

Avaliação de soluções antibacterianas na descontaminação de escovas dentais de pré-escolares

*Rômulo Augusto da Costa CHAVES^a, Daniella Mousinho Lustosa RIBEIRO^a,
José Eduardo ZAIA^b, Everton Giovanni ALVES^c, Maria Gorete Mendes de SOUZA^c,
Carlos Henrique Gomes MARTINS^c, Soraya Fernandes MESTRINER^d*

^aGraduandos do curso de Odontologia, Universidade de Franca,
14404-600 Franca - SP, Brasil

^bDocente da disciplina de Bioestatística da Universidade de Franca,
14404-600 Franca - SP, Brasil

^cPesquisadores do Laboratório de Pesquisa em Microbiologia Aplicada - LaPeMA,
Universidade de Franca – 14404-600 Franca - SP, Brasil

^dDepartamento de Clínica Infantil, Odontologia Preventiva e Social,
Faculdade de Odontologia, USP, 14040-900 Ribeirão Preto - SP, Brasil

Chaves RAC, Ribeiro DML, Zaia JE, Alves EG, Souza MGM, Martins CHG, Mestriner SF. Evaluation of antibacterial solutions in the decontamination of toothbrushes collected from preschool students. Rev Odontol UNESP. 2007; 36(1):29-33.

Resumo: O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito antimicrobiano de diferentes soluções desinfetantes na descontaminação de escovas dentais de pré-escolares. Foram selecionados aleatoriamente 30 pré-escolares, com idade entre 6-7 anos, de uma escola municipal de Franca-SP. Cada pré-escolar recebeu uma escova dental, que foi utilizada com dentífrício durante cinco dias consecutivos na escovação realizada após a ingestão da merenda escolar. Após a escovação, as escovas foram enxaguadas com água de torneira e borrifadas com água deionizada esterilizada (1), hipoclorito de sódio a 1% (2) e ácido acético a 0,05% (3), sendo uma solução por semana. Ao final de cada semana, cada estudante recebeu uma nova escova, e as já utilizadas eram recolhidas, introduzidas em um tubo de ensaio contendo meio de cultura e encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia da Universidade de Franca. As amostras foram sonificadas, diluídas, alíquotadas e semeadas nos seguintes meios de cultura: ágar sangue, ágar Mitis Salivarius e ágar MacConkey. Após o período de incubação, foi realizada a contagem de UFC.mL⁻¹. Houve crescimento de bactérias aeróbias totais em 96,42; 10,34 e 84,61% das amostras quando do uso das soluções 1, 2 e 3 respectivamente, e de estreptococos em 85,71; 10,34 e 76,72% das amostras respectivamente. Não houve recuperação de bacilos Gram-negativos aeróbios nas amostras. Concluiu-se que, com o uso da solução de hipoclorito de sódio a 1%, houve uma significativa redução no crescimento bacteriano ($p < 0,01$), resultando em uma maior eficácia na descontaminação das escovas dentais quando comparada com as outras soluções.

Palavras-chave: Escova dental; descontaminação; hipoclorito de sódio.

Abstract: The objective of this study was to evaluate the antimicrobial effect of different disinfectant solutions on the decontamination of kindergarten students' toothbrushes. Thirty (30) preschool students between 6 and 7 years of age were randomly selected from a municipal school in Franca (SP). Each student received one toothbrush to be used during five days, with toothpaste, in the brushing process after lunchtime. After brushing, the toothbrushes were washed with running tap water and sprayed with: sterilized water (1); sodium hypochlorite 1% (2), and acetic acid 0.05% (3), which were used during one week each. At the end of each week, each student received a new toothbrush, and the used ones were collected, inserted in a tube containing culture media and sent to the Microbiological Laboratory of the University of Franca. The samples were sonicated, aliquotated and plated in the following culture media: blood agar, Mitis Salivarius agar, and MacConkey agar. After the incubation period the CFU.mL⁻¹ was counted. Growth of total aerobic

species was observed in 96.42, 10.34 and 84.61% of the samples with the use of solutions 1, 2, and 3 respectively; and streptococci grew in 85.71, 10.34 and 76.72% of the samples, respectively. No growth of aerobic Gram-negative bacilli was observed. We concluded that the use of sodium hypochlorite solution at 1% caused a significant ($p < 0.01$) reduction of bacterial growth, resulting in an effective decontamination of the toothbrushes when compared to the other solutions.

