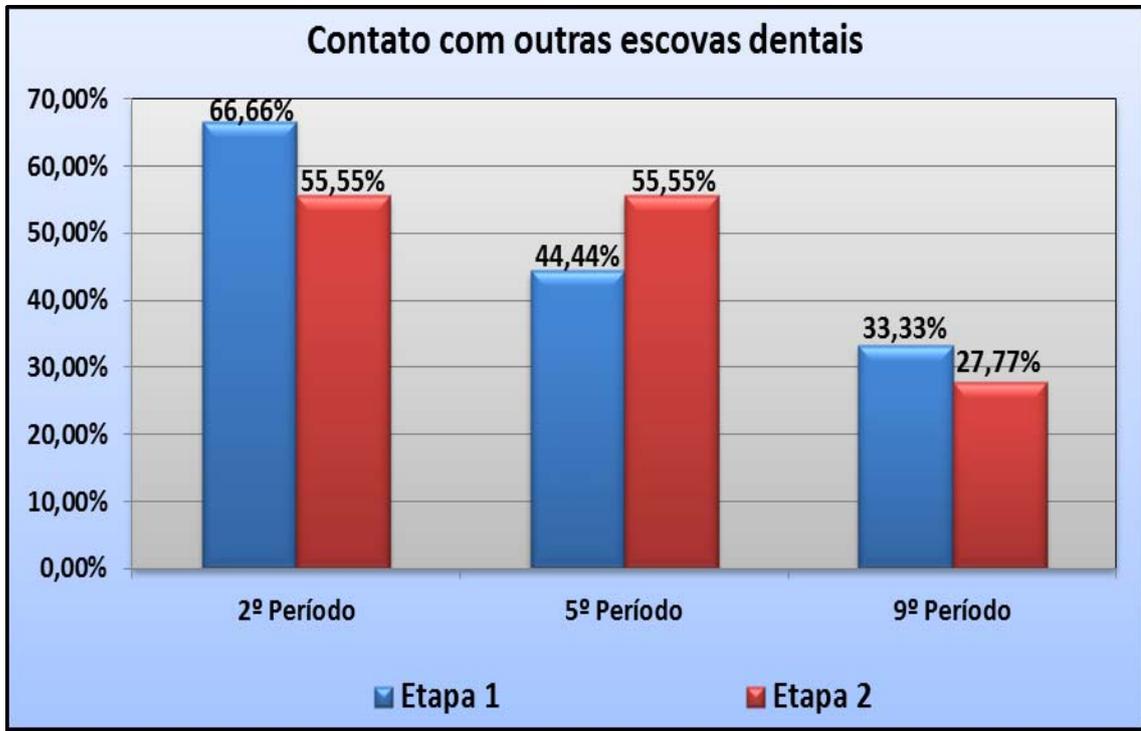


Gráfico 2 – Hábitos dos estudantes – contato com outras escovas dentais, por períodos.

Para a questão se possuíam o hábito de fechar a tampa do vaso sanitário quando da utilização da descarga, 38 (70,4%) responderam que sim e 16 (29,6%) responderam que não.

Demonstra desta forma que houve uma mudança de hábitos da etapa 2 em relação a etapa 1 da ordem de 33,33%.

O Gráfico 3 expressa o anteriormente exposto.

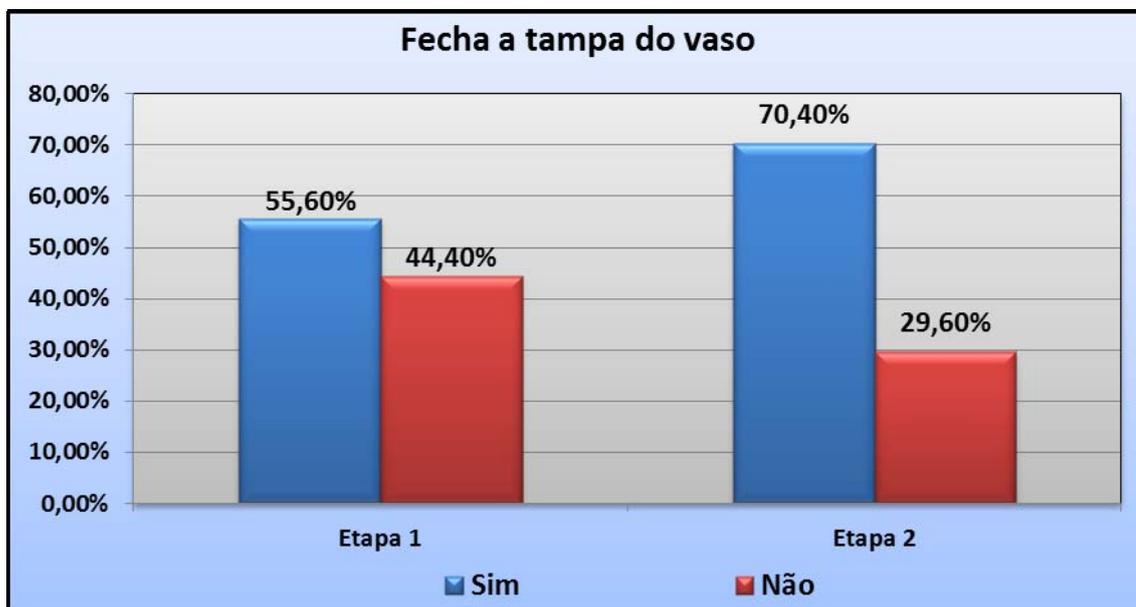


Gráfico 3 – Hábitos dos estudantes – fecha a tampa do vaso sanitário.

Para a obtenção dos resultados microbiológicos, foram contadas visualmente as UFC identificadas pela cor segundo o manual fornecido pelo fabricante do meio de cultura CHROMagar Orientation.

O resultado das contagens das 54 placas foi submetido aos testes estatísticos U de *Mann-Whitney* e de *Kruskal-Wallis*, ambos não paramétricos e estes resultados foram relacionados aos questionários.

A contagem das UFC foi expressa em tabelas na base logarítmica decimal ( $\log_{10}$ UFC/mL), para facilitar a compreensão da leitura dos resultados. Vale esclarecer que  $\log_{10}$  de  $10^3$  é igual a três, portanto qualquer número de contaminação inferior a três é considerado aceitável, sem risco de infecção ao usuário da escova dental.

Após 15 dias do início da pesquisa, as escovas dentais foram recolhidas dentro dos envelopes.

Em seguida foi realizado o processamento microbiológico do lavado das escovas dentais de ambos os grupos, cujos resultados estão expressos em  $\log_{10}$ UFC/mL e descritos nos Quadros 2 e 3,.

Os resultados do G1 estão apresentados no Quadro 2.

N	<i>E. coli</i>	KES	<i>Pseudomonas spp.</i>	<i>Streptococcus spp.</i>
207	0	2,95	2,95	0
208	0	2,95	2,95	0
209	0	0	2,95	0
212	0	2,95	3	0
214	0	2,95	0	0
216	0	3,77	0	0
217	0	0	2,95	0
220	0	0	0	0
221	0	3,77	0	0
501	0	0	0	0
503	0	2,95	0	0
506	0	0	0	0
507	0	2,95	2,95	0
508	0	4,2	0	0
515	0	0	0	0
517	0	4,57	3,47	0
522	0	0	0	0
523	0	0	2,95	0
903	0	0	0	0
906	0	0	0	0
908	0	0	0	0
913	0	0	2,95	0
915	2,95	2,95	3,3	0
918	0	0	0	0
922	0	0	0	0
924	0	0	0	0
926	0	0	0	0
Média	0,10	1,36	1,12	0,00

Quadro 2 – Resultados em log<sub>10</sub>UFC/mL do G1 (etapa 1).

Os resultados do G2 estão apresentados em  $\log_{10}$ UFC/mL no Quadro 3.

N	<i>E. coli</i>	KES	<i>Pseudomonas spp.</i>	<i>Streptococcus spp.</i>
201	0	2,95	3	0
203	0	2,95	3,95	0
204	0	0	0	0
205	0	4,63	4,07	0
206	0	0	0	0
211	0	0	0	0
213	0	0	4,23	0
215	0	0	0	0
218	0	2,95	0	0
504	0	2,95	2,95	0
505	0	0	0	0
509	0	0	0	0
513	0	2,95	2,95	0
514	0	2,95	0	0
516	0	0	0	0
519	0	4,84	4,5	0
521	0	0	0	0
524	0	0	0	0
904	0	0	0	0
905	2,95	2,95	3,3	2,95
909	2,95	2,95	0	3,69
911	0	0	0	0
917	0	0	0	0
919	0	0	0	0
921	0	0	0	0
923	0	2,95	0	0
925	0	0	0	0
Média	0,21	1,33	1,07	0,24

Quadro 3 – Resultados em  $\log_{10}$ UFC/mL do G2 (etapa 1).

Na etapa 1 as colônias do grupo KES (*Klebsiella*, *Enterobacter* e *Serratia*) foram prevalentes com média de 1,33  $\log_{10}$ UFC/mL, seguida das colônias de *Pseudomonas* com 1,07  $\log_{10}$ UFC/mL.

Pelo teste U de *Mann-Whitney*, foi observado que nas escovas dentais dos alunos do 2º período ocorreu uma maior contaminação de bactérias do grupo KES, com nível de significância ( $p = 0,04$ ), quando comparados aos alunos do 9º período. Não foi observada significância quando comparado com o 5º período.

Embora na totalidade o número de escovas dentais contaminadas nos dois grupos (G1 e G2) tenha sido de 27 (50%), apenas 13 (24%) escovas dentais apresentaram índice de contaminação não aceitável, acima de  $10^3$ UFC/mL, sendo sete (38,8%) do 2º período, três (16,6%) do 5º período e três (16,6%) do 9º período, conforme mostrado na Tabela 8.

Tabela 8 – Contaminação bacteriana (etapa 1).

Período	Nº	Escovas contaminadas	%	Acima $10^3$ UFC/mL	%	Bactérias presentes		
2º P	18	13	72,2	7	38,8	KES	<i>Pseudomonas</i>	
5º P	18	9	50,0	3	16,6	KES	<i>Pseudomonas</i>	
9º P	18	5	27,7	3	16,6	KES	<i>Pseudomonas</i>	<i>E. coli</i> <i>Streptococcus</i>
Total	54	27	50,0	13	24,0			

Analisando esses dados por grupos, 15 escovas dentais apresentaram contaminação no G1, sendo que destas, seis acima de  $10^3$ UFC/mL.

No G2, o número total de escovas dentais contaminadas foi de 12, sendo sete acima de  $10^3$ UFC/mL.

Para a etapa 2 foram distribuídos novos conjuntos de higienização.

Os participantes do G1, que passou a ser chamado de grupo experimental, receberam um novo conjunto de higienização semelhante ao da etapa 1, acrescido de um frasco contendo digluconato de clorexidina a 0,12% para ser borrifado nas cerdas das escovas dentais.

Para cada participante do G2, que passou a ser chamado de grupo controle, foram distribuídos junto como os conjuntos, frascos contendo uma solução básica, sem agente antimicrobiano.

Passados mais 15 dias, as escovas dentais foram recolhidas dentro dos envelopes e foram realizados os testes microbiológicos desta etapa.

Os resultados do grupo experimental estão expressos no Quadro 4.

N	<i>E. coli</i>	KES	<i>Pseudomonas spp.</i>	<i>Streptococcus spp.</i>
207	0	0	0	0
208	0	0	0	0
209	0	0	0	0
212	0	2,95	0	0
214	0	0	0	0
216	0	0	0	0
217	0	0	0	0
220	0	0	0	0
221	0	0	0	0
501	0	0	0	0
503	0	0	0	0
506	0	0	0	0
507	0	0	2,95	0
508	0	2,95	2,95	0
515	0	0	0	0
517	0	0	0	0
522	0	0	0	0
523	0	0	0	0
903	0	0	0	0
906	0	0	0	0
908	0	0	0	0
913	0	0	0	0
915	0	0	0	0
918	0	0	0	0
922	0	0	0	0
924	0	0	0	0
926	0	0	0	0
Média	0,00	0,21	0,21	0,00

Quadro 4 – Resultados grupo experimental (etapa 2).

Os resultados do grupo controle estão expressos no Quadro 5.

N	E. coli	KES Fase	<i>Pseudomonas spp.</i>	<i>Streptococcus spp.</i>
201	0	4,39	4,30	0
203	2,95	4,49	2,95	0
204	0	0	0	0
205	0	4,30	0	0
206	0	0	0	0
211	0	0	0	0
213	0	0	2,95	0
215	0	0	0	0
218	0	0	0	0
504	0	0	0	0
505	0	2,95	0	0
509	0	2,95	2,95	0
513	0	2,95	2,95	0
514	0	0	0	0
516	0	0	0	0
519	0	0	3	0
521	0	0	0	0
524	0	0	0	0
904	0	0	0	0
905	0	0	0	0
909	0	0	0	0
911	0	0	0	0
917	0	0	0	0
919	0	0	0	0
921	0	0	0	0
923	0	0	0	0
925	0	0	0	0
Média	0,10	0,81	0,70	0,00

Quadro 5 – Resultados grupo controle (etapa 2).

Na etapa 2, as colônias do grupo KES (*Klebsiella*, *Enterobacter* e *Serratia*) também foram prevalentes, com média de 0,81 log<sub>10</sub>UFC/mL, seguida das colônias de *Pseudomonas* com 0,70 log<sub>10</sub>UFC/mL. Não foi observado crescimento de colônias de *Streptococcus spp* na etapa 2.

No Gráfico 4 pode-se observar a prevalência das populações microbianas de todos os grupos e a média das duas etapas.

