

Universidade de São Paulo
Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto

**AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO MICROBIANA E
EFICÁCIA DE AGENTES ANTIMICROBIANOS NA
DESINFECÇÃO DE ESCOVAS DENTAIS DE
PACIENTES PORTADORES DE NECESSIDADES
ESPECIAIS.**

Beatriz Medina Coeli Babosa

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre – Programa de Odontopediatria.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Nelson-Filho

Ribeirão Preto – SP

2003

FICHA CATALOGRÁFICA

Barbosa, Beatriz Medina Coeli

Avaliação da contaminação microbiana e eficácia de agentes antimicrobianos na desinfecção de escovas dentais de pacientes portadores de necessidades especiais. Ribeirão Preto, 2003.

131p. : il. ; 29cm

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP – Área: Odontopediatria

Orientador: Nelson-Filho, Paulo

1. Pacientes portadores de necessidades especiais. 2. Escovas dentais. 3. Desinfecção.
4. Estreptococos do grupo mutans

Data da Defesa: ____/____/____

Banca Examinadora

Prof. Dr. _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Prof. Dr. _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Agradeço a **Deus**,

Por todos os dias da minha vida, sempre a meu lado, iluminando meu caminho e guiando meus passos.

É preciso amor para poder pulsar

É preciso paz para poder sorrir

É preciso a chuva para florir...

Cada um de nós compõe a sua história

E cada ser em si carrega o dom de ser capaz

De ser feliz...

Almir Sater & Renato Teixeira

Dedico esse trabalho,

A meu esposo, **Cassiano**, pelo incentivo, compreensão, carinho, paciência e amor que sempre demonstrou durante esse período de estudo. A sua presença me deu forças para lutar pelos meus objetivos e para não desistir nas horas de cansaço, dúvidas e dificuldades. Obrigada pela grande ajuda, cumplicidade e estímulo, principalmente nas minhas ausências que roubaram um pouco do tempo do nosso amor e lazer. A vida é bem mais prazerosa e feliz a seu lado.

A meus filhos, **Henrique**, que tem me acompanhado nos meus estudos desde a gestação, fonte de alegria de nosso lar, e **Pedro**, amor recém-chegado, que veio para completar nossa felicidade. O sorriso de vocês é o bastante para ter certeza que vale a pena lutar por nossos sonhos.

Aos meus pais, **Álvaro** e **Sônia**, por todo o esforço que fizeram em suas vidas para poder propiciar a minha formação e pelo incentivo e compreensão que me dispensaram nesta jornada, sempre acreditando que eu conseguiria vencer. Com amor, a minha eterna gratidão.

Agradecimento especial

Ao Professor Doutor Paulo Nelson Filho

Na qualidade de amigo e orientador, pelo valioso apoio, transmissão de confiança, motivação e conhecimento que se mostraram verdadeiramente imprescindíveis para a realização e conclusão desse trabalho. Levarei sempre comigo o seu exemplo de seriedade, dedicação e amor à pesquisa. Muito obrigada por tudo.

À Professora Doutora Izabel Yoko Ito

Pela oportunidade de desenvolver este trabalho com sua participação e, principalmente, pela confiança, carinho, amizade e dedicação durante todos estes dias de nossa convivência. Obrigada pelo carinho com que me recebeu. Tive o prazer de conhecê-la, admirá-la e querer aprender sempre mais.

O professor se liga à eternidade, ele nunca sabe onde cessa a sua influência

(Henry Adams)

Meus sinceros agradecimentos

À minha irmã **Andréa** e meu cunhado **Iale**, pela fundamental colaboração na elaboração desse trabalho e na compreensão da análise estatística. Por *estarem sempre a meu lado, me incentivando nos momentos difíceis. Pelo carinho e apoio que me deram sempre que precisei.*

À minha irmã **Renata** e meu cunhado **Clayton**, que acreditaram no meu sucesso.

Ao meu sogro **Luiz Ronaldo**, exemplo de caráter, dignidade, retidão e humanidade, e minha sogra **Ziza**, pelo carinho, dedicação, amizade e ajuda incondicional nas minhas ausências junto aos netos. Espero que algum dia eu possa, de alguma forma, repetir o seu exemplo de vida e possa retribuir todo o amor recebido. A minha especial gratidão.

Ao Dr. **Amir Mattar**, a minha eterna gratidão pelo carinho, apoio e incentivo permanentes. Com quem aprendi a engatinhar e trilhar os primeiros passos na Odontologia. Exemplo de competência e profissionalismo, ser humano ímpar. É um privilégio conviver com sua pessoa, tão especial e carismática.

À **Sara Elisa Medina Mattar**, pela imensa ajuda recebida e pelas muitas horas que passamos juntas elaborando esse trabalho, quando você sempre indicou o caminho, cobrando resultados e corrigindo falhas. Pelas viagens inesquecíveis a Ribeirão Preto na sua companhia, pelo carinho e amizade.

Aos meus cunhados **Ana Rita, Gustavo e Adalgisa**, pela alegria que a vida tem sido, tantas vezes ao lado de vocês.

À **Sandra Mesquita Silvério Silva e Mariza Helena Honorato**, pela atenção, carinho e dedicação aos meus filhos e pela ajuda nas minhas ausências. Obrigada pela amizade e confiança que sempre demonstraram.

À **Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo**, na pessoa da atual **Diretora Doutora Sada Assed**.

À Coordenação do Curso de Pós Graduação em Odontopediatria da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, na pessoa da **Professora Doutora Lea Assed Bezerra da Silva**, por ter me acolhido e pela atenção e apoio a mim dispensados.