Keywords: *Toothbrush; decontamination; sodium hypochlorite.*

Introdução

A escova dental é o instrumento de higiene bucal mais usado na prevenção das doenças cárie e periodontal. Entretanto, a mesma pode ser uma fonte de contaminação intra e interindivíduos⁷, e pode servir como fonte e/ou veículo para transmissão ou reintrodução na cavidade bucal de microrganismos de origem intra ou extra-bucal^{11,15,16,21,26}. Eventualmente, pode ocorrer transmissão entre as escovas dos membros de uma mesma família, bem como entre indivíduos que convivem em ambientes coletivos, como creches e pré-escolas¹². Sendo assim, a desinfecção da escova dental pode ser um importante procedimento auxiliar na prevenção de várias patologias.

Estudos sobre descontaminação de escovas dentais utilizaram várias substâncias para eliminar ou diminuir os microrganismos presentes nas cerdas das escovas, tais como lavagem em água de torneira³⁰, cloreto de cetilpiridínio¹⁸⁻²⁰, hipoclorito de sódio a 1%¹⁵, óleos essenciais² (Listerine[®]) e gluconato de clorexidina a 0,12%²⁴, mostrando eficácia variada. Em geral, esses estudos focaram no uso de soluções antibacterianas e nos métodos para eliminar ou diminuir o crescimento bacteriano nas cerdas após a escovação, visando a manutenção da saúde bucal e geral.

Das substâncias pesquisadas até o momento para a descontaminação de escovas dentais, o ácido acético não tem seu uso citado na literatura científica. Esse agente químico já é largamente utilizado em seres humanos como anti-séptico no tratamento de feridas cirúrgicas²⁷, em processos inflamatórios da boca e garganta e no tratamento de otites¹. O ácido acético também possui eficácia comprovada na desinfecção de água com elevada concentração de matéria orgânica²³ e na sanitização de uvas¹³.

Para que o processo de descontaminação de escovas tenha um maior alcance, incluindo as populações mais carentes, devem ser avaliados métodos para desinfecção que sejam eficazes e de fácil execução e armazenamento para que possam ser empregados em espaços coletivos, inseridos numa proposta de promoção de saúde.

Considerando a importância da descontaminação de escovas em espaços coletivos, o objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito antimicrobiano de diferentes soluções desinfetantes na descontaminação pelo borrifamento de soluções antibacterianas de baixo custo em escovas dentais de pré-escolares.

Material e método

Para o desenvolvimento desta pesquisa, foram selecionados aleatoriamente 30 pré-escolares assíduos devidamente matriculados em escola municipal de educação infantil do município de Franca-SP, com idade variando entre seis e sete anos, e que não haviam feito uso de antimicrobianos por, pelo menos, 30 dias. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade de Franca (Protocolo nº 034/04).

No estudo foram avaliados dois desinfetantes: hipoclorito de sódio à 1% (Cloro Rio[®] 1% - São José do Rio Preto - SP, Brasil) (solução 2) e ácido acético à 0,05% (Droga Farma - Farmácia de Manipulação - Franca-SP, Brasil) (solução 3). A água deionizada esterilizada foi utilizada como grupo controle (solução 1). Essas soluções foram armazenadas em borrifadores codificados, frascos plásticos sob a forma de spray.

Este trabalho foi realizado em três períodos experimentais com intervalos de uma semana entre eles. Para cada período experimental, cinco dias letivos (segunda a sexta-feira), os pré-escolares recebiam uma nova escova dental (Ultra[®], Curitiba - PR, Brasil) identificada, e que era utilizada e borrifada diariamente, apenas na escola, com uma das soluções utilizadas nesta pesquisa.