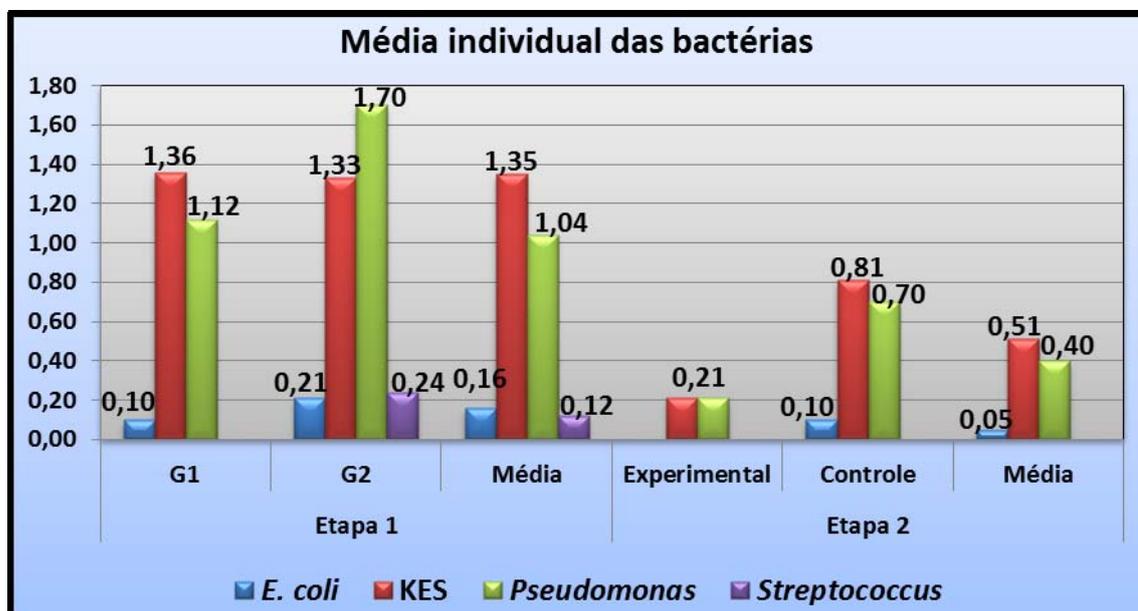


Gráfico 5 – Média individual das bactérias (em log<sub>10</sub>UFC/mL).

Computando todos os participantes e comparando as duas etapas, ocorreu uma redução estatisticamente significativa ( $p = 0,001$ ) no índice de contaminação das escovas dentais. Esta redução foi observada no 2º período e no 9º período ( $p = 0,008$  e  $p = 0,04$ , respectivamente). Embora esta redução no 5º período não tenha sido estatisticamente significativa ( $p = 0,3$ ), também houve uma redução expressiva da ordem de 51% e o número de escovas dentais contaminadas reduziu 45%, sendo que apenas 1 delas apresentou contaminação maior do que  $10^3$ UFC/mL. Vale ressaltar que 11 participantes apresentaram contaminação em suas escovas dentais na etapa 2, mas apenas quatro (7,4%) do total apresentaram um nível de contaminação  $> 10^3$ , com potencial de contaminar o usuário, conforme demonstra a Tabela 9.

Tabela 9 – Contaminação bacteriana (etapa 2).

Período	Nº	Escovas contaminadas	%	Acima $10^3$ UFC/mL	%	Bactérias presentes
2º P	18	5	27,7	3	16,6	KES <i>Pseudomonas</i>
5º P	18	6	33,3	1	5,5	KES <i>Pseudomonas</i>
9º P	18	0	0	0	0	KES <i>Pseudomonas</i> <i>E. coli</i> <i>Streptococcus</i>
Total	54	11	20,37	4	7,4	

Entre os grupos G2 e controle, foi observada uma redução acentuada nos níveis de contaminação; mas esta não foi estatisticamente significativa ( $p = 0,194$ ). Das 27 escovas dentais, 8 (29,62%) estavam contaminadas na etapa 2, o que demonstra uma redução em relação número de escovas dentais contaminadas na etapa 1 de 33,33%. Destas, quatro (14,81%) apresentaram índices maiores que  $10^3$ UFC/mL (Tabela 10), com uma redução também de 33,33%.

Tabela 10 – Resultados do grupo controle (etapa 2).

Período	Nº. alunos	Escovas contaminadas	%	Acima $10^3$ UFC/mL	%
2º P	9	4	44,44	3	33,33
5º P	9	4	44,44	1	11,11
9º P	9	0	0	0	0
Total	27	8	29,62	4	14,81

Das 15 escovas dentais contaminadas no G1, seis delas apresentaram contaminação acima de  $10^3$  UFC/mL.

Analisando os resultados separadamente, das 27 escovas dentais analisadas no grupo experimental, apenas três (11,11%) estavam contaminadas, sendo uma do 2º período e as outras duas do 5º período, todas com índice menor que  $10^3$  UFC/mL (Tabela 11).

Tabela 11 – Resultados do grupo experimental (etapa 2).

Período	Nº. alunos	Menor que $10^3$ UFC/mL	%
2º P	9	1	11,11
5º P	9	2	22,22
9º P	9	0	0
Total	27	3	11,11

Comparando os resultados das duas fases, entre os grupos G1 e experimental, ocorreu uma redução estatisticamente significativa ( $p = 0,001$ ). A contaminação quando ocorreu foi menor que  $10^3$ UFC/mL, o que pode ser considerado de 100%. Entre G2 e controle, apesar de não apresentar significância estatística, a redução no número médio de bactérias presentes foi de 53,7%.

## 6 DISCUSSÃO

Em razão da significativa participação das escovas dentais no desenvolvimento de infecções (ANKOLA; HEBBAL; ESHWAR, 2009) e da pouca conscientização da população acerca da higienização e do armazenamento destas, realizou-se esta pesquisa com estudantes do curso de graduação em Odontologia, por se tratarem de formadores de opinião da sociedade nesta importante questão.

Para a avaliação de culturas quantitativas, dois métodos podem ser empregados: o método de diluição seriada, cuja vantagem seria a possibilidade de escolher a diluição mais apropriada e a capacidade de uma contagem precisa de micro-organismos em todas as escalas, e o método de esgotamento por alça calibrada, que propicia resultados com intervalos de contagem de colônias de cada morfotipo, que são relatados em  $\log_{10}$  e apesar da técnica de diluição seriada ser considerada o padrão ouro (BASELSKI et al., 1992), é mais trabalhosa que a técnica de esgotamento por alça calibrada (AFESSA et al., 2006; BASELSKI et al., 1992). Como os resultados obtidos pelas duas técnicas são semelhantes, ambas podem ser utilizadas na avaliação do crescimento quantitativo de micro-organismos (AFESSA et al., 2006). A técnica de esgotamento por alça calibrada pode ser preferível em estudos multicêntricos (AFESSA et al., 2006), aplicada com sucesso para o isolamento de micro-organismos presentes em grande número e para a obtenção de colônias puras (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005).

Fundamentado no acima exposto, optou-se pelo método de esgotamento por alça calibrada.

O CHROMagar Orientation<sup>®</sup> é um meio de cultura que identifica enzimas específicas de micro-organismos e estas ao se degradarem, desprendem compostos de várias cores, assegurando assim a diferenciação direta de determinadas espécies ou a detecção de determinados grupos de micro-organismos (SAMRA et al., 1998). O método CHROMagar Orientation<sup>®</sup> apresenta excelente detecção, determinação de contagem e identificação presuntiva de patógenos da urina, tanto em culturas puras, quanto em mistas, além de permitir uma considerável redução na carga de trabalho e uma economia de tempo (CHANG et al., 2008; HOUANG et al., 1999; MERLINO et al., 1996; SAMRA et al., 1998; SCARPARO et al., 2002), e

propicia uma boa diferenciação das espécies mais presentes em espécimes de humanos encontradas em fluidos biliares, na cultura de sangue e nas coletas feitas em feridas através de *swab* (MERLINO et al., 1996).

Chaves et al. (2007) utilizaram Ágar Sangue e Ágar McConkey para quantificação de bacilos Gram negativos, que geralmente são associados a bactérias intestinais. Para Filius et al. (2003) não houve diferença significativa na taxa de detecção de bactérias aeróbias Gram negativas entre os meios Ágar MacConkey e CHROMagar Orientation<sup>®</sup>, sendo que o meio de cultura cromogênico foi o preferido, pois permitiu a detecção de bactérias aeróbias Gram negativas da microbiota intestinal normal e a identificação rápida e precisa de *Escherichia coli*. O CHROMagar Orientation<sup>®</sup> apresentou resultados similares em 3240 de 3390 espécimes examinados, quando comparados com o método tradicional de amostras de urina jato médio-MSU, com a identificação de pelo menos 87% de *Escherichia coli*, *Pseudomonas spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Proteus mirabilis/Morganella morganii* e *Enterobacter/Serratia/Klebsiella/Citrobacter spp.* (HOUANG et al., 1999; SAMRA et al., 1998).

O CHROMagar Orientation<sup>®</sup> foi utilizado neste estudo por ser recomendado como meio de cultura para isolamento direto e identificação presuntiva de micro-organismos.

O método tintorial predominante utilizado em bacteriologia é o método de Gram. Os custos com investimento e manutenção são consideravelmente baixos diante da eficácia alcançada com os resultados imediatos dos testes (MARTINS et al., 2001). O processo da coloração de Gram consiste de: a) violeta de ginciana ou violeta de metila, por no mínimo de 1 min.; b) lugol (Iodo + Iodeto K), por no mínimo 1 min.; c) agente diferenciador (álcool + acetona) e; d) safranina ou fuccina diluída para a contracoloração. As bactérias Gram positivas ficam azuis, pois não permitem a entrada do agente diferenciador. As bactérias Gram negativas ficam vermelhas, pois permitem entrada do agente diferenciador (EQUIPE ESTUDMED.COM, 2001). Neste estudo, as colônias de cor vermelha, de cor branca e de cor azul acinzentado eram Gram negativas e as de cor azul turquesa eram Gram positivas, o que permitiu a confirmação da identificação presuntiva das bactérias deste estudo, respectivamente: *E. coli*, *Pseudomonas*, grupo KES e *Streptococcus spp.* As

colônias de cor azul acinzentado e branca, prevalentes neste estudo, foram identificadas como bacilos Gram negativos (grupo KES e *Pseudomonas*).

Adicionalmente, o meio de cultura Rugai foi utilizado para confirmar a identificação presuntiva de Enterobactérias oxidase negativa. Este meio consiste em nove provas bioquímicas e a leitura é feita após a incubação a 35°C por 18-24h (LABORCLIN, 2001).

Tendo em vista que a temperatura de 35,5°C a 37°C é a ideal para o crescimento da grande maioria das bactérias patogênicas (TRABULSI; TOLEDO; GOMES, 2008) e pela necessidade de se esperar 24h para o aparecimento das colônias visíveis em placas (TORTORA; FUNKE; CASE, 2005), neste experimento utilizou-se a temperatura de 35,5°C, por um período de 24h.

As escovas dentais novas deveriam encontrar-se estéreis dentro de suas embalagens originais. Em cada três escovas dentais novas examinadas por Taji e Rogers (1998), uma mostrava-se contaminada por *Staphylococcus*. Em dez escovas dentais novas, todas estavam contaminadas (GLASS; LARE, 1986) e Pereira et al. (2006) observaram uma contaminação na ordem de 78,6%. Já Nelson Filho et al. (2006) avaliaram cinco escovas dentais novas e nenhuma delas estava contaminada. Também Sogi, Subbareddy e Kiran (2002) não encontraram contaminação em oito escovas dentais.

Para a realização deste trabalho foram testadas cinco escovas dentais novas, antes do início da pesquisa e todas encontravam-se livres de contaminação.

As diferentes técnicas de ancoragem das cerdas (WETZEL et al., 2005), os diferentes desenhos, o número de tufos e o número de cerdas por tufos (GLASS; JENSEN, 1988), o material do cabo, da cabeça e das hastilhas (LIMA et al., 2007), se o material da ponta ativa é opaco ou transparente (SPOLIDORIO et al., 2003), interferem na retenção de biofilme e de micro-organismos nas escovas dentais. Feo (1981) recomendou o uso de escovas dentais com cerdas de náilon, por reterem menos microorganismos que as escovas de cerdas naturais.

Para não provocar viés nos resultados, nesta pesquisa todos os alunos utilizaram um mesmo tipo de escova dental de cerdas de náilon.

A aderência e a taxa de sobrevivência de micro-organismos periodontopatogênicos e cariogênicos em escovas dentais e interdentais, foi reduzida significativamente pelo uso do creme dental de ação detergente, limitando dessa forma o risco de transmissão bacteriana (QUIRYNEN et al., 2001). Para

Nelson Filho et al. (2004) e Efstratiou et al. (2007) a contaminação das cerdas das escovas dentais por *S. mutans*, após uma única escovação foi reduzida significativamente pelo uso do dentifrício contendo triclosan e um resultado semelhante foi obtido por Lima et al. (2007) com os dentifrícios Sorriso Super Refrescante<sup>®</sup> e Colgate Tripla Ação<sup>®</sup>.

Para evitar que o agente antimicrobiano presente na formulação do dentifrício interferisse nos resultados desta pesquisa, foi utilizado o creme dental, sem agente antimicrobiano em sua composição.

A boca é mantida úmida e lubrificada pela saliva, que apresenta micro-organismos oriundos da superfície dos dentes, da mucosa bucal, do sulco gengival e do dorso da língua. A microbiota bucal residente na saliva permanece estável e coexiste em razoável harmonia com o hospedeiro, por meio da dieta e das interações microbianas (MAGER et al., 2003).

A flora bacteriana bucal coloniza rapidamente as cerdas das escovas dentais (KENNEDY et al., 2003), após uma única escovação (NASCIMENTO; WATANABE; ITO, 2010), podendo ser um reservatório de populações bacterianas, comportando-se como vetores de transmissão destas (CARVAJAL et al., 1995). Espécies de *P. gingivalis*, *C. rectus*, *F. nucleatum*, e *E. corrodens* tiveram uma alta frequência de detecção nas escovas interdentais e está correlacionada às amostras subgengivais (PAPAIIOANNOU, 2002).

Foi comprovado em experimentos, *in vitro*, que *Streptococcus* do grupo *mutans* se mantém viáveis nas cerdas úmidas de escovas dentais por até 8h (SARAVIA, 2010; SARAVIA et al., 2008) e, *in vivo*, se mantém viáveis por até 44h em temperatura ambiente (SARAVIA, 2010). O número de UFC de *S. mutans* reduziu após 12h e essa redução se acentuou após 24h do uso das escovas dentais (SVANBERG, 1978). Chibebe Júnior et al. (2001) constataram que o *S. pyogenes* permaneceu viável por 24h nas cerdas das escovas dentais previamente contaminadas.

O HSV-1 pode permanecer viável por pelo menos 48h em escovas dentais secas e por mais de sete dias quando estas estiverem úmidas, podendo ser transmissíveis nessas situações (GLASS; JENSEN, 1988). As bactérias podem sobreviver por uma semana nas escovas dentais deixadas ao ar livre, e por duas semanas quando mantidas em suas embalagens originais (FEO, 1981). Pacientes portadores de doenças inflamatórias bucais tenderam a responder melhor a terapia

quando suas escovas dentais velhas eram substituídas por novas, em média a cada duas semanas (GLASS; LARE,1986), por estas razões, antes do processamento microbiológico para verificar a contaminação das escovas dentais, estas foram utilizadas pelos participantes da pesquisa por um período de 15 dias.

Em um estudo realizado em cães, as escovas dentais com micro-organismos inoculados e as contaminadas pelo uso, provocaram uma maior prevalência de ulcerações quando comparadas às estéreis. Em animais imunossuprimidos, ocorreu uma maior prevalência dessas ulcerações e a maioria das cicatrizações ocorreu após um dia sem a presença de micro-organismos (GLASS; MARTIN; PETERS, 1989).