À Faculdade de Odontologia da Universidade de Uberaba na pessoa do **Reitor Marcelo Palmério**. Meus sinceros agradecimentos

Aos professores do Departamento de Clínica Infantil, Odontologia Preventiva e Social da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP, **Dra. Sada Assed, Dra. Aldevina Campos Freitas, Dra. Lea Assed Bezerra da Silva, Dr. Paulo Nelson Filho, Dra. Maria Cristina Borsatto, Dra. Maria Bernadete Sasso Stuani, Dra. Mírian Aiko Nakane Matsumoto, José Tarcisio Lima Ferreira, Dr. Adilson Thomazinho, Gisele Faria, Dra. Maria da Conceição Pereira Saraiva, Alexandra Mussolino Queiroz e Dra. Kranya Victoria Diaz Serrano**, pela colaboração e pelo prazer em conhecê-los.

À pós-graduanda e amiga **Andiara Rossi**, pelo auxílio na realização da parte prática desse trabalho. Pelo carinho e atenção que sempre recebi.

À Prof. **Gisele Faria**, do Departamento de Clínica Infantil, Odontologia Preventiva e Social da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - USP, pela colaboração e atenção dispensada na elaboração da análise estatística.

Aos funcionários do Departamento de Clínica Infantil, Odontologia Preventiva e Social da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP, **Benedita Viana Rodrigues, Vera Ribeiro do Nascimento, Renata Aparecida Fernandes e Fátima Aparecida Jacinto Daniel**, pela convivência agradável.

Aos funcionários **Rejane Gomes Cavalheiro Mazer** e **Marco Antônio dos Santos**, do Departamento de Clínica Infantil, Odontologia Preventiva e Social da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto – USP, pela paciência, ajuda e boa vontade.

À pós-graduanda **Alessandra Rigo Ispert**, pela amizade e auxílio prestado.

Ao Departamento de Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto – USP, em especial ao pós-graduando **Evandro Watanabe**, pela disponibilidade em todos os momentos da realização do processamento microbiológico.

À bibliotecária **Milena Celere**, pela colaboração na elaboração das referências bibliográficas.

Às funcionárias da Seção de Pós graduação da FORP-USP, **Isabel Cristina Sola** e **Regiane Moi Sacilotto**, pela cordialidade e atenção.

À Diretora da APAE de Ribeirão Preto, **Ana Luiza Magri**, pela inestimável colaboração junto aos alunos, durante a realização dessa pesquisa.

Ao **Julio César de Matos** e **Cláudia Regina Corrêa de Matos**, pela diagramação e impressão desse trabalho.

Aos **alunos da APAE** e seus pais que, voluntariamente, participaram e contribuíram para a realização desse trabalho.

À **Johnson & Johnson**, pelas escovas dentais gentilmente cedidas para execução desse trabalho.

Muito Obrigada.

SUMÁRIO

Resumo

Abstract

1. Introdução	18
2. Revista da literatura	23
3. Proposição	77
4. Material e Método	79
5. Resultados	91
6. Discussão	100
7. Conclusão.....	118
8. Bibliografia.....	120
9. Apêndice	
10. Anexo	

RESUMO

Resumo

Barbosa, BMC. Avaliação da contaminação microbiana e eficácia de agentes antimicrobianos na desinfecção de escovas dentais de pacientes portadores de necessidades especiais [dissertação]. Ribeirão Preto – FORP: Univ. de São Paulo; 2003.

O objetivo do presente estudo foi avaliar, por meio das técnicas de cultura e de formação de biofilme, a contaminação microbiana de escovas dentais de 39 indivíduos portadores de necessidades especiais e a eficácia de dois agentes antimicrobianos para desinfecção das mesmas. Os procedimentos clínicos foram divididos em três etapas, com intervalo de 72-96 horas entre cada uma. Na primeira etapa, os pacientes portadores de necessidades especiais efetuaram a escovação usando dentifrício Sorriso, enxaguaram as escovas com água e, em seguida, as mesmas foram borrifadas com spray de água de torneira esterilizada. Na segunda e terceira etapas, a escovação foi realizada usando o mesmo dentifrício e as escovas foram borrifadas com gluconato de clorexidina a 0,12% (Periogard –Colgate) e cloreto de cetilpiridínio a 0,05% (Anti-séptico bucal Reach Johnson), respectivamente. Ao término de cada etapa, as escovas foram submetidas à cultura microbiana, empregando-se o meio CaSa B. Os resultados obtidos foram submetidos à análise estatística por meio dos testes de Friedman, Dunn, Cochran e teste dos sinais. Na etapa I (água de torneira esterilizada), os estreptococos do grupo mutans estavam presentes em 76,9% das cerdas das escovas, com número de colônias/biofilmes variando de 0 a +100. Na etapa II (gluconato de clorexidina a 0,12%) não se observou colonização por estreptococos do grupo mutans. Na etapa III (cloreto de cetilpiridínio a 0,05%), apenas 10,2% das escovas encontraram-se contaminadas por estreptococos do grupo mutans, com números de colônias/biofilmes variando de 1 a 31. Pode-se concluir que as cerdas das escovas dentais de pacientes portadores de necessidades especiais tornaram-se contaminadas por estreptococos do grupo mutans, após uma única escovação de 1 minuto.

Para reduzir a contaminação das escovas dentais por esses microrganismos, tanto a solução à base de gluconato de clorexidina a 0,12% , quanto a solução à base de cloreto de cetilpiridínio a 0,05%, sob a forma de spray, podem ser indicadas. No entanto, com a finalidade de tornar as escovas isentas de microrganismos, a solução à base de gluconato de clorexidina a 0,12% apresentou eficácia estatisticamente superior aos demais sprays avaliados.

Unitermos: pacientes portadores de necessidades especiais, escovas dentais, desinfecção, estreptococos do grupo mutans.