Os pré-escolares realizavam uma única escovação diária, com duração de um minuto após a merenda escolar, efetuando o enxágüe com água de torneira antes e após a escovação. A escovação era realizada com o dentífrício Colgate Máxima Proteção Anticáries[®] (Colgate-Palmolive Ind. Com. Ltda, São Bernardo do Campo - SP, Brasil) utilizando-se da técnica transversal para melhor controle do uso de fluoretos¹⁰. Após o enxágüe, o excesso de água retido nas cerdas era removido batendo levemente o cabo da escova contra a borda da pia. Em seguida, as escovas eram recolhidas pela professora para que fossem borrifadas com a solução antibacteriana.

As soluções eram borrifadas seis vezes com a escova posicionada de maneira a formar 90° em relação ao solo, mantida uma distância entre o bico do borrifador e as cerdas da escova de aproximadamente cinco centímetros. Após o borrifamento, a escova era agitada para remoção do excesso da solução e armazenada em local habitual (sacola de tecido individual) e mantida na escola.

Transcorrida uma semana, as escovas eram substituídas e aquelas já utilizadas eram imediatamente recolhidas, intro-

duzidas assepticamente em tubos de ensaio contendo 10 mL de Caldo Leethen (Difco Laboratories, Detroit – MI, USA) e transportadas em caixa térmica contendo gelo ao laboratório de pesquisa em Microbiologia Aplicada da Universidade de Franca. O tempo transcorrido entre a coleta, o transporte e o processamento das amostras foi inferior a duas horas.

No laboratório, os tubos de ensaio (escovas + caldo Leethen) foram submetidos à sonificação em aparelho de ultra-som (Ultrasonic Cleaner – Odontobrás, Ribeirão Preto – SP, Brasil), por cinco segundos, para que houvesse a liberação das bactérias aderidas nas cerdas. A seguir, a escova era removida, e a suspensão resultante diluída em uma solução de cloreto de sódio a 0,85% a uma proporção de 1:10. Com o auxílio de uma micropipeta foram semeados 10 µL da diluição nos meios de cultura ágar sangue para contagem total das unidades formadoras de colônia por mililitros (UFC.mL⁻¹). As placas foram incubadas a 37 °C, durante 48 horas, em aerobiose; o ágar MacConkey para contagem de bacilos Gram-negativos geralmente associados a bactérias intestinais e foi incubado nas mesmas condições que o ágar-sangue; e o ágar Mitis Salivarius para contagem de estreptococos bucais, incubado a 37 °C, durante três dias, em microaerofilia (sistema jarra com vela).

Os resultados da contagem bacteriana em UFC.mL⁻¹ para cada solução foram analisados estatisticamente pelo programa GraphPad Prism 4.03 for Windows (GraphPad Software, San Diego-CA, USA, <http://www.graphpad.com>). Foi utilizado o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis para a comparação entre as três soluções. Quando observada diferença significativa, foi aplicado o teste posterior de Dunn para identificação da solução que diferia das demais. Para a significância foi adotado um nível Alfa de 0,01²⁹.

Resultado

Dos 30 pré-escolares que iniciaram o estudo, 28, 29 e 26, respectivamente, participaram dos períodos experimentais em que foi utilizado o borrifamento das escovas dentais com água deionizada esterilizada (solução 1), hipoclorito

de sódio a 1% e ácido acético a 0,05%. Os pré-escolares que não participaram de todo o período experimental (cinco dias letivos) foram excluídos.

No meio de cultura ágar sangue em aerobiose houve crescimento bacteriano em 96,42% (n = 27), com média de 1,22 x 10⁴ UFC.mL⁻¹ e 84,61% (n = 22) com média de 4,05 x 10⁴ UFC.mL⁻¹ das amostras com uso das soluções 1 e 3 respectivamente. Já com o uso da solução 2, houve desenvolvimento bacteriano em apenas 10,34% (n = 3 – 2,06 x 10² UFC.mL⁻¹) das amostras. No meio ágar Mitis Salivarius em microaerofilia, houve desenvolvimento bacteriano em 85,71% (n = 24) e 76,92% (n = 20) das amostras quando do uso das soluções 1 e 3 respectivamente. Com o uso da solução 2, o desenvolvimento bacteriano foi em apenas 10,34% (n = 3) das amostras. As médias de UFC.mL⁻¹ para as soluções 1, 2 e 3 foram 1,27 x 10⁴, 1,37 x 10² e 1,90 x 10⁴ respectivamente. No meio de cultura ágar MacConkey, não houve desenvolvimento bacteriano.