A escova dental pode ser uma rota pouco convencional de transmissão da hepatite C (LOCK et al., 2006). Cistos de protozoários e ovos de helmintos podem ser carreados, por meio de objetos utilizados na rotina da população, pela sua facilidade de veiculação e pela sua condição microscópica (SILVEIRA et al.,2002), como é o caso da escova dental, cuja desinfecção é de fundamental importância na manutenção da saúde bucal (ANKOLA; HEBBAL; ESHWAR, 2009).

Borges et al. (1996) detectaram a presença de coliformes fecais em escovas dentais de crianças carentes e sugeriram que este instrumento de higiene bucal atua como veículo transmissor de enteroparasitoses e possivelmente de outras doenças. Pode ocorrer também a contaminação por *Candida spp.* em escovas dentais (NASCIMENTO; WATANABE; ITO, 2010).

Existe um aumento da prevalência de *Enterobacteriaceae* na boca e na orofaringe de pacientes com doenças de severidades variáveis, quando comparados com os pacientes saudáveis (SEDGLEY; SAMARANAYAKE, 1994).

Neste trabalho os pacientes relataram-se saudáveis, entretanto foi possível observar o crescimento de colônias de enterobactérias, o que pode ser atribuído às condições de higiene e de armazenamento das escovas dentais.

Numa pesquisa com quarenta estudantes de Odontologia da Universidade do Chile, o total de escovas dentais em uso habitual contaminadas por bactérias anaeróbicas foi de 100% e estas possivelmente derivaram da placa bacteriana acumulada no plástico onde se inserem as cerdas (MOTZFELD et al., 1999).

Um total de 16 espécies bacterianas foi identificado nas escovas dentais de adultos e de crianças. O mais frequente foi o gênero *Streptococcus*. Nas escovas

dentais das crianças foram identificados também *Aerococcus viridans*, *C. albicans*, *Lactobacillus spp.* e enterobactérias, enquanto *Staphylococcus* foram dominantes nas escovas dentais dos adultos (BEZIRTZOGLOU et al., 2008).

Neste estudo foram identificadas bactérias do grupo KES, *Pseudomonas*, *E. coli* e *Streptococcus spp.*

Santos e Jorge (1998) detectaram *Enterobacteriaceae* e *Pseudomonadaceae* na cavidade bucal de 51% dos pacientes. A cavidade bucal pode servir como reservatório destes micro-organismos, o que apresenta importância, principalmente em indivíduos debilitados ou imunocomprometidos, além disso, estes micro-organismos podem atuar como agravantes de doenças periodontais (SANTOS; JORGE, 1998, 1999).

Observou-se um índice de contaminação de 50% das escovas dentais na etapa 1 desta pesquisa e a contaminação foi maior nas escovas dentais dos acadêmicos do 2º período, em relação aos do 5º e aos do 9º períodos, sendo observada uma diferença estatisticamente significativa nos níveis de contaminação das escovas dentais do 2º quando comparados às do 9º períodos ( $p = 0,04$ ).

Analisando as duas etapas, foi observada uma redução da contaminação no 2º período e no 9º período ( $p = 0,008$  e  $p = 0,04$ , respectivamente). No 5º período ocorreu uma redução de 51%, o que não foi estatisticamente significativo ( $p = 0,3$ ), mas pode ser explicado pelo fato de que na etapa 2, dez dos 18 alunos deste período terem respondido no questionário que houve contato das suas escovas dentais com outras e a relação entre a contaminação das escovas dentais e esse contato foi estatisticamente significativa nas duas etapas deste estudo, possivelmente por infecção cruzada.

Na etapa 2, houve uma redução significativa na contaminação das escovas dentais pelas bactérias do grupo KES ( $p = 0,03$ ) e *Pseudomonas* ( $p = 0,01$ ). Esta redução foi significativa no grupo experimental em relação ao G1 ( $p = 0,001$ ) e no grupo controle, também houve uma redução na média das bactérias presentes em relação ao G2 da ordem de 53,7%, o que demonstra a necessidade imperiosa em realizar a higienização e o armazenamento adequados das escovas dentais.

Nas escovas dentais que após o uso foram armazenadas em ambientes arejados, o número de bactérias foi menor, quando comparadas às escovas armazenadas em recipientes fechados e recipientes fechados com abertura para ventilação (DAYOUB; RUSILKO; GROSS, 1976; MEIER et al., 1996). As capas

protetoras influenciaram na retenção de *S. mutans* inicialmente, mas à medida que as escovas secaram, o nível de bactérias decresceu (BORSO; CRUMP; SCHELLING, 2004). E Mehta; Sequeira; Bhat (2007) e Dayoub, Rusilko e Gross (1976) desaconselharam o uso de capas de plástico para cobrir a cabeça das escovas dentais, pois as mesmas ajudam a reter umidade e favorecem o crescimento bacteriano.

Na etapa 1 deste estudo não foi verificada diferença estatisticamente significativa na contaminação das escovas dentais dos participantes que utilizaram ou não a capa de proteção para as cerdas e na etapa 2 foi solicitado a não utilização deste dispositivo, entretanto seis participantes mantiveram o seu uso. E embora não tenha sido objeto deste estudo, é possível sugerir um trabalho para verificar a eficácia do uso das capas de proteção após a desinfecção das cerdas das escovas dentais com digluconato de clorexidina, uma vez que este método elimina a contaminação decorrente do seu uso e a capa de proteção poderia prevenir a sua contaminação externa, corroborando com Silveira et al. (2002), que afirmaram que o portaescovas contribui para a prevenção de doenças e que seu uso deve ser estimulado.

Foram avaliadas diversas formas de armazenamento das escovas dentais: sobre a pia, em um suporte de modo que as cabeças das escovas dentais ficassem externas em contato com o ambiente do banheiro (SOGI; SUBBAREDY; KIRAN, 2002), ao ar livre ou em recipientes ventilados, em recipientes fechados e em recipientes fechados com abertura para ventilação (DAYOUB; RUSILKO; GROSS, 1976), mantidas ao ar livre e em capas plásticas após o uso (BORSO; CRUMP; SCHELLING, 2004; MEHTA; SEQUEIRA; BHAT, 2007; TURNER et al., 2009; SILVEIRA et al., 2002), ou ainda guardadas separadamente em recipientes de vidro, de maneira que a cabeça da escova dental ficasse com o lado das cerdas virado para o lado de fora e com uma abertura para secagem (BALAPPANAVAR et al., 2009).

Como também foram verificadas as formas habituais de armazenamento das escovas dentais: sobre a pia (MIALHE; SILVA; POSSOBON, 2007; MOREIRA; CAVALCANTE, 2008), em algum recipiente dentro do armário do banheiro, na parede sobre a pia do banheiro (MIALHE; SILVA; POSSOBON, 2007), com capas protetoras, após um mergulho de 5min. em uma solução antisséptica, seguida de lavagem da escova dental e da capa protetora em água corrente e da remoção do

excesso de água por agitação (MOREIRA; CAVALCANTE, 2008), com contato entre as cerdas e o portaescova (COUTINHO et al., 2007; PASSOS et al., 2006), algumas com nomes ilegíveis e outras sem nomeação, individualmente com resíduos na base das cerdas, com e sem agitação mecânica para secagem (COUTINHO et al., 2007).

No que tange ao armazenamento, 44,4% dos participantes deste estudo o fizeram no armário do banheiro, no experimento de Taji e Rogers (1998), 72,3%, no de Moreira e Cavalcante (2008), 50% e no de Mialhe, Silva e Possobon (2007), 72,3%; e 44,4%, 9,2%, 24% e 9,2% o fizeram sobre a pia do banheiro, respectivamente, sendo que 11,11% dos participantes deste estudo o fizeram fora do ambiente do banheiro.

Quanto ao modo de limpeza das suas escovas dentais, neste experimento, 42,6 % lavavam com água e removiam o excesso por agitação, valores semelhantes aos encontrados por Taji e Rogers (1998). Para Moreira e Cavalcante (2008), 16% dos participantes lavaram e secaram suas escovas dentais, para Mialhe, Silva e Possobon (2007), 42,5% e neste estudo 24,1% dos participantes o fizeram desta forma e 25,9% a lavaram com água corrente. Apenas um (1,9%) dos participantes relatou que utilizava produto químico (água oxigenada) para desinfecção das cerdas, antes de iniciar o estudo, enquanto Taji e Rogers (1998) relataram que este índice foi menor que 20%, resultado idêntico ao encontrado por Mialhe, Silva e Possobon (2007). Mas durante a etapa 1 desta pesquisa nenhum dos participantes utilizou qualquer produto químico para a desinfecção de suas escovas dentais.

Com relação à frequência com que higienizavam suas escovas dentais, 53,7% faziam essa higienização diariamente; 1,9%, três vezes por semana; 1,9% duas vezes por semana; 14,8%, uma vez por semana e 27,8% relataram que não faziam higiene das suas escovas dentais.

Existem quatro opções de desinfecção para escovas dentais: química, *sprays*, sanitizadores por luz UV e escovas dentais modificadas (ANKOLA; HEBBAL; ESHWAR, 2009). Estas últimas, com cerdas recobertas por solução de digluconato de clorexidina não possuem efetividade (EFSTRATIOU et al., 2007; TURNER et al., 2009), após um único uso, em pacientes portadores de periodontite crônica (EFSTRATIOU et al., 2007). Já a sanitização pela ação do gás ozônio por 30min. é um promissor agente bactericida, antiviral e antifúngico (BEZIRTZOGLU et al.,

2008). E o forno de micro-ondas tem a capacidade de esterilizar escovas dentais após 7min. de exposição (CHIBEBE JÚNIOR; PALLOS, 2001).

Foram testadas diversas soluções químicas para a desinfecção de escovas dentais: a solução química de ácido bórico a 4% foi mais eficiente que a solução de ácido salicílico a 2/1000 na desinfecção de escovas dentais por imersão (FEO, 1981), diferentes marcas de vinagre nas concentrações de 3% a 6% foram efetivas na eliminação de *C. albicans* (AZUMA et al., 2006). Chibebe Júnior et al. (2001) constataram que o vinagre em concentrações até 3% foram efetivos na eliminação do *S. pyogenes*, o hipoclorito de sódio a 2% possui ação antimicrobiana efetiva (ESTRELA et al., 2003), na concentração de 1% foi mais eficaz do que o ácido acético a 0,05% (CHAVES et al., 2007). O EDTA tetrassódico foi eficaz na desinfecção do biofilme e de vírus (DEVINE et al., 2007) e o Brushtox<sup>®</sup> (NEAL; RIPPIN, 2003; NELSON FILHO et al., 2006), Periogard<sup>®</sup> e a solução experimental Cosmocil CO<sub>3</sub>, reduziram ou preveniram a formação de colônias/biofilme nas superfícies das cerdas das escovas dentais (NELSON FILHO et al., 2006).

O cloreto de cetilperidínio é um método eficaz, econômico e prático para a prevenção da infecção cruzada (MEIER et al., 1996; SATO et al., 2004) e o *spray* de óleo essencial da *Eugenia uniflora* L. (pitanga) mostrou-se eficaz na descontaminação de *S. mutans* presentes em escovas dentais (OLIVEIRA et al., 2009). O Periogard<sup>®</sup> foi mais eficaz contra o *P. aeruginosa*, seguido pelo Cepacol<sup>®</sup>; o Plax<sup>®</sup> e a água destilada não apresentaram efeitos inibitórios ao crescimento microbiano e todas as substâncias apresentaram efetividade na eliminação do *S. aureus*, porém o Cepacol<sup>®</sup> demonstrou melhores resultados, seguido do Periogard<sup>®</sup> e Plax<sup>®</sup>, respectivamente (SEMENOFF; SEMENOFF SEGUNDO; BIASOLI, 2008). O Neem a 3% teve uma eficácia notável na descontaminação de escovas dentais, seguido do triclosan a 2%, do digluconato de clorexidina a 0,2% e do hipoclorito de sódio a 1%, após imersão por 12h (BALAPPANAVAR et al., 2009). As soluções antissépticas e antimicrobianas Listerine, Plax, Periogard (ARAÚJO; ARAÚJO; CAMPOS, 2001; NASCIMENTO et al., 2008; PEREIRA et al., 2005), Peroxyl foram eficazes na desinfecção das escovas dentais no período de 24h, entretanto, o Cepacol não apresentou tal efetividade (ARAÚJO; ARAÚJO; CAMPOS, 2001; PEREIRA et al., 2005). No estudo de Komiyama et al. (2010), a solução de digluconato de clorexidina a 0,12% foi superior ao vinagre branco Agrin a 50% e ao

dentifrício com triclosan, enquanto que as pastilhas efervescentes com perborato de sódio não foram efetivas na descontaminação das escovas dentais.

O digluconato de clorexidina é um cátion bisguanida, com amplo espectro antimicrobiano (ADAMS; ADDY, 1994; ARAÚJO; ARAÚJO; CAMPOS, 2001; DAVIES et al., 1954; DENTON, 2001). A solução aquosa é a mais utilizada em Odontologia (BAMBACE et al., 2003; DENTON, 2001), apresenta substantividade e é liberada lentamente à medida que sua concentração no meio decresce, permitindo atuação prolongada e rápida; é bacteriostático em baixas concentrações e bactericida em concentrações mais elevadas. Atua rompendo a integridade das membranas citoplasmáticas das bactérias, resultando na perda de constituintes celulares vitais como o ácido nucléico e o potássio. Embora destrua formas vegetativas de bactérias, não demonstra efetividade contra esporos, exceto em temperaturas elevadas (DENTON, 2001; McDONNELL; RUSSELL, 1999).

Pode ser utilizado na cavidade bucal de diferentes formas: bochecho, irrigações, géis, dentifrícios, *sprays* e chicletes (ADAMS; ADDY, 1994; DENARDI, 1994) e deve ser administrado somente sob supervisão profissional (DENARDI, 1994), pois apresentam efeitos adversos associados ao seu uso: alterações no paladar; manchas nos dentes (ADAMS; ADDY, 1994; McCOY et al., 2008), língua e/ou prótese; boca, língua e/ou garganta inflamada e irritação na ponta da língua, chiado no peito e falta de ar (McCOY et al., 2008); reações alérgicas, do tipo urticária foram relatadas, mas a prevalência de dermatite de contato e choque anafilático é subestimada (SHARMA; CHOPRA, 2009). Pode ser capaz de induzir danos primários ao DNA de leucócitos e às células da mucosa bucal (RIBEIRO et al., 2004). Na concentração de 20% induziu a recombinação gênica nas células diplóides de *Aspergillus nidulans*, o que poderia eliminar os genes supressores de tumores (SOUZA JÚNIOR; CASTRO PRADO, 2005). O efeito citotóxico da clorexidina ocorre de modo dose dependente, inibindo a proliferação celular e síntese de colágeno (LEE et al., 2010). Os micro-organismos podem se adaptar a uma variedade de condições químicas e físicas, portanto, pode ocorrer resistência aos antissépticos e desinfetantes usados na Odontologia (McDONNELL; RUSSELL, 1999).