ABSTRACT

ABSTRACT

Barbosa, BMC. Evaluation of microbial contamination and efficacy of antimicrobial agents in disinfection of handicapped patients' toothbrushes [dissertação]. Ribeirão Preto – FORP: Univ. São Paulo; 2003

The aim of this study was to evaluate the contamination of 39 handicapped patients' toothbrushes, and also evaluate two disinfection methods by microbial culture and cariogenic biofilm formation. The clinical procedures were divided in three stages, with intervals of 72-96-hours among each one. At the first stage, the patients brushed their teeth with Sorriso toothpaste, rinsed their teeth with water and their toothbrushes were immediately sprayed with sterilized tapped water. In the second and third stages, the handicapped patients' teeth were brushed using toothpaste, while their toothbrushes were sprayed with 0,12% gluconate chlorhexidine (Periogard – Colgate) and 0,05% Cetylpyridinium chloride (Anti-séptico bucal Reach Johnson), respectively. At the end of each stage, the toothbrushes were submitted to the culture in CaSa B medium. The results were submitted to Friedman's, Dunn's, Cochran's tests as well as to a signal test. In Stage I (disinfected with sterilized tapped water), mutans group streptococci were present in 30 of 39 toothbrushes (76,9%), and the number of colonies/biofilms varied from 0 to +100. In Stage II, where disinfection was carried out using 0,12% chlorhexidine, no mutans group streptococci colonization was observed. In Stage III (disinfected with 0,05% Cetylpyridinium chloride), only 10,2% of the toothbrushes were contaminated with mutans group streptococci, and the number of colonies/biofilms varied from 1 to 31. One could conclude that the bristle of the toothbrushes which belonged to handicapped patients became contaminated by mutans group streptococci after a single 1-minute brushing. In order to reduce the contamination of toothbrushes caused by mutans group streptococci, both a 0,12% gluconate chlorhexidine solution and a

0,05% Cetylpyridinium chloride spray solution can be used. To make toothbrushes microorganism-free, the 0,12% gluconate chlorhexidine solution proved to be statistically better.

Key words: handicapped patients, toothbrushes, disinfection, mutans group estreptococci.

1. INTRODUÇÃO

1. Introdução

Pacientes portadores de necessidades especiais são indivíduos que apresentam desvios dos padrões de normalidade, identificáveis ou não, e que, por isso, necessitam de atenção e abordagens especiais por um período da sua vida ou indefinidamente (Fourniol-Filho, 1998). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), considera-se como paciente portador de necessidades especiais, o indivíduo que, por um determinado período, encontra-se impedido de participar de atividades normais para a sua faixa etária, incluindo aquelas de natureza social, recreativa e/ou educacional, em decorrência de alterações de ordem física ou mental (Stewart et al., 1982).

A classificação do paciente portador de necessidades especiais é feita segundo o grau de comprometimento e/ou de acordo com as áreas comprometidas pela patologia, podendo envolver, segundo a Associação Internacional de Odontologia ao Paciente Portador de Necessidades Especiais, desvios de inteligência, defeitos físicos ou congênitos, desvios comportamentais ou psíquicos, deficiências sensoriais e de audiocomunicação, doenças sistêmicas crônicas ou endócrino-metabólicas, desvios sociais e estados fisiológicos especiais (Mugayar, 2000).

Do ponto de vista Odontológico, a prevenção da cárie e da doença periodontal, especialmente em pacientes portadores de deficiências físicas ou mentais, é de fundamental importância, tendo em vista que o tratamento restaurador/reabilitador é realizado com dificuldade (Storhaug, 1977). Além

disso, quando realizado sob anestesia geral, o tratamento odontológico é baseado, muitas vezes, em extrações múltiplas, podendo ainda acarretar riscos à saúde geral, tendo em vista que muitos desses pacientes apresentam comprometimento em diferentes sistemas orgânicos, como alterações cardiovasculares e respiratórias.

Apesar disso, grande parte dos pacientes especiais apresenta alterações nos padrões de deglutição (Medeiros et al., 2002) e mastigação, hábitos irregulares de alimentação, paralisia ou redução da atividade dos músculos mastigatórios, alterações na secreção salivar, dificuldade no controle de placa bacteriana (biofilme dental) e ingestão freqüente de carboidratos fermentáveis e medicamentos (Storhaug, 1977). Higiene bucal precária e alta prevalência de gengivite marginal são freqüentemente observadas nestes pacientes (Snyder et al., 1960; Goyings & Riekse, 1968; Cutress, 1971; Tesini, 1981; Stiefel et al., 1984; Girgis, 1985; Francis et al., 1987; Stiefel et al., 1992; Laher & Cleaton-Jones, 1996).

A manutenção da saúde bucal está relacionada, entre outros fatores, ao controle efetivo do biofilme dental. Uma vez que os pacientes especiais, em decorrência de suas dificuldades físicas ou mentais, são muitas vezes incapazes de executar corretamente esse controle pelos métodos mecânicos (escovação e uso do fio dental), sendo dependentes de outras pessoas para efetuarem este controle (Shapira et al., 1994; Laher & Cleaton-Jones, 1996; Martens et al., 1997), agentes antimicrobianos como a clorexidina, o cloreto de cetilpiridínio e os óleos essenciais, entre outros, têm

sido indicados como auxiliares na complementação do controle mecânico do biofilme dental (Storhaug, 1977; Russel & Bay, 1978; Francis et al., 1987; Stiefel et al., 1992; Mckenzie et al., 1992; Al-Tannir & Goodman, 1994; Shapira et al., 1994; Laher & Cleaton-Jones, 1996; Martens et al., 1997; Fine et al., 2000).

Observa-se assim, que diferentes medidas preventivas devem ser precocemente implementadas neste grupo de pacientes, com a finalidade de reduzir/controlar a microbiota bucal cariogênica e periodontopatogênica.