A análise estatística, pelo teste de Kruskal-Wallis, demonstrou que os valores encontrados de UFC apresentaram diferenças significativas entre as soluções (p < 0,01). Após a comparação entre pares de solução pelo teste posterior de Dunn, pôde-se observar que a solução 2 apresentou valores significativamente menores de UFC em comparação com as demais soluções (p < 0,01), tanto para as colônias isoladas no ágar sangue quanto para as isoladas no ágar Mitis Salivarius. As soluções 1 e 3 não diferiram entre si (Tabela 1).

Discussão

A contaminação de escovas dentais por diferentes microrganismos é um fato observado em vários estudos^{11,18,19}. As escovas dentais contaminadas podem servir como fonte e/ou veículo para transmissão ou reintrodução de microrganismos na cavidade bucal³⁻⁵. Alguns estudos comprovam a eficácia de soluções antimicrobianas na descontaminação de escovas dentais^{8,15,18-20,22}. Entretanto, divergências nas metodologias desses trabalhos dificultam a interpretação dos resultados. No presente estudo, foi avaliado o efeito

Tabela 1. Porcentual de amostras positivas, médias e medianas da contagem dos grupos bacterianos (UFC.mL⁻¹) pesquisados nas escovas dentais após a utilização de água deionizada esterilizada, hipoclorito de sódio a 1% e ácido acético a 0,05%

Grupo microbiano/ meio de cultura	Solução*	Amostras positivas	Média UFC.mL ⁻¹	Mediana UFC.mL ⁻¹
		n (%)		
Gram-positivo e Gram-negativo/ Ágar sangue	1 ^a	27 (96,42)	1,22 x 10 ⁴	1,41 x 10 ³
	2 ^b	3 (10,34)	2,06 x 10 ²	0
	3 ^a	22 (84,61)	4,05 x 10 ⁴	5,40 x 10 ³
Estreptococos bucais/ Ágar Mitis Salivarius	1 ^a	24 (85,71)	1,27 x 10 ⁴	1,78 x 10 ³
	2 ^b	3 (10,34)	1,37 x 10 ²	0
	3 ^a	20 (76,92)	1,90 x 10 ⁴	1,9 x 10 ³

Soluções: água deionizada esterilizada - controle (1), hipoclorito de sódio a 1% (2) e ácido acético a 0,05% (3) * número da solução seguida por letra distinta indica diferença estatisticamente significativa, de acordo com teste posterior de Dunn (p < 0,01) para UFC.mL⁻¹

antimicrobiano após a descontaminação pelo borrifamento de diferentes soluções em escovas dentais de pré-escolares, utilizadas apenas na escola por um período de cinco dias consecutivos e acondicionadas em sacolas individuais com pertences de higiene pessoal do aluno (sabonete, escova dental e toalha de mão) guardadas na escola.

O enxágüe das escovas dentais em água de torneira é o método habitualmente utilizado na limpeza das mesmas, não apresentando, entretanto, eficácia comprovada^{12,30}. Neste trabalho, a água deionizada esterilizada foi utilizada como solução controle, servindo de orientação para a avaliação das outras duas soluções. A eficácia da água esterilizada na descontaminação foi estatisticamente inferior à da solução de hipoclorito de sódio a 1%. Resultados semelhantes foram observados por Nelson Filho et al.¹⁵. Entretanto, esses pesquisadores não utilizaram o borrifamento, mas sim a imersão das escovas em soluções antibacterianas.