É empregado nas concentrações de 0,12% (ARAÚJO; ARAÚJO; CAMPOS, 2001; AYŞEGÜL et al., 2007; KOMIYAMA et al., 2010; SATO et al., 2005; TOMÁS et al., 2008; SEMENOFF et al., 2008; SREENIVASAN; GITTINS, 2004),

0,2% (ARAÚJO; ARAÚJO; CAMPOS, 2001; COUSIDO et al., 2008; TOMÁS et al., 2008; BALLAPANAVAR et al., 2009), 0,5%, 1%, 2%, 3% e 4% (BAMBACE et al., 2003), 1% e 40% (ATTIN et al., 2003), 1% (RIBEIRO; HASHIZUME; MALTZ, 2007), a 2% (ESTRELA et al., 2003; OLIVEIRA et al., 2009; SEMENOFF et al., 2008) e a 1µM, 5 µM e 10µM (SOUZA JÚNIOR; CASTRO PRADO, 2005).

O digluconato de clorexidina a 0,12% em *spray* foi a forma mais efetiva de reduzir ou eliminar a contaminação das escovas dentais (SATO et al., 2005). Na forma de *spray* apresenta efetividade prática na desinfecção das escovas dentais e na prevenção da ocorrência de infecção cruzada (AYŞEGÜL et al., 2007; SATO et al., 2005), razão pela qual utilizou-se neste experimento, a solução de digluconato de clorexidina em *spray*, na concentração de 0,12%.

A condição de higiene de uma população está intimamente ligada ao seu índice de contaminação (BORGES et al., 1996). A desinfecção (BUNETEL et al., 2000; CARVAJAL et al., 1995; KENNEDY et al., 2003), o armazenamento adequado (BUNETEL et al., 2000; CARVAJAL et al., 1995; DAYOUB; RUSILKO; GROSS, 1976) e a secagem das escovas dentais são relevantes (BUNETEL et al., 2000), a sua troca periódica (KENNEDY et al., 2003), no mínimo uma vez por mês e após algumas doenças (GLASS; LARE, 1986), principalmente devido a correlação existente entre a contaminação de escovas dentais e as doenças bucais (COBB; MASS, 1920; GLASS; JENSEN, 1988; GLASS; MARTIN; PETERS, 1989; GLASS; LARE, 1986; KENNEDY et al., 2003).

Para tanto, o conhecimento e a conscientização da informação de como proceder a higienização ou a desinfecção, bem como o armazenamento adequado das escovas dentais, são imprescindíveis não apenas para a manutenção da saúde bucal, como também na prevenção da auto infecção e da infecção cruzada. Após a aplicação do primeiro questionário, foi observada uma mudança de hábitos pelo simples fato de terem sido despertados para esta necessidade.

No G1, das 27 escovas dentais analisadas, 15 apresentaram contaminação e seis delas acima de  $10^3$ UFC/mL. No grupo experimental, apenas três estavam contaminadas, todas com índice menor que  $10^3$ UFC/mL, índice este aceitável para a água potável. Comparando os resultados das duas etapas, entre os grupos G1 e experimental, ocorreu uma redução que pode ser considerada de 100%, uma vez que tal contaminação é aceitável e incapaz de provocar infecção no usuário da escova dental. No G2, 12 escovas dentais apresentaram contaminação,

sendo sete acima de  $10^3$ UFC/mL e no grupo controle oito apresentaram contaminação e destas quatro com níveis superiores a  $10^3$ UFC/mL. Isto mostra que o fato de os participantes deste grupo terem seguido o protocolo fornecido foi suficiente para uma redução acentuada dos níveis de contaminação.

Fundamentado nos resultados obtidos nesta pesquisa, é possível propor um protocolo de higienização e armazenamento das escovas dentais, tanto para indivíduos saudáveis, quanto para indivíduos imunossuprimidos.

## 7 CONCLUSÃO

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

O *spray* de digluconato de clorexidina a 0,12% foi eficaz no controle da população microbiana das escovas dentais e embora a redução de microorganismos tenha sido menor quando se utilizou apenas a solução básica, os cuidados de higiene e armazenamento das escovas dentais também foram eficazes no controle da população microbiana. Esse fato sustenta a indicação de um protocolo.

Para pacientes saudáveis: após cada escovação, lavar criteriosamente com água corrente, remover o excesso de água por agitação, mantê-las livre de contato com outras escovas dentais, armazená-las preferencialmente fora do ambiente do banheiro ou em armários ventilados que permitam uma secagem rápida das cerdas e que não permitam a contaminação externa pelo ambiente do banheiro.

Para pacientes imunossuprimidos: após cada escovação lavar criteriosamente a escova dental com água corrente, remover o excesso de água por agitação, aplicar o *spray* da solução de digluconato de cloredidina a 0,12%, remover o excesso por agitação, mantê-las livre de contato com outras escovas dentais, armazená-las preferencialmente fora do ambiente do banheiro ou em armários ventilados que permitam uma secagem rápida das cerdas e que não permitam a contaminação externa pelo ambiente do banheiro e lavar a escova dental com água corrente antes de uma nova utilização.

## REFERÊNCIAS

- ADAMS, D.; ADDY, M. Mouthrinses. **Adv Dent Res**, Washigton, v. 8, n. 2, p. 291-301, July 1994.
- AFESSA, B. et al. Bronchoscopy in ventilator-associated pneumonia – agreement of calibrated loop and serial dilution. **Am J Respir Crit Care Med**, New York, v. 173, n. 11, p. 1229-1232, June 2006.
- ANKOLA, A.; HEBBAL, M.; ESHWAR, S. How clean is the toothbrush that cleans your tooth? **Int J Dent Hyg**, Oxford, v. 7, n. 4, p. 237-240, Nov. 2009.
- ARAÚJO, M. T. B.; ARAÚJO, R. P. C.; CAMPOS, E. J. Estudo in vitro e ex vivo da atividade bactericida da clorexidina 0.12 % e a 0.2 % e dos produtos farmacológicos Listerine e Duplak. **Rev Odonto Ciên**, Porto Alegre, v. 16, n. 33, p. 187-200, maio/ago. 2001.
- ATTIN, R. et al. Efficacy of differently concentrated chlorhexidine varnishes in decreasing Mutans streptococci and lactobacilli counts. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 48, n. 7, p. 503-509, July 2003.
- AYŞEGÜL, O. et al. The efficacy of chlorhexidine spray vs mouthwash in the microbial contamination of child toothbrushes. **J Dent Child**, Chicago, v. 74, n. 3, p. 177-181, Sep./Dec. 2007.
- AZUMA, C. R. S. et al. Atividade antimicrobiana de soluções de ácido acético de diferentes tipos e procedências sobre *Candida albicans*. **RPG Rev Pós Grad**, São José dos Campos, v. 13, n. 2, p. 164-167, abr./jun. 2006.
- BALAPPANAVAR, A. Y. et al. Antimicrobial efficacy of various disinfecting solutions in reducing the contamination of the toothbrush – a comparative study. **Oral Health Prev Dent**, London, v. 7, n. 2, p. 137-145, Mar. 2009.
- BAMBACE, A. M. J. et al. Eficácia de soluções aquosas de clorexidina para desinfecção de superfícies. **Rev Biocienc**, Taubaté, v. 9, n. 2, p. 73-81, abr./jun. 2003.

BASELSKI, V. S. et al. The standardization of criteria for processing and interpreting laboratory specimens in patients with suspected ventilator-associated pneumonia. **Chest**, Park Ridge, v. 102, n. 5, p. 571-579, Nov. 1992.

BEZIRTOGLOU, E. et al. A quantitative approach to the effectiveness of ozone against microbiota organisms colonizing toothbrushes. **J Dent**, Guildford, v. 36, n. 8, p. 600-605, Aug. 2008.

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

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

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

CHANG, J. C. et al. Comparison of CPS ID 3 and CHROMagar Orientation chromogenic agars with standard biplate technique for culture of clinical urine samples. **J Microbiol Immunol Infect**, Hong Kong, v. 41, n. 5, p. 422-427, Oct. 2008.

CHAVES, R. A. C. et al. Avaliação de soluções antibacterianas na descontaminação de escovas dentais de pré-escolares. **Rev Odontol UNESP**, Marília, v. 36, n. 1, p. 29-33, jan./mar. 2007.

CHIBEBE JUNIOR, J. et al. Contaminação de escovas dentais por *Streptococcus pyogenes* e sua desinfecção. In: ENCONTRO LATINO AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, X, ENCONTRO LATINO AMERICANO DE PÓS-GRADUAÇÃO – UNIVERSIDADE DO VALE DO PARAÍBA, VI, São José dos Campos, 2001. **Anais...** Disponível em:  
<[http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC\\_2006/epg/03/EPG0000004\\_ok.pdf](http://www.inicepg.univap.br/cd/INIC_2006/epg/03/EPG0000004_ok.pdf)>. Acesso em: 10 maio 2010.

CHIBEBE JÚNIOR, J.; PALLOS, D. Avaliação da esterilização de escovas dentais em forno de microondas (estudo in vitro). **Rev Biociênc**, Taubaté, v. 7, n. 2, p. 39-42, jul./dez. 2001.

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

COUSIDO, M. C. et al. Effect of a neutralising agent on the evaluation of the antimicrobial activity of chlorhexidine on the bacterial salivary flora. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 53, n. 10, p. 981-984, Oct. 2008.

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.

DAVIES, G. E. et al. Laboratory investigation of a new antibacterial agent of a high potency. **Br J Pharmacol Chemother**, London, v. 9, n. 2, p. 192-196, June 1954.

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

DENARDI, B. B. O uso da clorexidina na prática odontológica. **Rev Assoc Paul Cir Dentistas**, São Paulo, v. 48, n. 2, p. 1279-1285, mar./abr. 1994.

DENTON, G. W. Chlorhexidine. In: BLOCK, S. S. **Disinfection Sterilization and Preservation**. 5. ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 2001. Cap. 15, p. 321-336.

DEVINE, D. A. et al. Inhibition of biofilms associated with dentures and toothbrushes by tetrasodium EDTA. **J Appl Microbiol**, Oxford, v. 103, n. 69, p. 2516-2524, Dec. 2007.

EFSTRATIOU, M. et al. Contamination of a toothbrush with antibacterial properties by oral microorganisms. **J Dent**, Guildford, v. 35, n. 4, p. 331-337, Apr. 2007.

EQUIPE ESTUDMED.COM. **Métodos de coloração bacteriana**. 2001. Disponível em: <[http://estudmed.com.sapo.pt/microbiologia/metodos\\_coloracao\\_bacteriana](http://estudmed.com.sapo.pt/microbiologia/metodos_coloracao_bacteriana)>. Acesso em: 02 mar. 2011.

ESTRELA, C. et al. Antimicrobial effect of 2 percent sodium hypochlorite and 2 percent chlorhexidine tested by different methods. **Braz Dent J**, Ribeirão Preto, v. 14, n. 1, p. 58-62, June 2003.

FEO, M. Supervivencia y desinfección de *Candida albicans* en el cepillo de dientes. **Mycopathologia**, The Hague, v. 74, n. 3, p. 129-34, June 1981.

FILIUS, P. M. G. et al. Comparative evaluation of three chromogenic agars for detection and rapid identification of anaerobic Gram negative bacteria in the normal intestinal microflora. **Clin Microbiol Infect**, Oxford, v. 9, n. 9, p. 912-918, Sep. 2003.

GLASS, R. T.; JENSEN, H. G. More on the contaminated toothbrush: the viral story. **Quintessence Int**, Berlin, v. 19, n. 10, p. 713-716, Oct. 1988.

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

GLASS, R. T.; MARTIN, M. E.; PETERS, L. J. Transmission of disease in dogs by toothbrushing. **Quintessence Int**, Berlin, v. 20, n. 11, p. 819-824, Nov. 1989.

GUPTA, A. Hospital-acquired infections in the neonatal intensive care unit *Klebsiella pneumoniae*. **Semin Perinatol**, New York, v. 26, n. 5, p. 340-345, Oct. 2002.

HOUANG, E. T. S. et al. The use of CHROMagar Orientation as a primary isolation medium with presumptive identification for the routine screening of urine specimens. **APMIS**, Copenhagen, v. 107, n. 9, p. 859-862, Sep. 1999.

KENNEDY, H. F. et al. Gingivitis and toothbrushes: potential roles in viridans streptococcal bacteraemia. **J Infect**, London v. 46, n. 1, p. 67-70, Jan. 2003.

KOMIYAMA, E. Y. et al. Evaluation of alternative methods for the disinfection of toothbrushes. **Braz Oral Res**, São Paulo, v. 24, n. 1, p. 28-33, Jan./Mar. 2010.

LABORCLIN. **Meio de Rugai com lisina**. 2001. Disponível em: <[www.laborclin.com.br/produtos/510100/510101\\_bl.pdf](http://www.laborclin.com.br/produtos/510100/510101_bl.pdf)>. Acesso em: 03 de mar. 2011.

LEE, T. H. et al. Cytotoxicity of chlorhexidine on human osteoblastic cells is related to intracellular glutathione levels. **Int Endod J**, Oxford, v. 43, n. 5, p. 430-435, May 2010.

LIMA, M. V. et al. Biofilme: avaliação do nível de contaminação de escovas dentais Monobloc em função do dentífrico. **Rev Odonto Ciênc**, Porto Alegre, v. 22, n. 57, p. 269-273, jul./set. 2007.

LOCK, G. et al. Hepatitis C – contamination of toothbrushes: myth or reality? **J Viral Hepat**, Oxford, v. 13, n. 9, p. 571-573, Sep. 2006.

LONG, S. R.; SANTOS, A. S.; NASCIMENTO, C. M. O. Avaliação da contaminação de escovas dentais por enterobactérias. **Rev Odontol Univ St Amaro**, São Paulo, v. 5, n. 1, p. 21-25, jan./jun. 2000.

MAGER, D. L. et al. Distribution of selected bacterial species on intraoral surfaces. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 30, n. 7, p. 644-654, July 2003.

MARTINS, C. R. F. M. et al. **Técnica de Coloração de Gram**. Brasília: Ministério da Saúde, Programa Nacional de Doenças Sexualmente Transmissíveis e AIDS, 2001. 67p.