Por outro lado, estudos têm relatado que as escovas dentais, após sua utilização, podem se contaminar por bactérias, vírus, fungos (Cobb, 1920; Whitley & Gilmore, 1973; Glass & Jensen, 1988; Glass et al., 1990; Glass et al., 1994; Malmberg et al., 1994; Borges et al., 1996; Verran & Leahy-Gilmartin, 1996; Pinto et al., 1997; Verran et al., 1997; Taji & Rogers, 1998; Motzfeld et al., 1999; Zarski & Leroy, 1999; Long et al., 2000; Sanches et al., 2001; Sato, 2002), ovos e larvas de helmintos, cistos de protozoários (Borges et al., 1996) e estreptococos do grupo mutans (Svanberg, 1978; Kozai et al., 1989; Cesco et al., 1995; Motzfeld et al., 1999; Nelson-Filho et al., 2000; Sanches et al., 2001; Isper, 2002; Macari, 2002; Sato, 2002), indicando a necessidade de se efetuar a desinfecção das mesmas, no intervalo entre as escovações.

Assim, diferentes métodos de desinfecção de escovas dentais de adultos e crianças apresentando eficácia variada, têm sido descritos na literatura específica, como o uso de solução aquosa saturada de cloreto de

sódio (Lehmer & Appleton, 1931), tabletes detergentes diluídos em água (Whitley & Gilmore, 1973), solução de ácido bórico a 4% e ácido salicílico a 2% (Feo, 1981), lugol (Lehmer & Appleton, 1931), álcool (Cobb, 1920; Sanches et al., 2001), gluconato de clorexidina (Nelson-Filho et al., 2000; Sato, 2002), cloreto de cetilpiridínio (Caudry et al., 1995; Meier et al., 1996; Sanches et al., 2001; Sato, 2002), Plax (Caudry et al., 1995), hipoclorito de sódio (Nelson-Filho et al., 2000), irradiação com luz ultravioleta (Glass et al., 1996; Glass et al., 1997), Listerine (Caudry et al., 1995), Brushtox[®]-spray (Macari, 2002), solução de Cosmocil CQ^Â - cloridrato de polihexametileno biguanida (Lara et al, 2001; Macari, 2002) e forno de microondas (Chibebe & Pallos, 2001), entre outros.

Apesar de se encontrar na literatura muitos trabalhos sobre contaminação microbiana de escovas de adultos e de crianças, propondo métodos para desinfecção das mesmas, não há estudos publicados a esse respeito, realizados com pacientes portadores de necessidades especiais.

2. Revista da Literatura

Cobb, em 1920, escreveu um artigo para o Departamento Clínico do *Jornal Médico e Cirúrgico de Boston*, relatando que a presença de focos de infecção na boca e garganta conduziria ao desenvolvimento de doenças em partes distantes do corpo. Afirmou que existe uma tendência geral de se direcionar o tratamento primeiramente para o microrganismo causador da infecção, sem contudo tentar detectar o local do foco de infecção e eliminá-lo. O autor descreveu o caso clínico de um paciente que foi acometido repetidas vezes por infecções na cavidade bucal, as quais se estendiam até a garganta, seguidas por sintomas reumáticos, sem a evidência de focos de infecção de origem dental. Inicialmente a única conduta possível pareceu ser a extração de todos os dentes, incluindo aqueles que se encontravam hígidos. Tendo em vista a possibilidade da escova dental ser uma possível fonte de infecção, foi recomendado ao paciente que mergulhasse a escova em álcool, antes e depois da sua utilização. A escova, ainda umedecida pelo álcool, foi usada para higiene bucal mecânica, observando-se a remissão dos sinais e sintomas. Segundo o autor, todos os microrganismos comumente encontrados na boca podem se desenvolver nas cerdas das escovas. Quando o indivíduo usa novamente a escova, fricciona sua microbiota nos tecidos gengivais. Relatou que as escovas não poderiam ser desinfetadas de outra forma, se não por meio da utilização de soluções anti-sépticas, sendo o álcool uma solução segura. Sugeriu, ainda, a necessidade da invenção de

uma escova dental que contivesse um pedaço de algodão ou feltro, o qual poderia ser descartado após o uso.

Em 1924 Kauffman recomendou a desinfecção de escovas dentais por meio de sua imersão em solução desinfetante ou em água fervente por 15 minutos, antes e após a sua utilização. As escovas deveriam ser armazenadas em local seco e limpo ou colocadas em recipiente fechado que proporcionasse ventilação a fim de que as cerdas pudessem secar. O autor afirmou que a maior parte das pessoas conserva suas escovas dentais próximas ao vaso sanitário, ressaltando ainda que as cerdas de diferentes escovas dentais não deveriam se tocar e que as escovas deveriam ser manuseadas o mínimo possível. Como medida de precaução, recomendou que as escovas fossem fervidas uma vez por semana e que deveriam ser trocadas freqüentemente.

Kauffmann (1929) relatou a possibilidade da contaminação de escovas dentais por microrganismos e citou alguns cuidados para auxiliar na secagem e desinfecção das mesmas. Com a finalidade de auxiliar a secagem das cerdas, recomendou a manutenção da escova na luz solar e o uso do sal de cozinha. Recomendou também colocar a escova em um recipiente com algum agente desinfetante, como o gás paraformaldeído, com a finalidade de reduzir a contaminação.

Lehmer & Appleton, em 1931, avaliaram o número de unidades formadoras de colônia (ufc) de bactérias que poderia se desenvolver em uma escova dental que tinha sido simplesmente enxaguada em água de torneira. Após observar que esse número foi igual a 100, baseados em estudos comparativos os autores relataram que: 1- escovas que foram enxaguadas em solução aquosa saturada de cloreto de sódio, imediatamente após o uso, reduziram o número de unidades formadoras de colônia de microrganismos para 68 (média de 8 testes). 2- mergulhando a escova em cloreto de sódio, imediatamente após o uso, este número foi reduzido para 35 (média de 9 testes). 3- Enxaguando as escovas em solução de Lugol, imediatamente após o uso, houve redução para 7,5 (média de 9 testes); e 4- Lavar as escovas dentais com sabonete e água de torneira reduziu o número de unidades formadoras de colônia para 0,3 a 4.