Neste estudo as escovas dentais não foram previamente esterilizadas, podendo ter sido contaminadas⁴ durante o processo de fabricação e/ou embalagem, considerando que não é exigido que seja esterilizada e/ou que seja embalada em recipientes esterilizados para a venda ao consumidor. Esse fato é uma limitação desta pesquisa, que não considerou a colonização de microrganismos nas escovas dentais antes do início dos experimentos. Apesar disso, acreditamos que nossos resultados sofreram pequena interferência, pois, segundo Liljemark, Bloomquist⁹, o processo de colonização microbiana depende das interações salivares, da competição de nutrientes, dos fatores de crescimento e dos próprios processos fisiológicos microbianos, e pelo fato de alguns pesquisadores terem demonstrado que o crescimento microbiano nas escovas de dente ocorre após o seu uso^{2,6,14,17,25,28}.

O potencial antimicrobiano do ácido acético já foi sugerido por outros pesquisadores^{1,13,18,23}. Porém, nenhum trabalho com esse produto foi realizado abordando a desinfecção de escovas dentais. No presente estudo, o ácido acético a 0,05% foi utilizado e não mostrou ser efetivo na concentração aqui empregada. Seus resultados foram estatisticamente semelhantes aos da água deionizada esterilizada e inferior aos do hipoclorito de sódio a 1%. Tendo em vista que o ácido acético é uma solução acessível à população devido ao seu baixo custo, à sua fácil manipulação e ao fácil armazenamento, sugere-se a realização de novos estudos que avaliem a efetividade dessa solução em diferentes concentrações na descontaminação de escovas dentais.

No meio de cultura ágar-MacConkey, que avaliou o crescimento de microrganismos Gram-negativos relacionados a patologias intestinais, não houve isolamento dessas bactérias quando do uso das três soluções no período e nas condições experimentais do presente estudo. Esse fato pode ser explicado por uma possível ausência desses microrganismos na cavidade bucal ou pela não contaminação das escovas em

decorrência da manipulação e do acondicionamento pelas crianças que participaram desta pesquisa^{11,21}.

Embora a avaliação dos possíveis efeitos indesejáveis do uso de soluções antimicrobianas não tenha sido objeto deste estudo, ressaltamos que, apesar de ser senso comum que o hipoclorito de sódio apresenta sabor desagradável, este efeito não foi relatado pelas crianças, provavelmente em decorrência das escovas terem sido devidamente lavadas com água corrente antes do uso. Ressaltamos que essa solução, por ser acessível a todos devido ao seu baixo custo, pode ser utilizada em ambientes coletivos.

Conclusão

De acordo com os resultados apresentados neste trabalho, concluiu-se que o hipoclorito de sódio a 1% foi a solução antimicrobiana mais eficaz na descontaminação de escovas dentais.

Referências

1. Aminifarshidmehr N. The management of chronic suppurative otitis media with acid media solutions. *Am J Otol*. 1996;17(1):24-5.
2. Caudry SD, Klitorinos A, Chan EC. Contaminated toothbrushes and their disinfection. *J Can Dent Assoc*. 1995;61:511-6.
3. Cobb CM. Toothbrushes as a cause of repeated infections of the mouth. *Boston Med Surg J*. 1920;183:263-4.
4. Glass RT, Lare MM. Toothbrush contamination: a potential health risk? *Quintessence Int*. 1986;17:39-42.
5. Glass RT, Shapiro S. Oral inflammatory diseases and the toothbrush. *J Okla Dent Assoc*. 1992;82(1):30-2.
6. Goldschmidt MC, Warren DP, Keene HJ, Tate WH, Gowda C. Effects of an antimicrobial additive to toothbrushes on residual periodontal pathogens. *J Clin Dent*. 2004;15(3):66-70.
7. Kozai K, Iwai T, Miura K. Residual contamination of toothbrusher by microorganisms. *J Dent Child*. 1989;56:201-4.
8. Lara EH, Ito IY, Ogasawara MS, Semprini M, Panzeri H. Avaliação de algumas soluções anti-sépticas para sanitização de escovas dentais. *Rev ABO Nac*. 2001;9(1):18-23.
9. Liljemark WF, Bloomquist C. Human oral microbial ecology and dental caries and periodontal diseases. *Crit Rev Oral Biol Med*. 1996;7:180-98.
10. Lima YBO, Cury JA. Ingestão de flúor por crianças pela água e dentifrício. *Rev Saúde Pública*. 2001;35:576-81.
11. Long SR, Santos AS, Nascimento CMO. Avaliação da contaminação de escovas dentais por enterobactérias. *Rev Odontol Univ Santo Amaro*. 2000;5(1):21-5.