McCOY, L. C. et al. Adverse events associated with chlorhexidine use: results from the Department of Veterans Affairs Dental Diabetes Study. **J Am Dent Assoc**, Chicago, v. 139, n. 2, p.178-183, Feb. 2008.

McDONNELL, G.; RUSSELL, A. D. Antiseptics and disinfectants: activity, action, and resistance. **Clin Microbiol Rev**, Washington, v. 12, n. 1, p. 147-179, Jan. 1999.

MEHTA, A.; SEQUEIRA, P. S.; 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.

MEIER, S. et al. An *in vitro* investigation of the efficacy of CPC for use intoothbrush decontamination. **J Dent Hyg**, Chicago, v. 70, n. 4, p. 161-165, Jul./Aug. 1996.

MERLINO, J. et al. Evaluation of CHROMagar Orientation for Differentiation and Presumptive Identification of Gram-Negative Bacilli and Enterococcus Species. **J. Clin Microbiol**, Washington, v. 34, n. 7, p. 1788-793, July 1996.

MIALHE, F. L.; SILVA, D. D.; POSSOBON, R. F. Evaluation of toothbrush care in relation to storage and disinfection by dentistry students. **Rev Odontol UNESP**, Ribeirão Preto, v. 36, n. 3, p. 231-235, maio/jun. 2007.

MOREIRA, A. C. S.; CAVALCANTE, G. M. Influência da higienização na contaminação de escovas dentais. **Arq Ciênc Saúde Unipar**, Umuarama, v. 12, n. 1, p. 99-103, maio/ago. 2008.

MOTZFELD, R. et al. Tipo y grado de contaminación por bacterias bucales y leveduras, 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.

NASCIMENTO, A. P. et al. Efficacy of mouthrinse spray in inhibiting cariogenic biofilm formation on toothbrush bristles. **Braz J Oral Sci**, Piracicaba, v. 7, n. 24, p. 1489-1492, Jan./Mar. 2008.

NASCIMENTO, A. P.; WATANABE, E.; ITO, I. Y. Toothbrush contamination by *Candida* spp. and efficacy of mouthrinse spray for their disinfection. **Mycopathologia**, The Hague, v. 169, n. 2, p. 133-138, Feb. 2010.

NEAL, P. R.; RIPPIN, J. W. The efficacy of a toothbrush disinfectant spray – an *in vitro* study. **J Dent**, Guildford, v. 31, n. 2, p. 153-157, Feb. 2003.

NELSON FILHO, P. et al. Effect of triclosan dentifrice on toothbrush contamination. **Pediatr Dent**, Chicago, v. 26, n. 1, p. 11-16, Jan./Feb. 2004.

\_\_\_\_\_. Evaluation of the contamination and disinfection methods of toothbrushes used by 24- to 48-month-old children. **J Dent Child**, Chicago, v. 73, n. 3, p. 152-158, Sep./Dec. 2006.

OLIVEIRA, C. B. et al. Avaliação da eficácia da descontaminação de escovas dentárias pelo uso do spray de óleo essencial da eugenia uniflora L (Pitanga). **Cienc Odontol Bras**, São José dos Campos, v. 12, n. 2, p. 29-34, abr./jun. 2009.

PAPAIOANNOU, W. et al. Contamination of interdental brushes by periodontopathogens. **Clin Oral Investig**, Berlin, v. 6, n. 2, p. 75-78, June 2002.

PASSOS, I. A. et al. Evaluation of physical conditions and storage of toothbrushes in day cares of João Pessoa – Paraíba, Brasil. **Rev Odontol UNESP**, Ribeirão Preto, v. 35, n. 4, p. 299-303, jul./ago. 2006.

PASTER, B. J. et al. The breadth of bacterial diversity in the human periodontal pocket and other oral sites. **Periodontol 2000**, Copenhagen, v. 42, n. 1, p. 80-87, Jan./Feb. 2006.

PEREIRA, R. C. et al. Avaliação Microbiológica das cerdas das escovas dentárias. **Rev Gaúcha Odontol**, Porto Alegre, v. 53, n. 2, p. 131-133, abr./jun. 2005.

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

RIBEIRO, D. A. et al. Chlorhexidine induces DNA damage in rat peripheral leukocytes and oral mucosal cells. **J Periodont Res**, Copenhagen, v. 39, n. 5, p. 358-361, Oct. 2004.

RIBEIRO, L. G. M.; HASHIZUME, L. N.; MALTZ, M. The effect of different formulations of chlorhexidine in reducing levels of mutans streptococci in the oral cavity: a systematic review of literature. **J Dent**, Guildford, v. 35, n. 5, p. 359-370, May 2007.

SAMRA, Z. et al. Evaluation of use of a new Chromogenic Agar in detection of urinary tract pathogens. **J Clin Microbiol**, Washington, v. 36, n. 4, p. 990-994, Apr. 1998.

SANTOS, S. S. F.; JORGE, A. O. C. Presença de enterobacteriaceae e pseudomonadaceae na cavidade bucal humana. **Rev Odontol UNESP**, Marília, v. 27, n. 2, p. 473-484, jul./dez. 1998.

\_\_\_\_\_. Sensibilidade in vitro de enterobacteriaceae e pseudomonadaceae isoladas da cavidade bucal humana a agentes antimicrobianos. **Pós-Grad Rev Fac Odontol São José dos Campos**, São José dos Campos, v. 2, n. 1, p. 41-45, jan./jun. 1999.

SARAVIA, M. E. et al. Viability of Streptococcus mutans toothbrush bristles. **J Dent Child**, Chicago, v. 75, n. 1, p. 29-32, Jan./Apr. 2008.

SARAVIA, M. E. **Quantificação e identificação morfológica e bioquímica para confirmação fenotípica de S. mutans e S. sobrinus, utilizando o meio de cultura SB-20 modificado: estudos in vitro e in vivo**. 2010. 93 f. Tese (Doutorado) – Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, 2010.

SATO, S. et al. Antimicrobial spray for toothbrush disinfection: an in vivo evaluation. **Quintessence Int**, Berlin, v. 36, n. 10, p. 812-816, Nov. 2005.

\_\_\_\_\_. Bacterial survival rate on toothbrushes and their decontamination with antimicrobial solutions. **J Appl Oral Sci**, Bauru, v. 12, n. 2, p. 99-103, Apr./June 2004.

SCARPARO, C. et al. Comparative evaluation of two commercial chromogenic media for detection and presumptive identification of urinary tract pathogens. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**, Berlin, v. 21, n. 4, p. 283-289, Apr. 2002.

SEDGLEY, C. M.; SAMARANAYAKE, 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.

SEMENOFF, T. A. D. V. et al. Efetividade in vitro de Aloe Vera in natura, gel de clorexidina a 0,12% e gel de clorexidina a 2% sobre Enterococcus faecalis. **Rev Odonto Ciênc**, Porto Alegre, v. 23, n. 3, p. 283-286, jul./set. 2008.

SEMENOFF, T. A. D. V.; SEMENOFF SEGUNDO, A.; BIASOLI, E. R. Efetividade antimicrobiana in vitro de exagatários bucais frente aos microorganismos Staphylococcus aureus e Pseudomonas aeruginosa. **Rev Odonto Ciênc**, Porto Alegre, v. 23, n. 4, p. 351-354, out./dez. 2008.

SHARMA, A.; CHOPRA, H. Chlorhexidine urticaria: a rare occurrence with a common mouthwash. **Indian J Dent Res**, Mumbai, v. 20, n. 3, p. 377-379, Oct. 2009.

SILVEIRA, C. S. et al. Avaliação da eficiência do portaescovas na prevenção da contaminação de escovas dentais por coliformes fecais e parasitas intestinais. **Rev Cons Reg Odontol Minas Gerais**, Belo Horizonte, v. 8, n. 1, p. 65-68, jan. 2002.

SOGI, S. H.; SUBBAREDDY, V. V.; KIRAN, S. N. Contamination of toothbrush at different time intervals and effectiveness of various disinfecting solutions in reducing the contamination of toothbrush. **J Indian Soc Pedod Prev Dent**, Chandigarh, v. 20, n. 3, p. 81-85, Sep. 2002.

SOUZA JÚNIOR, S. A.; CASTRO PRADO, M. A. Chlorhexidine digluconate induces mitotic recombination in diploid cells of Aspergillus nidulans. **Oral Dis**, Houndmills, v. 11, n. 3, p. 146-150, May 2005.

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.

SREENIVASAN, P. K.; GITTINS, E. The effects of a chlorhexidine mouthrinse on culturable microorganisms of the tongue and saliva. **Microbiol Res**, Jena, v. 159, n. 4, p. 365-370, Apr. 2004.

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

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.

TOMÁS, I. et al. In vivo bactericidal effect of 0,2% chlorhexidine but not 0,12% on salivary obligate anaerobes. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 53, n. 12, p. 1186-1191, Dec. 2008.

TORTORA, G. J.; FUNKE, B. R.; CASE, C. L. Crescimento Microbiano. In: **Microbiologia**. 8. ed. São Paulo: Artmed, 2005. p. 155-179.

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

TURNER, L. A. et al. A novel approach to controlling bacterial contamination on toothbrushes: chlorhexidine coating. **Int J Dent Hyg**, Oxford, v. 7, n. 4, p. 241-245, Nov. 2009.

WARREN, D. P. et al. The effects of toothpastes on the residual microbial contamination of toothbrushes. **J Am Dent Assoc**, Chicago, v. 132, n. 9, p. 1241-1245, Sep. 2001.

WETZEL, W. et al. Microbial contamination of toothbrushes with different principles of filament anchoring. **J Am Dent Assoc**, Chicago, v. 136, n. 6, p. 758-765, June 2005.

## APÊNDICES

## Apêndice A – Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa



UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA  
PRO-REITORIA DE PESQUISA  
COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP/UFJF  
36036900- JUIZ DE FORA - MG – BRASIL

### Parecer nº «211/2010»

**Protocolo CEP-UFJF:** «2129.189.2010» **FR:** «352787» **CAAE:** «0139.0.180.000-10»

**Projeto de Pesquisa:** «Avaliação da contaminação das escovas dentais de estudantes do curso de odontologia da Universidade Federal de Juiz de Fora»

**Area Temática:** «Grupo III»

**Pesquisador Responsável:** «Helio machado Siqueira Junior»

**Pesquisadores Participantes:** «Ivone de Oliveira Salgado, Beatriz da Cruz Barcellos Nunes, José Ricardo Gonçalves Reis, Cláudio Gallupo Diniz»

**Instituição:** «Faculdade de Odontologia»

#### Sumário/comentários do protocolo:

**Justificativa:** A qualidade física da escova dental é imprescindível para proporcionar resultados eficazes na limpeza dos dentes. Entretanto, existe um pequeno número de pessoas com consciência de que suas escovas dentais podem estar contaminadas por micro-organismos. As escovas dentais podem ser as responsáveis pela transmissão de doenças infecciosas como sífilis, difteria, tuberculose, hepatite e AIDS.

**Comentário:** Os argumentos apresentados justificam a realização do estudo.

**Objetivo(s):** Verificar a presença de contaminação nas escovas dentais de estudantes do curso de Odontologia da UFJF, de ambos os sexos, acadêmicos cursando respectivamente o início, o meio e o final do curso, como forma de avaliar também, comparativamente, o nível de conhecimento e aprendizado dos futuros profissionais..

**Comentário:** Os objetivos são coerentes com a justificativa.

**Metodologia:** Na 1ª etapa, cada acadêmico receberá um kit para higienização bucal para uso livre. Após 15 dias, devolverá o material ao pesquisador para submissão à análise microbiológica. Serão realizadas entrevistas para colher informações a respeito do modo de desinfecção e armazenamento. Para a 2ª etapa, será entregue um kit idêntico para higienização bucal, além de um protocolo de orientação para utilização, desinfecção e armazenamento da escova dental que deverá ser seguido pelos participantes. Após 15 dias, o material será devolvido ao pesquisador para submissão à análise microbiológica. Serão realizadas novas entrevistas. Com base nas respostas serão feitas análises estatísticas..

**Comentário:** A metodologia é adequada para responder a pergunta do estudo.

**Revisão e referências:** Devidamente citadas no texto, atualizadas e adequadas

**Orçamento:** Claro e adequado

**Fonte de custeio:** Pesquisadores

**Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE,** bem elaborado, claro e preciso.

**Qualificação do(a) pesquisador(a).** Satisfatória

Diante do exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/UFJF, de acordo com as atribuições definidas na Res. CNS 196/96, manifesta-se pela **aprovação** do protocolo de pesquisa proposto.

**Situação:** Projeto Aprovado  
Juiz de Fora, 17 de setembro de 2010

  
Prof. Drª Ieda Maria Vargas Dias  
Coordenadora – CEP/UFJF

RECEBI
DATA: ___/___/2010
ASS: _____

## Apêndice B – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA

PESQUISADOR RESPONSÁVEL: HÉLIO MACHADO SIQUEIRA JÚNIOR

ENDEREÇO: RUA JOAQUIM PEIXOTO RAMOS, 59/206 – CENTRO

CEP: 36.770-066 – CATAGUASES – MG

FONE: (32) 3241-2150

E-MAIL: HELIOMACHADOSIQUEIRAJR@HOTMAIL.COM

### **TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

O Sr. (a) está sendo convidado (a) como voluntário (a) a participar da pesquisa “AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DAS ESCOVAS DENTAIS DE ESTUDANTES DO CURSO DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA”. Este estudo cego se torna relevante tendo em vista que a literatura reporta que a higiene bucal interfere na diminuição da cárie dental, na saúde gengival, na estética e na relação social do indivíduo. Portanto, para a prevenção da placa bacteriana e demais doenças relacionadas, o controle mecânico é considerado um método fácil e eficaz, atuando contra a instalação de micro-organismos presentes nas cerdas das escovas dentais sofre a influência direta dos micro-organismos originários da cavidade bucal, mas a principal contaminação vem do ambiente onde as escovas de dente são armazenadas. Para verificar a presença de micro-organismos nas escovas dentais faz-se necessário o exame microbiológico coletando-se material em suas cerdas. Os estudantes receberão um conjunto para higienização bucal composto de escova dental de cerdas macias, creme dental, solução antisséptica, copos plásticos e serão orientados ou não quanto à higienização bucal, desinfecção e armazenamento da escova dental. Após 15 dias, as escovas dentais serão entregues pelos acadêmicos e acondicionadas individualmente em sacos plásticos, para submissão à análise microbiológica. Nesse momento, será realizada uma entrevista acerca dos hábitos de higiene bucal dos estudantes durante o período de participação na pesquisa. A análise microbiológica será realizada no Laboratório de Fisiologia e Genética Molecular Bacteriana da Universidade Federal de Juiz de Fora. Este estudo não oferece risco para os participantes tendo em vista que o material coletado para a pesquisa microbiológica será obtida das cerdas das escovas dentais, e o questionário a ser aplicado não infere em danos morais aos mesmos. Ao contrário, o estudo vai contribuir para o ensino da higienização e prevenção de contágio por bactérias nas escovas dentais dos usuários. Para participar deste estudo você não terá nenhum custo, nem receberá qualquer vantagem financeira. Você será esclarecido (a) sobre o estudo em qualquer aspecto que desejar e estará livre para participar ou recusar-se a participar. Poderá retirar seu consentimento ou interromper a participação a qualquer momento. A sua participação é voluntária e a recusa em participar não acarretará qualquer penalidade ou modificação na forma em que é atendido pelo pesquisador. O pesquisador irá tratar a sua identidade com padrões profissionais de sigilo. Os resultados da pesquisa estarão à sua disposição quando finalizada. Seu nome ou o material que indique sua participação não será liberado sem a sua permissão. O (A) Sr (a) não será identificado em nenhuma publicação que possa resultar deste estudo.