Tendo em vista que a incidência de bacteriemia pelo uso da escova dental apresenta importante valor clínico, Sconyers et al., em 1973, avaliaram a ocorrência de bacteriemia após escovação dental em 30 pacientes e após extrações dentais em 9 pacientes. Os pacientes do grupo da escovação foram instruídos a utilizar uma escova elétrica por 4 minutos, sem dentifrício, sendo retirada uma amostra de sangue antes da escovação e do 3º para o 4º minuto. Amostras de sangue também foram obtidas antes e imediatamente após as extrações dentais. Após processamento microbiológico, observaram a ocorrência de bacteriemia em 16,7% dos

pacientes do grupo da escovação e em 100,0% dos pacientes que tinham sido submetidos à extração. Nenhuma bactéria estritamente anaeróbia foi encontrada no sangue após a escovação, embora *S. mutans* tenham sido detectados. Os autores concluíram que a escovação dental por 4 minutos foi menos traumática que as extrações múltiplas, gerando menos bacteriemia. No entanto, mesmo bacteriemias leves podem ser tão sérias quanto bacteriemias severas, para pacientes com problemas vasculares. Os autores salientaram a importância da antibioticoterapia profilática para proteção desses pacientes durante tratamentos odontológicos, e também a necessidade de orientar os pacientes sobre a importância da manutenção de uma adequada higiene bucal.

Em 1973, Whitley & Gilmore afirmaram que a escova dental, sob condições usuais de armazenamento, pode servir como um veículo de introdução de microrganismos oportunistas ou patogênicos na cavidade bucal. Por esse motivo, avaliaram o efeito de tabletes utilizados para limpeza de próteses totais, na desinfecção de escovas dentais. Um tablete dissolvido em 100mL de água foi usado em todos experimentos. Culturas de *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli* e *Candida albicans* foram expostas à solução desinfetante em intervalos de 1 a 10 minutos. Alíquotas foram diluídas em solução salina e semeadas em placas com meio de cultura ágar-sangue, a fim de determinar a ação bacteriostática e bactericida da solução. Escovas dentais armazenadas em prateleiras de

banheiro e em recipientes fechados de vidro foram cultivadas para verificar o nível de contaminação por microrganismos em geral. Em seguida, as escovas dentais foram mergulhadas na solução desinfetante por vários períodos de tempo, enxaguadas e cultivadas. Os resultados obtidos indicaram que o tablete para limpeza de próteses totais exerceu efeito bactericida sobre todas as bactérias, em menos de 8 minutos de exposição. Os microrganismos Gram-positivos foram mais rapidamente eliminados que os Gram-negativos, não se observando efeito sobre a *Candida albicans*. O número de bactérias detectadas foi menor nas escovas armazenadas em prateleiras de banheiro que as armazenadas em recipientes fechados. Os microrganismos mais freqüentemente isolados das escovas dentais foram *Staphylococcus*, *Streptococcus*, bacilos, lactobacilos, *Pseudomonas*, *Actinomyces*, *Escherichia* e *Candida*. Os autores concluíram que os tabletes para limpeza de próteses totais foram eficientes na eliminação da maioria das bactérias presentes nas escovas dentais. Devido à facilidade de transporte, esses tabletes seriam particularmente convenientes para uso em viagens.

Dayoub et al. (1977) realizaram uma pesquisa para determinar os níveis de microrganismos em escovas dentais, após sua contaminação e armazenagem ao ar livre ou em recipientes fechados. Avaliaram, também, a capacidade de contaminação por microrganismos do ambiente, nos recipientes próprios para escovas. As escovas foram contaminadas com *P. aeruginosa*, *E. coli* e *S. aureus* e armazenadas por 1, 2, 3, 4 ou 5 dias. Um

total de 50 escovas ficou exposto ao ar e outras 50 foram armazenadas em recipiente convencional cilíndrico com abertura. Os resultados da análise microbiológica evidenciaram a presença de microrganismos viáveis em todos os períodos experimentais. A maior redução de microrganismos viáveis ocorreu durante as primeiras 24 horas de armazenagem. Níveis mais baixos de microrganismos foram encontrados nas escovas armazenadas ao ar livre, quando comparadas àquelas armazenadas nos recipientes. Os resultados indicaram que o número de bactérias encontradas nas escovas armazenadas ao ar livre, após o uso, diminuiu mais rapidamente que naquelas armazenadas em recipientes. Concluíram que, para prevenção da contaminação das escovas, é preferível armazená-las em recipientes com abertura, com o objetivo de reduzir o contato com superfícies contaminadas.

Rajchert-Trzpil et al. (1978) avaliaram o grau de contaminação microbiana das escovas dentais confeccionadas com cerdas de pêlos de animal e cerdas artificiais. Os níveis de contaminação bacteriana das escovas dentais novas e usadas foram elevados. Os autores testaram a eficácia do esterinol, do peróxido de hidrogênio e do gluconato de clorexidina na desinfecção de escovas com diferentes tipos de cerdas contaminadas e demonstraram a necessidade da constante desinfecção das escovas dentais.