12. Malmberg E, Birkhed D, Norvenious G, Norén JG, Dahlén G. Microorganisms on toothbrushes at day-care centers. *Acta Odontol Scand*. 1994;52:93-8.
13. Nascimento MS, Silva N, Catanozi MPLM, Silva KC. Avaliação comparativa de diferentes desinfetantes na sanitização das uvas. *Braz J Food Technol*. 2003;6(1):63-8.
14. Neal PR, Rippin JW. The efficacy of a toothbrush disinfectant spray-an in vitro study. *J Dent*. 2003;31:153-7.
15. Nelson-Filho P, Macari S, Faria G, Assed S, Ito IY. Microbial contamination of toothbrushes and their decontamination. *Pediatr Dent*. 2000;22:381-4.
16. Newbrun E. Preventing dental caries: breaking the chain of transmission. *J Am Dent Assoc* . 1992;123:55-9.
17. Quirynen M, De Soete M, Pauwels M, Gizani S, Van Meerbeek B, van Steenberhe D. Can toothpaste or a toothbrush with antibacterial tufts prevent toothbrush contamination? *J Periodontol*. 2003;74:312-22.
18. Sanches MH, Peres SHCS, Peres AS, Bastos JRM. Descontaminação das escovas dentarias por imersão em soluções anti-sépticas. *RGO*. 2001;49:167-71.
19. Sato S, Ito IY, Lara EHG, Panzeri H. Bacterial Survival rate on thothbrusher and their decontamination with antimicrobial solutions. *J Appl Oral Sci*. 2004;12:99-103
20. Sato S, Pedrazzi V, Lara EHG, Panzeri H, Ferreira de Albuquerque R Jr, Ito IY. Antimicrobial spray for toothbrush disinfection: an in vivo evaluation. *Quintessence Int*. 2005;36:812-6.
21. Silveira CS, Semaan FS, Maciel EV, Chavasco JK. Avaliação da eficiência do porta-escovas na prevenção da contaminação de escovas dentais por coliformes fecais e parasitas intestinais. *Rev CROMG*. 2002;8(1):65-8.
22. Sogi SH, Subbareddy VV, Kiran SN. 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*. 2002;20(3):81-5.
23. Souza JB, Daniel LA. Comparação entre hipoclorito de sódio e acido paracetico na inativação de *E. coli*, colifagos e *C. perfringens* em água com elevada concentração de matéria orgânica. *Eng Sanit Ambient*. 2005;10:111-7.
24. Suido H, Offenbacher S, Arnold RR. A clinical study of bacterial contamination of chlorhexidine-coated filaments of an interdental brush. *J Clin Dent*. 1998;9:105-9.
25. Svanberg M. Contamination of toothpaste and toothbrush by *Streptococcus mutans*. *Scand J Dent Res*. 1978;86:412-4.
26. Tomasi E, Victoria CG, Post PR, Olinto MTA, Béhague D. Uso de chupeta em crianças: contaminação fecal e associação com diarreia. *Rev Saúde Pública*. 1994;28:373-9.
27. Utyama AKI. Avaliação da atividade antimicrobiana e citotóxica in vitro do vinagre e ácido acético: perspectiva na terapêutica de feridas. Ribeirão Preto: Escola de Enfermagem de Ribeirão Preto; 2003.
28. Warren DP, Goldschmidt MC, Thompson MB, Asler-Storhiz K, Keene HJ. The effects of toothpastes on the residual microbial contamination of toothbrushes. *J Am Dent Assoc*. 2001;132:1241-5.
29. Zar J H. Biostatistical analysis. 4th ed. New Jersey: Prentice Hall. Upper Saddle River; 1999.
30. Zolnowski-Casey M. An infection control procedure that is the patients responsibility. *J Am Dent Assoc*. 1998;129:616-7.