Este termo de consentimento encontra-se impresso em duas vias, sendo que uma cópia será arquivada pelo pesquisador responsável, no Centro de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da UFJF e a outra será fornecida a você.

Eu, \_\_\_\_\_, portador do documento de Identidade \_\_\_\_\_ fui informado (a) dos objetivos do estudo “AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO DAS ESCOVAS DENTAIS DE ESTUDANTES DO CURSO DE ODONTOLOGIA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE JUIZ DE FORA”, de maneira clara e detalhada e esclareci minhas dúvidas. Sei que a qualquer momento poderei solicitar novas informações e modificar minha decisão de participar se assim o desejar.

Declaro que concordo em participar desse estudo. Recebi uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido e me foi dada à oportunidade de ler e esclarecer as minhas dúvidas.

Juiz de Fora, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 2010.

Nome

Assinatura participante

Data

Nome

Assinatura pesquisador

Data

Nome

Assinatura testemunha

Data

Em caso de dúvidas com respeito aos aspectos éticos deste estudo, você poderá consultar o CEP- COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA/UFJF  
 CAMPUS UNIVERSITÁRIO DA UFJF  
 PRÓ-REITORIA DE PESQUISA  
 CEP: 36036.900  
 FONE: 32 3220 3788

**Apêndice C – Questionário I**  
**Antes da Entrega do Material**

**Identificação do Aluno**

Paciente nº: \_\_\_\_\_  
Idade: \_\_\_\_\_ anos.  
Sexo: ( ) M ( ) F

**História Médica**

1. Está fazendo algum tratamento atualmente?  
( ) Sim ( ) Não Há quanto tempo? \_\_\_\_\_
2. Está tomando algum medicamento?  
( ) Sim ( ) Não Qual? \_\_\_\_\_
3. Como pode descrever seu estado geral de saúde?  
( ) Bom ( ) Razoável ( ) Ruim

**História Odontológica**

1. Com que frequência faz a limpeza da escova dental?  
( ) 1 vez por semana ( ) 2 vezes por semana  
( ) 3 vezes por semana ( ) Diariamente  
( ) Outra
2. Utiliza algum produto para fazer limpeza das cerdas?  
( ) Sim ( ) Não  
  
Qual? \_\_\_\_\_
3. De que modo é feita a limpeza de sua escova dental?  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_
4. Onde você guarda sua escova dental?  
  
\_\_\_\_\_
5. O vaso sanitário fica no mesmo ambiente onde você guarda sua escova dental?  
( ) Sim ( ) Não

**Apêndice D – Questionário II**  
**Quando Recolher o Material – Final Fase 1**

**Identificação**

Aluno: \_\_\_\_\_

**História Médica**

1. Fez algum tratamento médico durante a pesquisa?  
( ) Sim ( ) Não Explique? \_\_\_\_\_
2. Tomou algum medicamento durante a pesquisa?  
( ) Sim ( ) Não Qual? \_\_\_\_\_
3. Teve alteração no seu estado geral de saúde?  
( ) Sim ( ) Não Explique? \_\_\_\_\_

**História Odontológica**

1. Você fez uso de enxaguatório/colutório bucal?  
( ) Sim ( ) Não Qual? \_\_\_\_\_
2. De que modo foi feita a limpeza da sua escova dental (assinale mais de uma, se necessário)  
( ) 1- Lavou a cabeça da escova com água corrente  
( ) 2- Removeu o excesso de água das cerdas  
( ) 3- Secou a cabeça da escova. Como? \_\_\_\_\_  
( ) 4- Não fez limpeza  
( ) 5- Outro método: \_\_\_\_\_
3. Utilizou algum produto para fazer limpeza das cerdas?  
( ) Sim ( ) Não  
Qual? \_\_\_\_\_
4. Usou protetor para a cabeça da escova dental?  
( ) Sim ( ) Não
5. A sua escova dental teve contato com outras escovas?  
( ) Sim ( ) Não
6. Qual a distância aproximada do vaso sanitário ao local que você guarda a sua escova? \_\_\_\_\_
7. Você tem o hábito de fechar a tampa do vaso sanitário quando utiliza a descarga? \_\_\_\_\_

**Apêndice E – Questionário III**  
**Quando Recolher o Material – Final Fase 2**

**Identificação**

Aluno: \_\_\_\_\_

Idade: \_\_\_\_\_ anos.

Sexo: ( ) M ( ) F

**História Médica**

1. Fez algum tratamento durante a pesquisa?  
 Sim  Não Explique? \_\_\_\_\_
2. Tomou algum medicamento?  
 Sim  Não Qual? \_\_\_\_\_
3. Teve alteração no seu estado geral de saúde?  
 Sim  Não Explique? \_\_\_\_\_

**História Odontológica**

1. Você seguiu as orientações fornecidas para a limpeza e armazenamento da sua escova dental?  
 Sim  Não
2. Onde você guardou sua escova dental?  
 1-Sobre a pia do banheiro.  
 2-Dentro do armário do banheiro.  
 3-Outro local \_\_\_\_\_
3. Usou protetor para a cabeça da escova dental?  
 Sim  Não
4. A sua escova dental teve contato com outras escovas?  
 Sim  Não
5. Você fechou a tampa do vaso sanitário quando utilizou a descarga? \_\_\_\_\_  
 Sim  Não
1. Você faz uso de enxaguatório/colutório bucal?  
 Sim  Não Qual? \_\_\_\_\_

## Apêndice F – Metodologia Estatística

### Frequency Table

#### sexo

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	1,00	16	29,6	29,6	29,6
	2,00	38	70,4	70,4	100,0
	Total	54	100,0	100,0	

#### tratamento médico

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	1,00	3	5,6	5,6	5,6
	2,00	51	94,4	94,4	100,0
	Total	54	100,0	100,0	

#### tomando medicamento

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	1,00	5	9,3	9,3	9,3
	2,00	49	90,7	90,7	100,0
	Total	54	100,0	100,0	

#### saude geral

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	1,00	53	98,1	98,1	98,1
	2,00	1	1,9	1,9	100,0
	Total	54	100,0	100,0	

#### frequencia limpeza escova

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	1,00	8	14,8	14,8	14,8
	2,00	1	1,9	1,9	16,7
	3,00	15	27,8	27,8	44,4
	4,00	1	1,9	1,9	46,3
	5,00	29	53,7	53,7	100,0
	Total	54	100,0	100,0	

**produto para limpeza**

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	1,00	1	1,9	1,9	1,9
	2,00	52	96,3	98,1	100,0
	Total	53	98,1	100,0	
Missing	System	1	1,9		
	Total	54	100,0		

**modo de limpeza**

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	1,00	32	59,3	59,3	59,3
	2,00	7	13,0	13,0	72,2
	3,00	5	9,3	9,3	81,5
	4,00	1	1,9	1,9	83,3
	5,00	1	1,9	1,9	85,2
	6,00	8	14,8	14,8	100,0
	Total	54	100,0	100,0	

**onde armazena**

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	1,00	29	53,7	53,7	53,7
	2,00	15	27,8	27,8	81,5
	3,00	8	14,8	14,8	96,3
	4,00	2	3,7	3,7	100,0
	Total	54	100,0	100,0	

**vaso sanitario no ambiente**

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	1,00	45	83,3	83,3	83,3
	2,00	9	16,7	16,7	100,0
	Total	54	100,0	100,0	

**colutorio**

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	1,00	14	25,9	25,9	25,9
	2,00	40	74,1	74,1	100,0
Total		54	100,0	100,0	

**modo de limpeza fase I**

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	1,00	14	25,9	25,9	25,9
	2,00	23	42,6	42,6	68,5
	3,00	11	20,4	20,4	88,9
	4,00	4	7,4	7,4	96,3
	5,00	2	3,7	3,7	100,0
Total		54	100,0	100,0	

**produto para limpeza-fase I**

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	2,00	54	100,0	100,0	100,0

**protetor de cabeça**

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	1,00	10	18,5	18,5	18,5
	2,00	44	81,5	81,5	100,0
Total		54	100,0	100,0	

**contato entre escovas**

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	1,00	26	48,1	48,1	48,1
	2,00	28	51,9	51,9	100,0
Total		54	100,0	100,0	

**distancia do vaso**

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	1,00	8	14,8	14,8	14,8
	2,00	39	72,2	72,2	87,0
	3,00	7	13,0	13,0	100,0
Total		54	100,0	100,0	

**fecha a tampa do vaso I**

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	1,00	30	55,6	55,6	55,6
	2,00	24	44,4	44,4	100,0
Total		54	100,0	100,0	

**seguiu orientaões**

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	1,00	53	98,1	98,1	98,1
	2,00	1	1,9	1,9	100,0
Total		54	100,0	100,0	

**onde guardou escova II**

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	1,00	24	44,4	44,4	44,4
	2,00	24	44,4	44,4	88,9
	3,00	6	11,1	11,1	100,0
Total		54	100,0	100,0	

**protetor cabeça-II**

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	1,00	6	11,1	11,1	11,1
	2,00	48	88,9	88,9	100,0
Total		54	100,0	100,0	

**contato entre escovas II**

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	1,00	25	46,3	46,3	46,3
	2,00	29	53,7	53,7	100,0
Total		54	100,0	100,0	

**fechou tampa vaso II**

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	1,00	38	70,4	70,4	70,4
	2,00	16	29,6	29,6	100,0
Total		54	100,0	100,0	

**GRUPO**

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	1,00	27	50,0	50,0	50,0
	2,00	27	50,0	50,0	100,0
Total		54	100,0	100,0	

**Frequency Table****Contaminação Fasel**

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	,00	27	50,0	50,0	50,0
	1,00	13	24,1	24,1	74,1
	2,00	11	20,4	20,4	94,4
	3,00	2	3,7	3,7	98,1
	4,00	1	1,9	1,9	100,0
Total		54	100,0	100,0	

**Contaminação FaselII**

		Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
Valid	,00	42	77,8	77,8	77,8
	1,00	7	13,0	13,0	90,7
	2,00	4	7,4	7,4	98,1
	3,00	1	1,9	1,9	100,0
	Total		54	100,0	100,0

## NPar Tests

### Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Contaminação Fasel	54	,8333	1,00471	,00	4,00
Contaminação Fasell	54	,3333	,70040	,00	3,00

## Wilcoxon Signed Ranks Test

### Test Statistics(b)

	Z	Asymp. Sig. (2-tailed)
Contaminação Fasell - Contaminação Fasel	-3,188(a)	,001

a Based on positive ranks.

b Wilcoxon Signed Ranks Test

## Frequencies

### Statistics

Período			Contaminação Fasel	Contaminação Fasell
2,00	N	Valid	18	18
		Missing	0	0
5,00	N	Valid	18	18
		Missing	0	0
9,00	N	Valid	18	18
		Missing	0	0

## Frequency Table

### Contaminação FaseI

Período			Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
2,00	Valid	,00	5	27,8	27,8	27,8
		1,00	7	38,9	38,9	66,7
		2,00	6	33,3	33,3	100,0
		3,00				
		4,00				
		Total		18	100,0	100,0
5,00	Valid	,00	9	50,0	50,0	50,0
		1,00	4	22,2	22,2	72,2
		2,00	5	27,8	27,8	100,0
		3,00				
		4,00				
		Total		18	100,0	100,0
9,00	Valid	,00	13	72,2	72,2	72,2
		1,00	2	11,1	11,1	83,3
		2,00				
		3,00	2	11,1	11,1	94,4
		4,00	1	5,6	5,6	100,0
		Total		18	100,0	100,0

### Contaminação FaseII

Período			Frequency	Percent	Valid Percent	Cumulative Percent
2,00	Valid	,00	13	72,2	72,2	72,2
		1,00	3	16,7	16,7	88,9
		2,00	1	5,6	5,6	94,4
		3,00	1	5,6	5,6	100,0
		Total		18	100,0	100,0
5,00	Valid	,00	11	61,1	61,1	61,1
		1,00	4	22,2	22,2	83,3
		2,00	3	16,7	16,7	100,0
		3,00				
		Total		18	100,0	100,0
9,00	Valid	,00	18	100,0	100,0	100,0
		1,00				
		2,00				
		3,00				
		Total		18	100,0	100,0

## NPar Tests

### Descriptive Statistics

Período		N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
2,00	Contaminação Fasel	18	1,0556	,80237	,00	2,00
	Contaminação Fasell	18	,4444	,85559	,00	3,00
5,00	Contaminação Fasel	18	,7778	,87820	,00	2,00
	Contaminação Fasell	18	,5556	,78382	,00	2,00
9,00	Contaminação Fasel	18	,6667	1,28338	,00	4,00
	Contaminação Fasell	18	,0000	,00000	,00	,00

## Wilcoxon Signed Ranks Test

### Test Statistics(b)

	Período					
	2,00		5,00		9,00	
	Z	Asymp. Sig. (2-tailed)	Z	Asymp. Sig. (2-tailed)	Z	Asymp. Sig. (2-tailed)
Contaminação Fasell - Contaminação Fasel	-2,653(a)	,008	-,884(a)	,377	-2,041(a)	,041

a Based on positive ranks.

b Wilcoxon Signed Ranks Test

## Frequencies

### Statistics

GRUPO		Contaminação Fasel	Contaminação Fasell
1,00	N Valid	27	27
	Missing	0	0
2,00	N Valid	27	27
	Missing	0	0

## NPar Tests

### Descriptive Statistics

GRUPO		N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
1,00	Contaminação Fasel	27	,8148	,87868	,00	3,00
	Contaminação Fasell	27	,1481	,45605	,00	2,00
2,00	Contaminação Fasel	27	,8519	1,13353	,00	4,00
	Contaminação Fasell	27	,5185	,84900	,00	3,00



## Correlations

		frequencia limpeza escova	Contaminação Fasel
frequencia limpeza escova	Pearson Correlation	1	-,126
	Sig. (2-tailed)		,363
	N	54	54
Contaminação Fasel	Pearson Correlation	-,126	1
	Sig. (2-tailed)	,363	
	N	54	54