Escovas dentais e dentifrícios contaminados por estreptococos do grupo mutans foram avaliados por Svanberg (1978), em 2 indivíduos com

mais de 10^6 unidades formadoras de colônia (ufc) desses microrganismos na saliva. Cada indivíduo recebeu três escovas dentais novas, sendo orientados a utilizá-las uma vez pela manhã, na rotina de procedimentos de higiene bucal, por três dias consecutivos. As escovas dentais foram mantidas secas, à temperatura ambiente, por períodos de 15 minutos (grupo I), 12 horas (grupo II) e 24 horas (grupo III), quando então foram submetidas à cultura microbiana, juntamente com o dentifrício usado. Dois dos dez dentifrícios avaliados abrigavam estreptococos do grupo mutans, com níveis de aproximadamente 10^6 ufc por mL. Os estreptococos do grupo mutans estavam presentes nas escovas do grupo I em números variando entre 1,5 e $6,0 \times 10^6$ ufc. O número de ufc diminuiu para 0,8 a $5,0 \times 10^5$ nas escovas do grupo II e, 0,9 a $4,0 \times 10^4$ nas escovas do grupo III. Os resultados mostraram que os estreptococos do grupo mutans podem permanecer viáveis nas escovas, em elevada concentração, por um longo período de tempo após o uso. Sendo assim, as escovas podem servir como fontes ou veículos para a transmissão de microrganismos, uma vez que a escova, atuando na superfície dental, reduz a microbiota, mas pode introduzir microrganismos adicionais, como os estreptococos do grupo mutans.

Em 1981, Feo realizou um estudo *in vitro* para avaliar a sobrevivência de *Candida albicans* nas cerdas das escovas dentais. Foram utilizadas 3 marcas de escovas: Pro® dupla ação (cerdas de nylon), Pro® (cerdas naturais) e Caravelle® (cerdas de nylon). No primeiro experimento, 4

escovas de cada marca foram introduzidas em suspensão concentrada de *Candida albicans* (4×10^9), por 1 minuto. Removido o excesso do líquido, metade das escovas foram colocadas em sua caixa original e a outra metade foi deixada ao ar livre. Após 1 e 2 semanas, as escovas foram semeadas em ágar bile e ágar leite diluído. *Candida albicans* sobreviveu em todas as escovas mantidas em sua caixa original por 2 semanas, e em todas as escovas deixadas ao ar livre por 1 semana. Este fato foi observado também nas escovas com cerdas naturais deixadas ao ar livre por 2 semanas. No 2º experimento, 3 escovas de cada marca foram mergulhadas em 4×10^9 /mL de suspensão de levedura por 1 minuto e deixadas ao ar livre, à temperatura ambiente. Cada grupo de 3 escovas foi semeado após 24, 48 e 72 horas em ágar bile e ágar leite diluído. Uma vez comprovada a sobrevivência de *C. albicans* nas escovas por mais de 72 horas, os autores testaram o ácido bórico e o ácido salicílico na desinfecção das mesmas (experimento nº3). As escovas Pro® nylon foram desinfetadas por imersão momentânea em solução de ácido bórico a 4/100. Os resultados não foram satisfatórios nas escovas Pro® cerdas e Caravelle® nylon, após imersão por 10 minutos na mesma solução. O ácido salicílico a 2/1000 conseguiu erradicar *C. albicans* nos 3 tipos de escovas quando imersas por 5 minutos. Os autores sugeriram que sejam utilizadas escovas dentais com cerdas de nylon, para facilitar a eliminação da *C. albicans*. Recomendaram também que as escovas sejam desinfetadas por imersão momentânea em solução de ácido bórico a 4/100

ou imersão em solução de ácido salicílico a 2/1000 por 5 minutos, após o uso.

Marcano (1981) avaliou, simultaneamente, a presença de *Candida albicans* na boca e nas escovas de 229 pacientes do Hospital Universitário de Caracas, os quais não apresentavam sinais de candidíase. Foram coletadas amostras da cavidade bucal de cada paciente, raspando a mucosa jugal de ambos os lados. Estas amostras foram semeadas em tubos de ensaio de 13X100mm, com 3mL de 2 tipos de meios de cultura: ágar bile e ágar leite diluído, os quais favorecem o crescimento rápido de *C. albicans* em 24–48 horas. As escovas dentais dos pacientes foram introduzidas em tubos de ensaio de 22X170mm, com 20mL dos mesmos meios de cultura. O resultado foi positivo para *C. albicans* em 64 amostras da cavidade bucal (28,0%) e em 36 escovas dentais (18,0%). Foram isoladas outras leveduras em 47,0% das amostras da cavidade bucal e em 44,0% das escovas. Dos 64 positivos, 7 não tinham escova. Dos 57 pacientes que tinham escova, 33 (58,0%) apresentaram resultados positivos para *C. albicans* na mesma. De acordo com os resultados obtidos, a sobrevivência de *C. albicans* nas escovas dentais não pareceu ser influenciada pela idade e pela sua limpeza. O resultado mostrou que 28,0% das escovas positivas eram guardadas em sua caixa original e 72,0% ao ar livre ou envoltas em toalhas de papel. A detecção de *C. albicans* em 58,0% das escovas dentais de pessoas com *C. albicans* na boca é altamente significativa, revelando que as escovas dentais

servem como possíveis reservatórios e fontes de reinfecção para esses microrganismos. Assim, concluíram ser necessário adotar métodos de desinfecção das escovas dentais, no tratamento de pacientes com candidíase.

A observação de que pacientes que apresentam doenças bucais inflamatórias tendiam a responder melhor à terapia se suas escovas velhas fossem trocadas por uma nova, e se essa fosse renovada a cada duas semanas, levou Glass & Lare (1986) a realizarem um estudo para determinar se as escovas abrigam microrganismos patogênicos e se há uma correlação entre a contaminação das escovas e ocorrência de doenças bucais. Foram coletadas 20 escovas, após a escovação matinal, que foram usadas por um período de 2 dias a 24 meses (média de 23 semanas). Dez escovas eram de pacientes clinicamente saudáveis (livres de cárie, sem anormalidades na mucosa e sem inflamação gengival ou periodontal), e 10 de pacientes com doenças bucais (numerosas lesões de cárie, doença periodontal ou alguma patologia na mucosa bucal). Após o uso, as escovas foram submetidas à cultura microbiana. De acordo com os resultados obtidos, verificaram que as escovas abrigavam microrganismos patogênicos, havendo uma correlação positiva entre a contaminação das escovas e a ocorrência de doenças bucais. O tempo de uso das escovas não interferiu na presença de microrganismos. Entretanto, os resultados sugeriram que a contaminação das escovas ocorreu depois de 4 semanas. Segundo os autores, considerar a escova dental como