## Crosstabs

### Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Contaminação Fasel * produto para limpeza	53	98,1%	1	1,9%	54	100,0%

### Contaminação Fasel \* produto para limpeza Crosstabulation

		produto para limpeza		Total	
		1,00	2,00	1,00	
		Contaminação Fasel	,00	Count	1
		% within produto para limpeza	100,0%	48,1%	49,1%
	1,00	Count	0	13	13
		% within produto para limpeza	,0%	25,0%	24,5%
	2,00	Count	0	11	11
		% within produto para limpeza	,0%	21,2%	20,8%
	3,00	Count	0	2	2
		% within produto para limpeza	,0%	3,8%	3,8%
	4,00	Count	0	1	1
		% within produto para limpeza	,0%	1,9%	1,9%
Total		Count	1	52	53
		% within produto para limpeza	100,0%	100,0%	100,0%



## Crosstabs

### Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Contaminação Fasel * onde armazenada	54	100,0%	0	,0%	54	100,0%

### Contaminação Fasel \* onde armazenada Crosstabulation

		onde armazenada				Total	
		1,00	2,00	3,00	4,00	1,00	
Contaminação Fasel	,00	Count	14	9	4	0	27
		% within onde armazenada	48,3%	60,0%	50,0%	,0%	50,0%
	1,00	Count	8	2	2	1	13
		% within onde armazenada	27,6%	13,3%	25,0%	50,0%	24,1%
	2,00	Count	4	4	2	1	11
		% within onde armazenada	13,8%	26,7%	25,0%	50,0%	20,4%
	3,00	Count	2	0	0	0	2
		% within onde armazenada	6,9%	,0%	,0%	,0%	3,7%
	4,00	Count	1	0	0	0	1
		% within onde armazenada	3,4%	,0%	,0%	,0%	1,9%
Total		Count	29	15	8	2	54
		% within onde armazenada	100,0 %	100,0 %	100,0 %	100,0 %	100,0 %

## NPar Tests

### Kruskal-Wallis Test

#### Test Statistics(a,b)

	Chi-Square	df	Asymp. Sig.
Contaminação Fasel	,368	2	,832

a Kruskal Wallis Test

b Grouping Variable: onde armazenada

## Crosstabs

### Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Contaminação Fasel * vaso sanitario no ambiente	54	100,0%	0	,0%	54	100,0%

### Contaminação Fasel \* vaso sanitario no ambiente Crosstabulation

		vaso sanitario no ambiente		Total	
		1,00	2,00	1,00	
Contaminação Fasel	.00	Count	23	4	27
		% within vaso sanitario no ambiente	51,1%	44,4%	50,0%
1,00	Count	11	2	13	
	% within vaso sanitario no ambiente	24,4%	22,2%	24,1%	
2,00	Count	8	3	11	
	% within vaso sanitario no ambiente	17,8%	33,3%	20,4%	
3,00	Count	2	0	2	
	% within vaso sanitario no ambiente	4,4%	,0%	3,7%	
4,00	Count	1	0	1	
	% within vaso sanitario no ambiente	2,2%	,0%	1,9%	
Total	Count	45	9	54	
	% within vaso sanitario no ambiente	100,0%	100,0%	100,0%	

## NPar Tests

## Mann-Whitney Test

### Test Statistics(a)

	Mann-Whitney U	Wilcoxon W	Z	Asymp. Sig. (2-tailed)
Contaminação Fasel	188,000	1223,000	-,364	,716

a Grouping Variable: vaso sanitario no ambiente

## Crosstabs

### Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Contaminação Fasel * colutorio	54	100,0%	0	,0%	54	100,0%

### Contaminação Fasel \* colutorio Crosstabulation

		colutorio		Total	
		1,00	2,00	1,00	
Contaminação Fasel	,00	Count	7	20	27
		% within colutorio	50,0%	50,0%	50,0%
	1,00	Count	2	11	13
		% within colutorio	14,3%	27,5%	24,1%
	2,00	Count	5	6	11
		% within colutorio	35,7%	15,0%	20,4%
	3,00	Count	0	2	2
		% within colutorio	,0%	5,0%	3,7%
	4,00	Count	0	1	1
		% within colutorio	,0%	2,5%	1,9%
Total		Count	14	40	54
		% within colutorio	100,0%	100,0%	100,0%

## NPar Tests

### Mann-Whitney Test

#### Test Statistics(a)

	Mann-Whitney U	Wilcoxon W	Z	Asymp. Sig. (2-tailed)
--	----------------	------------	---	------------------------

Contaminação Fasel	269,000	1089,000	-,235	,814
--------------------	---------	----------	-------	------

a Grouping Variable: colutorio

## Crosstabs

### Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Contaminação Fasel * modo de limpeza fase I	54	100,0%	0	,0%	54	100,0%

### Contaminação Fasel \* modo de limpeza fase I Crosstabulation

		modo de limpeza fase I					Total
		1,00	2,00	3,00	4,00	5,00	1,00
Contaminação Fasel	Count	7	10	8	1	1	27
	% within modo de limpeza fase I	50,0%	43,5%	72,7%	25,0%	50,0%	50,0%
1,00	Count	3	7	1	2	0	13
	% within modo de limpeza fase I	21,4%	30,4%	9,1%	50,0%	,0%	24,1%
2,00	Count	3	6	1	1	0	11
	% within modo de limpeza fase I	21,4%	26,1%	9,1%	25,0%	,0%	20,4%
3,00	Count	0	0	1	0	1	2
	% within modo de limpeza fase I	,0%	,0%	9,1%	,0%	50,0%	3,7%
4,00	Count	1	0	0	0	0	1
	% within modo de limpeza fase I	7,1%	,0%	,0%	,0%	,0%	1,9%
Total	Count	14	23	11	4	2	54
	% within modo de limpeza fase I	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

## NPar Tests

## Kruskal-Wallis Test

**Test Statistics(a,b)**

	Chi-Square	df	Asymp. Sig.
Contaminação Fasel	1,530	2	,465

a Kruskal Wallis Test

b Grouping Variable: modo de limpeza fase I

**Crosstabs**

**Case Processing Summary**

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Contaminação Fasel * produto para limpeza-fase I	54	100,0%	0	,0%	54	100,0%

**Contaminação Fasel \* produto para limpeza-fase I Crosstabulation**

		produto para limpeza-fase I		Total
		2,00		2,00
Contaminação Fasel	,00	Count	27	27
		% within produto para limpeza-fase I	50,0%	50,0%
1,00	Count	13	13	
		% within produto para limpeza-fase I	24,1%	24,1%
2,00	Count	11	11	
		% within produto para limpeza-fase I	20,4%	20,4%
3,00	Count	2	2	
		% within produto para limpeza-fase I	3,7%	3,7%
4,00	Count	1	1	
		% within produto para limpeza-fase I	1,9%	1,9%
Total	Count	54	54	
		% within produto para limpeza-fase I	100,0%	100,0%

## Crosstabs

### Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Contaminação Fasel * protetor de cabeça	54	100,0%	0	,0%	54	100,0%

### Contaminação Fasel \* protetor de cabeça Crosstabulation

		protetor de cabeça		Total	
		1,00	2,00	1,00	
Contaminação Fasel	,00	Count	6	21	27
		% within protetor de cabeça	60,0%	47,7%	50,0%
	1,00	Count	1	12	13
		% within protetor de cabeça	10,0%	27,3%	24,1%
	2,00	Count	3	8	11
		% within protetor de cabeça	30,0%	18,2%	20,4%
	3,00	Count	0	2	2
		% within protetor de cabeça	,0%	4,5%	3,7%
	4,00	Count	0	1	1
		% within protetor de cabeça	,0%	2,3%	1,9%
Total		Count	10	44	54
		% within protetor de cabeça	100,0%	100,0%	100,0%

## NPar Tests

## Mann-Whitney Test

### Test Statistics(a)

	Mann-Whitney U	Wilcoxon W	Z	Asymp. Sig. (2-tailed)
Contaminação Fasel	201,000	256,000	-,458	,647

a. Grouping Variable: protetor de cabeça

## Crosstabs

### Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Contaminação Fasel * contato entre escovas	54	100,0%	0	,0%	54	100,0%

### Contaminação Fasel \* contato entre escovas Crosstabulation

		contato entre escovas		Total	
		1,00	2,00	1,00	
Contaminação Fasel	.00	Count	8	19	27
		% within contato entre escovas	30,8%	67,9%	50,0%
	1,00	Count	9	4	13
		% within contato entre escovas	34,6%	14,3%	24,1%
	2,00	Count	7	4	11
		% within contato entre escovas	26,9%	14,3%	20,4%
	3,00	Count	1	1	2
		% within contato entre escovas	3,8%	3,6%	3,7%
	4,00	Count	1	0	1
		% within contato entre escovas	3,8%	,0%	1,9%
Total		Count	26	28	54
		% within contato entre escovas	100,0%	100,0%	100,0%

## NPar Tests

## Mann-Whitney Test

### Test Statistics(a)

	Mann-Whitney U	Wilcoxon W	Z	Asymp. Sig. (2-tailed)
Contaminação Fasel	232,500	638,500	-2,465	,014

a. Grouping Variable: contato entre escovas

## Crosstabs

### Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Contaminação Fasel * distancia do vaso	54	100,0%	0	,0%	54	100,0%

### Contaminação Fasel \* distancia do vaso Crosstabulation

		distancia do vaso			Total	
		1,00	2,00	3,00	1,00	
Contaminação Fasel	,00	Count	4	20	3	27
		% within distancia do vaso	50,0%	51,3%	42,9%	50,0%
	1,00	Count	3	8	2	13
		% within distancia do vaso	37,5%	20,5%	28,6%	24,1%
	2,00	Count	1	8	2	11
		% within distancia do vaso	12,5%	20,5%	28,6%	20,4%
	3,00	Count	0	2	0	2
		% within distancia do vaso	,0%	5,1%	,0%	3,7%
4,00	Count	0	1	0	1	
	% within distancia do vaso	,0%	2,6%	,0%	1,9%	
Total	Count	8	39	7	54	
	% within distancia do vaso	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	

## Correlations

### Correlations

		Contaminação Fasel	distancia do vaso
Contaminação Fasel	Pearson Correlation	1	,065
	Sig. (2-tailed)		,642
	N	54	54
distancia do vaso	Pearson Correlation	,065	1
	Sig. (2-tailed)	,642	
	N	54	54

### Crosstabs

#### Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Contaminação Fasel * fecha a tampa do vaso I	54	100,0%	0	,0%	54	100,0%

#### Contaminação Fasel \* fecha a tampa do vaso I Crosstabulation

		fecha a tampa do vaso I		Total	
		1,00	2,00	1,00	
Contaminação Fasel	,00	Count	15	12	27
		% within fecha a tampa do vaso I	50,0%	50,0%	50,0%
	1,00	Count	5	8	13
		% within fecha a tampa do vaso I	16,7%	33,3%	24,1%
	2,00	Count	9	2	11
		% within fecha a tampa do vaso I	30,0%	8,3%	20,4%
3,00	Count	1	1	2	
	% within fecha a tampa do vaso I	3,3%	4,2%	3,7%	
4,00	Count	0	1	1	
	% within fecha a tampa do vaso I	,0%	4,2%	1,9%	
Total	Count	30	24	54	

% within fecha a tampa do vaso I	100,0%	100,0%	100,0%
----------------------------------	--------	--------	--------

## NPar Tests

### Mann-Whitney Test

#### Ranks

	fecha a tampa do vaso I	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Contaminação Fasel	1,00	30	28,22	846,50
	2,00	24	26,60	638,50
	Total	54		

#### Test Statistics(a)

	Mann-Whitney U	Wilcoxon W	Z	Asymp. Sig. (2-tailed)
Contaminação Fasel	338,500	638,500	-,405	,685

a Grouping Variable: fecha a tampa do vaso I

## Crosstabs

### Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Contaminação Fasel * seguiu orientações	54	100,0%	0	,0%	54	100,0%

### Contaminação Fasel \* seguiu orientações Crosstabulation

		seguiu orientações		Total
		1,00	2,00	1,00
Contaminação Fasel	Count	41	1	42
	% within seguiu orientações	77,4%	100,0%	77,8%

	1,00	Count	7	0	7
		% within seguiu orientações	13,2%	,0%	13,0%
	2,00	Count	4	0	4
		% within seguiu orientações	7,5%	,0%	7,4%
	3,00	Count	1	0	1
		% within seguiu orientações	1,9%	,0%	1,9%
Total		Count	53	1	54
		% within seguiu orientações	100,0%	100,0%	100,0%

## Crosstabs

### Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Contaminação Fasell * onde guardou escova II	54	100,0%	0	,0%	54	100,0%

### Contaminação Fasell \* onde guardou escova II Crosstabulation

			onde guardou escova II			Total
			1,00	2,00	3,00	1,00
Contaminação Fasell	,00	Count	20	19	3	42
		% within onde guardou escova II	83,3%	79,2%	50,0%	77,8%
	1,00	Count	2	2	3	7
		% within onde guardou escova II	8,3%	8,3%	50,0%	13,0%
	2,00	Count	2	2	0	4
		% within onde guardou escova II	8,3%	8,3%	,0%	7,4%
3,00	Count	0	1	0	1	
	% within onde guardou escova II	,0%	4,2%	,0%	1,9%	
Total		Count	24	24	6	54
		% within onde guardou escova II	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

## NPar Tests

### Kruskal-Wallis Test

Test Statistics(a,b)

	Chi-Square	df	Asymp. Sig.
Contaminação Fasell	2,190	2	,335

a Kruskal Wallis Test

b Grouping Variable: onde guardou escova II

## Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Contaminação Fasell * protetor cabeça-II	54	100,0%	0	,0%	54	100,0%

Contaminação Fasell \* protetor cabeça-II Crosstabulation

		protetor cabeça-II		Total	
		1,00	2,00	1,00	
Contaminação Fasell	,00	Count	5	37	42
		% within protetor cabeça-II	83,3%	77,1%	77,8%
	1,00	Count	1	6	7
		% within protetor cabeça-II	16,7%	12,5%	13,0%
	2,00	Count	0	4	4
		% within protetor cabeça-II	,0%	8,3%	7,4%
Total	3,00	Count	0	1	1
		% within protetor cabeça-II	,0%	2,1%	1,9%
Total		Count	6	48	54
		% within protetor cabeça-II	100,0%	100,0%	100,0%

## NPar Tests

## Mann-Whitney Test

### Test Statistics(b)

	Mann-Whitney U	Wilcoxon W	Z	Asymp. Sig. (2-tailed)	Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]
Contaminação Fasell	132,500	153,500	-,436	,663	,758(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: protetor cabeça-II