fonte de infecções é importante, uma vez que o número de indivíduos com alterações do sistema imune e que são submetidos a transplantes de órgãos é elevado. Durante a escovação, as pessoas freqüentemente traumatizam a gengiva com a escova, e essa região lesada pode se tornar uma porta de entrada para microrganismos. Sugeriram, ainda, que mais estudos devem ser realizados para determinar o tempo necessário para que as escovas se tornem contaminadas, além de estabelecer o número de microrganismos que podem ser encontrados nas escovas. Além disso, estudos devem ser direcionados para a determinação de uma possível correlação entre doença local ou sistêmica e os microrganismos presentes nas escovas. Concluíram que há necessidade do desenvolvimento de mecanismos para esterilização das escovas, usando materiais e métodos caseiros, como por exemplo os métodos químicos ou por microondas.

Glass & Jensen (1988) questionaram se escovas dentais podem abrigar vírus, além das bactérias, e se esses podem ser transmitidos por esse meio. Dessa forma, 12 escovas dentais foram imersas em 3mL de cultura de vírus *Herpes simplex* tipo 1. Cada duas escovas foram submetidas às seguintes condições: 1 – Imersão por 10 minutos, sendo em seguida enxaguadas e agitadas imediatamente; 2 – Imersão por 10 minutos, seguida da remoção, enxágüe e colocação em HBSS (solução de Hank) por 24 horas, à temperatura ambiente e agitação; 3 – Imersão por 10 minutos, enxágüe e colocação em placas de Petri, à temperatura ambiente, por 24 horas; 4 –

Imersão por 10 minutos, remoção e enxágüe, colocação em placas de petri, à temperatura ambiente por 24 horas, colocação em HBSS por 24 horas e agitação; 5 – Imersão por 24 horas seguida de remoção, enxágüe e agitação, e 6 – Imersão por 24 horas, remoção, enxágüe, colocação em HBSS por 24 horas e agitação. Uma quantidade substancial do vírus (14,0 a 64,0%) pôde ser recuperada após a colocação das escovas em HBSS, por 24 horas, sugerindo pouca ocorrência de perda ou morte de vírus quando as escovas são mantidas em ambiente úmido. As escovas mantidas em ambiente úmido por 48 horas evidenciaram 8,0% do inóculo original. Quando reidratadas por 24 horas em HBSS, evidenciaram 18,0 a 27,0%. Os resultados desse estudo sugerem que a diferença de inóculo recuperada pode ser um fator relativo às cerdas, como a proximidade das mesmas ou ao formato geral da escova, juntamente com fatores como umidade, temperatura e duração do armazenamento. Diferentes formatos, quantidade de tufo e quantidade de cerdas por tufo retêm mais ou menos vírus. Concluíram que o vírus *Herpes simplex* tipo 1 pode permanecer viável na escova dental seca por 48 horas, e em ambientes úmidos por mais de 7 dias. Esse estudo sugere a necessidade de recomendação de trocas regulares de escovas dentais e troca imediata de escovas dentais no período de ocorrência de doenças. O armazenamento das escovas dentais, após utilização, deve ser efetuado em ambiente não contaminado e o mais seco possível.

Trabalhando com cães, Glass et al. (1989) compararam o tipo de escova (esterilizada, usada e auto contaminada, ou contaminada com *Bacteroides melaninogenicus*, *Staphylococcus aureus* ou *Candida albicans*), em relação à produção de lesões gengivais e outras lesões da cavidade bucal. Avaliaram, também, se a frequência de escovação ou se o estado imune dos cães alteram a incidência das lesões. Dezoito cães foram igualmente divididos em 3 grupos, sendo o protocolo de escovação (3 vezes por semana) igual para todos os grupos. No grupo I foi utilizada uma escova dental nova esterilizada para cada escovação. No grupo II foi utilizada inicialmente uma escova esterilizada, porém essa foi reutilizada subsequente, sendo a mesma armazenada ao ar livre, próxima a uma pia, para simular o ambiente do banheiro. O grupo III foi subdividido em outros 3 grupos, onde se utilizou escovas contaminadas por microrganismos (*Bacteroides melaninogenicus*, *Staphylococcus aureus* ou *Candida albicans*). As lesões gengivais e bucais foram registradas anteriormente à escovação e nos dias subsequentes. Culturas de sangue foram efetuadas inicialmente, e nos primeiros 30 minutos do primeiro dia de escovação de cada mês, nos cães do grupo III. Para determinar os efeitos da imunossupressão, 2 cães de cada grupo receberam 2,5 mg/Kg de prednisona, em dias alternados, por sete dias, anteriormente ao início da 3ª fase, e depois de 14 dias da 3ª fase. Ao final da pesquisa, todos os cães tinham passado pelas 3 fases. Os resultados desse estudo indicaram que a escovação dental produziu ulceração gengival ou de mucosa, mesmo com o uso da escova esterilizada,

sendo maior em presença de imunossupressão. A escovação efetuada com escova autocontaminada apresentou a mais alta incidência de lesões, em todos os grupos avaliados. O número médio de lesões foi de 2,0 úlceras por cão no grupo I, 4,9 úlceras por cão no grupo II e 4,4 úlceras por cão no grupo III. Embora a incidência tenha sido baixa, há evidências para sugerir a possível inoculação de microrganismos da úlcera para o sangue. Mesmo sabendo que o reparo das lesões depende da manutenção de uma correta escovação diária, observou-se aumento na incidência de ulcerações, em função da reintrodução de microrganismos, via escova contaminada.