## Crosstabs

### Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Contaminação Fasell * contato entre escovas II	54	100,0%	0	,0%	54	100,0%

### Contaminação Fasell \* contato entre escovas II Crosstabulation

		contato entre escovas II		Total	
		1,00	2,00	1,00	
Contaminação Fasell	,00	Count	16	26	42
		% within contato entre escovas II	64,0%	89,7%	77,8%
	1,00	Count	4	3	7
		% within contato entre escovas II	16,0%	10,3%	13,0%
	2,00	Count	4	0	4
		% within contato entre escovas II	16,0%	,0%	7,4%
Total	3,00	Count	1	0	1
		% within contato entre escovas II	4,0%	,0%	1,9%
		Count	25	29	54
	% within contato entre escovas II	100,0%	100,0%	100,0%	

## NPar Tests

### Mann-Whitney Test

Test Statistics(a)

	Mann-Whitney U	Wilcoxon W	Z	Asymp. Sig. (2-tailed)
Contaminação Fasell	262,000	697,000	-2,401	,016

a. Grouping Variable: contato entre escovas II

## Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Contaminação Fasell * fechou tampa vaso II	54	100,0%	0	,0%	54	100,0%

Contaminação Fasell \* fechou tampa vaso II Crosstabulation

		fechou tampa vaso II		Total	
		1,00	2,00	1,00	
Contaminação Fasell	,00	Count	29	13	42
		% within fechou tampa vaso II	76,3%	81,3%	77,8%
	1,00	Count	5	2	7
		% within fechou tampa vaso II	13,2%	12,5%	13,0%
	2,00	Count	4	0	4
		% within fechou tampa vaso II	10,5%	,0%	7,4%
Total	3,00	Count	0	1	1
		% within fechou tampa vaso II	,0%	6,3%	1,9%
		Count	38	16	54
	% within fechou tampa vaso II	100,0%	100,0%	100,0%	

## NPar Tests

### Mann-Whitney Test

Test Statistics(a)

	Mann-Whitney U	Wilcoxon W	Z	Asymp. Sig. (2-tailed)
Contaminação Fasel	289,500	425,500	-,378	,705

a. Grouping Variable: fechou tampa vaso II

## Correlations

Correlations

		idade	Contaminação Fasel	Contaminação Fasel
Idade	Pearson Correlation	1	-,169	-,248
	Sig. (2-tailed)		,221	,070
	N	54	54	54
Contaminação Fasel	Pearson Correlation	-,169	1	,268(*)
	Sig. (2-tailed)	,221		,050
	N	54	54	54
Contaminação Fasel	Pearson Correlation	-,248	,268(*)	1
	Sig. (2-tailed)	,070	,050	
	N	54	54	54

\* Correlation is significant at the 0.05 level (2-tailed).

## Crosstabs

Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Contaminação Fasel * sexo	54	100,0%	0	,0%	54	100,0%
Contaminação Fasel * sexo	54	100,0%	0	,0%	54	100,0%

Contaminação Fasel \* sexo Crosstabulation

		sexo		Total	
		1,00	2,00	1,00	
Contaminação Fasel	,00	Count	7	20	27
		% within sexo	43,8%	52,6%	50,0%
	1,00	Count	4	9	13
		% within sexo	25,0%	23,7%	24,1%
	2,00	Count	4	7	11
		% within sexo	25,0%	18,4%	20,4%
	3,00	Count	0	2	2
		% within sexo	,0%	5,3%	3,7%
	4,00	Count	1	0	1
		% within sexo	6,3%	,0%	1,9%
Total		Count	16	38	54
		% within sexo	100,0%	100,0%	100,0%

#### Contaminação Fasel \* sexo Crosstabulation

		sexo		Total	
		1,00	2,00	1,00	
Contaminação Fasel	,00	Count	11	31	42
		% within sexo	68,8%	81,6%	77,8%
	1,00	Count	4	3	7
		% within sexo	25,0%	7,9%	13,0%
	2,00	Count	1	3	4
		% within sexo	6,3%	7,9%	7,4%
	3,00	Count	0	1	1
		% within sexo	,0%	2,6%	1,9%
Total		Count	16	38	54
		% within sexo	100,0%	100,0%	100,0%

## NPar Tests

### Mann-Whitney Test

#### Test Statistics(a)

	Mann-Whitney U	Wilcoxon W	Z	Asymp. Sig. (2-tailed)
Contaminação Fasel	272,000	1013,000	-,656	,512

Contaminação Fasell	272,000	1013,000	-,835	,404
---------------------	---------	----------	-------	------

a Grouping Variable: sexo

## Crosstabs

### Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Contaminação Fasell * tratamento médico	54	100,0%	0	,0%	54	100,0%
Contaminação Fasell * tratamento médico	54	100,0%	0	,0%	54	100,0%

### Contaminação Fasell \* tratamento médico Crosstabulation

		tratamento médico		Total	
		1,00	2,00	1,00	
Contaminação Fasell	,00	Count	2	25	27
		% within tratamento médico	66,7%	49,0%	50,0%
	1,00	Count	1	12	13
		% within tratamento médico	33,3%	23,5%	24,1%
	2,00	Count	0	11	11
		% within tratamento médico	,0%	21,6%	20,4%
	3,00	Count	0	2	2
		% within tratamento médico	,0%	3,9%	3,7%
	4,00	Count	0	1	1
		% within tratamento médico	,0%	2,0%	1,9%
Total		Count	3	51	54
		% within tratamento médico	100,0%	100,0%	100,0%

### Contaminação Fasell \* tratamento médico Crosstabulation

	tratamento médico	Total
--	-------------------	-------

		1,00	2,00	1,00	
Contaminação Fasel	,00	Count	3	39	42
		% within tratamento médico	100,0%	76,5%	77,8%
1,00		Count	0	7	7
		% within tratamento médico	,0%	13,7%	13,0%
2,00		Count	0	4	4
		% within tratamento médico	,0%	7,8%	7,4%
3,00		Count	0	1	1
		% within tratamento médico	,0%	2,0%	1,9%
Total		Count	3	51	54
		% within tratamento médico	100,0%	100,0%	100,0%

## NPar Tests

### Mann-Whitney Test

#### Test Statistics(b)

	Mann-Whitney U	Wilcoxon W	Z	Asymp. Sig. (2-tailed)	Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]
Contaminação Fasel	56,000	62,000	-,838	,402	,470(a)
Contaminação Fasel	58,500	64,500	-,936	,349	,516(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: tratamento médico

## Crosstabs

#### Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Contaminação Fasel * tomando medicamento	54	100,0%	0	,0%	54	100,0%
Contaminação Fasel * tomando medicamento	54	100,0%	0	,0%	54	100,0%

**Contaminação Fasel \* tomando medicamento Crosstabulation**

			tomando medicamento		Total
			1,00	2,00	1,00
Contaminação Fasel	,00	Count	4	23	27
		% within tomando medicamento	80,0%	46,9%	50,0%
	1,00	Count	0	13	13
		% within tomando medicamento	,0%	26,5%	24,1%
	2,00	Count	1	10	11
		% within tomando medicamento	20,0%	20,4%	20,4%
	3,00	Count	0	2	2
		% within tomando medicamento	,0%	4,1%	3,7%
	4,00	Count	0	1	1
		% within tomando medicamento	,0%	2,0%	1,9%
Total		Count	5	49	54
		% within tomando medicamento	100,0%	100,0%	100,0%

**Contaminação Fasell \* tomando medicamento Crosstabulation**

			tomando medicamento		Total
			1,00	2,00	1,00
Contaminação Fasell	,00	Count	4	38	42
		% within tomando medicamento	80,0%	77,6%	77,8%
	1,00	Count	1	6	7
		% within tomando medicamento	20,0%	12,2%	13,0%
	2,00	Count	0	4	4
		% within tomando medicamento	,0%	8,2%	7,4%
	3,00	Count	0	1	1
		% within tomando medicamento	,0%	2,0%	1,9%
Total		Count	5	49	54
		% within tomando medicamento	100,0%	100,0%	100,0%

## NPar Tests

### Mann-Whitney Test

#### Test Statistics(b)

	Mann-Whitney U	Wilcoxon W	Z	Asymp. Sig. (2-tailed)	Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]
Contaminação Fasel	87,000	102,000	-1,147	,251	,306(a)
Contaminação Fasell	117,000	132,000	-,226	,821	,885(a)

a Not corrected for ties.

b Grouping Variable: tomando medicamento

## Crosstabs

#### Case Processing Summary

	Cases					
	Valid		Missing		Total	
	N	Percent	N	Percent	N	Percent
Contaminação Fasel * saude geral	54	100,0%	0	,0%	54	100,0%
Contaminação Fasell * saude geral	54	100,0%	0	,0%	54	100,0%

#### Contaminação Fasel \* saude geral Crosstabulation

		saude geral		Total	
		1,00	2,00		
Contaminação Fasel	,00	Count	26	1	27
		% within saude geral	49,1%	100,0%	50,0%
1,00	Count	13	0	13	
	% within saude geral	24,5%	,0%	24,1%	
2,00	Count	11	0	11	
	% within saude geral	20,8%	,0%	20,4%	
3,00	Count	2	0	2	
	% within saude geral	3,8%	,0%	3,7%	

	4,00	Count	1	0	1
		% within saude geral	1,9%	,0%	1,9%
Total		Count	53	1	54
		% within saude geral	100,0%	100,0%	100,0%

### Contaminação Fasell \* saude geral Crosstabulation

		saude geral		Total	
		1,00	2,00	1,00	
Contaminação Fasell	,00	Count	41	1	42
		% within saude geral	77,4%	100,0%	77,8%
	1,00	Count	7	0	7
		% within saude geral	13,2%	,0%	13,0%
	2,00	Count	4	0	4
		% within saude geral	7,5%	,0%	7,4%
	3,00	Count	1	0	1
		% within saude geral	1,9%	,0%	1,9%
Total		Count	53	1	54
		% within saude geral	100,0%	100,0%	100,0%

## Descriptives

## NPar Tests

### Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
E_coli_Fasel	54	,0500	,20809	,00	,90
KES_Fasel	54	3,5815	12,16343	,00	70,00
halo_marron_Fasel	54	,0000	,00000	,00	,00
Pseudomonas_Fasel	54	1,6130	5,18307	,00	32,00
dourada_opaca_Fasel	54	,0000	,00000	,00	,00
Estreptococos_Fasel	54	,1093	,68907	,00	5,00
E_coli_Fasell	54	,0167	,12247	,00	,90
KES_Fasell	54	1,5093	5,93685	,00	31,00
halo_marron_Fasell	54	,0000	,00000	,00	,00

Pseudomonas_Fasell	54	,5259	2,74351	,00	20,00
dourada_opaca_Fasell	54	,0000	,00000	,00	,00
Estreptococos_Fasell	54	,0000	,00000	,00	,00

## Wilcoxon Signed Ranks Test

### Test Statistics(d)

	Período					
	2,00		5,00		9,00	
	Z	Asymp. Sig. (2-tailed)	Z	Asymp. Sig. (2-tailed)	Z	Asymp. Sig. (2-tailed)
E_coli_Fasell - E_coli_Fasel	-1,000(a)	,317	,000(c)	1,000	-1,732(b)	,083
KES_Fasell - KES_Fasel	-,658(b)	,511	-1,408(b)	,159	-2,000(b)	,046
halo_marron_Fasell - halo_marron_Fasel	,000(c)	1,000	,000(c)	1,000	,000(c)	1,000
Pseudomonas_Fasell - Pseudomonas_Fasel	-1,614(b)	,107	-1,186(b)	,236	-1,633(b)	,102
dourada_opaca_Fasell - dourada_opaca_Fasel	,000(c)	1,000	,000(c)	1,000	,000(c)	1,000
Estreptococos_Fasell - Estreptococos_Fasel	,000(c)	1,000	,000(c)	1,000	-1,342(b)	,180

a Based on negative ranks.

b Based on positive ranks.

c The sum of negative ranks equals the sum of positive ranks.

d Wilcoxon Signed Ranks Test

## NPar Tests

### Descriptive Statistics

GRUPO		N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum	
1,00	E_coli_Fasel	27	,0333	,17321	,00	,90	
	KES_Fasel	27	2,6778	7,80549	,00	38,00	
	halo_marron_Fasel	27	,0000	,00000	,00	,00	
	Pseudomonas_Fasel	27	,4556	,73554	,00	3,00	
	dourada_opaca_Fasel	27	,0000	,00000	,00	,00	
	Estreptococos_Fasel	27	,0000	,00000	,00	,00	
	E_coli_Fasell	27	,0000	,00000	,00	,00	
	KES_Fasell	27	,0667	,24019	,00	,90	
	halo_marron_Fasell	27	,0000	,00000	,00	,00	
	Pseudomonas_Fasell	27	,0667	,24019	,00	,90	
	dourada_opaca_Fasell	27	,0000	,00000	,00	,00	
	Estreptococos_Fasell	27	,0000	,00000	,00	,00	
	2,00	E_coli_Fasel	27	,0667	,24019	,00	,90
		KES_Fasel	27	4,4852	15,45855	,00	70,00
halo_marron_Fasel		27	,0000	,00000	,00	,00	
Pseudomonas_Fasel		27	2,7704	7,17205	,00	32,00	
dourada_opaca_Fasel		27	,0000	,00000	,00	,00	
Estreptococos_Fasel		27	,2185	,97114	,00	5,00	
E_coli_Fasell		27	,0333	,17321	,00	,90	
KES_Fasell		27	2,9519	8,21389	,00	31,00	
halo_marron_Fasell		27	,0000	,00000	,00	,00	
Pseudomonas_Fasell		27	,9852	3,85324	,00	20,00	
dourada_opaca_Fasell		27	,0000	,00000	,00	,00	
Estreptococos_Fasell		27	,0000	,00000	,00	,00	

## Wilcoxon Signed Ranks Test

### Test Statistics(c)

	GRUPO			
	1,00		2,00	
	Z	Asymp. Sig. (2-tailed)	Z	Asymp. Sig. (2-tailed)
E_coli_Fasell - E_coli_Fasel	-1,000(a)	,317	-,577(a)	,564
KES_Fasell - KES_Fasel	-2,871(a)	,004	-,323(a)	,747
halo_marron_Fasell - halo_marron_Fasel	,000(b)	1,000	,000(b)	1,000
Pseudomonas_Fasell - Pseudomonas_Fasel	-2,488(a)	,013	-1,332(a)	,183
dourada_opaca_Fasell - dourada_opaca_Fasel	,000(b)	1,000	,000(b)	1,000
Estreptococos_Fasell - Estreptococos_Fasel	,000(b)	1,000	-1,342(a)	,180

a Based on positive ranks.

b The sum of negative ranks equals the sum of positive ranks.

c Wilcoxon Signed Ranks Test