Kozai et al. (1989) realizaram um estudo na clínica de periodontia da Universidade de Hiroshima, para avaliação da contaminação microbiana das escovas dentais de 150 crianças de ambos os sexos, após sua utilização sem dentífrico, e enxágüe de maneira habitual. As escovas foram coletadas imediatamente e colocadas em um ambiente com temperatura de 18°C e umidade variando de 26 a 46%, por 0, 6 e 24 horas. As seguintes variáveis foram estudadas: 1) tempo de secagem ao ar; 2) enxágüe das escovas dentais após a escovação; 3) número de lesões de cárie; e 4) idade da criança. Nos casos onde a escovação ou o enxágüe eram efetuados pelos pais, as variáveis analisadas foram as mesmas. Os resultados obtidos evidenciaram que a única diferença entre os grupos foi relativa ao intervalo de escovação. Observou-se que quanto maior o tempo de secagem, menor o número de unidades formadoras de colônia (ufc) de microrganismos.

Quando o fator habilidade manual do indivíduo aumenta, a contagem de unidades formadoras de colônias diminui. O número de microrganismos na escova é menor quanto menor for o número de lesões cariosas. Não houve correlação estatística entre o número de microrganismos e a idade das crianças. Os resultados desse estudo demonstram que muitos microrganismos permanecem nas cerdas das escovas após seu uso, visto que foram encontrados microrganismos nas escovas até mesmo depois de 24 horas de secagem. Muitas espécies podem ser reintroduzidas na cavidade bucal quando se realiza uma nova escovação. Deixar as escovas secarem apenas, é um método ineficaz para eliminação microbiana. De acordo com esses autores, os *S. mutans* foram encontrados em grande número quando comparados a outros estreptococos, e estes tendem a permanecer na escova depois de 6 horas de secagem. Isso ocorre pois os *S. mutans* predominam no biofilme dental, que é coesivo, úmido e de difícil remoção das escovas. Embora o número de microrganismos diminua significativamente após lavagem vigorosa da escova, os autores sugerem a utilização de equipamentos ou substâncias para esterilização das mesmas.

Em 1989, Müller et al. avaliaram a contaminação bacteriana das escovas dentais de 21 pacientes, com faixa etária de 16 a 63 anos (média de 31 anos), que apresentavam alta/moderada quantidade de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (A.a.) no biofilme supragengival. As escovas dos pacientes foram recolhidas e cerca de 10 cerdas de nylon foram cortadas,

colocadas em solução de Ringer pré-reduzida e sonicadas por 10 segundos. Um total de 20,0% da amostra foi semeado em ágar TSBY (seletivo para A.a.), sendo as placas incubadas em anaerobiose, por 3 dias. Em seguida, os pacientes escovaram novamente os seus dentes e enxaguaram as escovas em água corrente, sendo cortadas outras 10 cerdas imediatamente após a escovação e outras 10 cerdas uma hora após, as quais foram submetidas ao mesmo processamento microbiológico já descrito. Foram colhidas, também, amostras de saliva e da placa subgengival, da mucosa bucal e do dorso da língua, para detecção de A.a. Um total de 29,0% das escovas dentais recolhidas dos pacientes evidenciou consideráveis quantidades de A.a., sendo que esses valores elevaram-se para 62,0% imediatamente após a escovação, e decaíram para 50,0% após 1 hora. Embora a quantidade de A.a. isolada das escovas dentais tenha sido fracamente relacionada com o grau de destruição periodontal, níveis mais elevados de A.a. puderam ser observados nas escovas quando esse microrganismo estava presente também na saliva ou na membrana mucosa. Não houve associação entre inflamação gengival, placa supragengival e média dos níveis de A.a. isolados da placa subgengival. Os autores afirmaram que os indivíduos com altos níveis de A.a. na placa sub ou supragengival, saliva e membranas mucosas da cavidade bucal podem apresentar bacteriemias, após escovação.

A capacidade de retenção de microrganismos em vários tipos de escovas dentais foi avaliada, em 1989, por Nelson & Glass. Escovas com

cerdas naturais ou com cerdas de plástico de 3 ou 4 fileiras de cerdas, e escovas de plástico de 5 fileiras de cerdas foram expostas a 10^5 /mL de *Bacteroides melaninogenicus*, por 48 horas. Cinquenta escovas de cada grupo foram expostas à luz natural e outras 50 à luz ultravioleta, por 24 horas. O estudo mostrou que 28 escovas naturais retiveram *Bacteroides melaninogenicus* em sua superfície. As escovas com 5 fileiras de cerdas apresentaram 6 superfícies positivas, enquanto aquelas com 3 ou 4 fileiras de cerdas foram positivas em 2 superfícies. Os resultados sugerem que escovas com cerdas naturais apresentam dificuldades para sua desinfecção e favorecem o desenvolvimento de microrganismos mais rapidamente que os outros dois tipos de escovas.

Glass et al. (1990) afirmaram que indivíduos hospitalizados, após deixarem o hospital, podem disseminar infecções hospitalares. A própria escova dental do paciente pode ser uma fonte de microrganismos patogênicos, incluindo vírus e microrganismos oportunistas. Esses microrganismos podem invadir o organismo durante o ato da escovação, encontrando condições propícias em função da debilidade orgânica do indivíduo. Segundo os autores, a partir da década de 80, os autores começaram a se preocupar com os tipos de microrganismos presentes nas escovas e as doenças transmitidas por essa via. As escovas dentais de indivíduos saudáveis e doentes apresentam uma grande variedade de microrganismos, os quais podem ocasionar alterações não somente na

própria cavidade bucal, mas também podem produzir infecções respiratórias, gastrointestinais e renais. O vírus *Herpes simplex* tipo 1 foi encontrado em escovas dentais úmidas, sobrevivendo por mais de 7 dias. Os autores recomendam para pacientes hospitalizados, além do treinamento da técnica de escovação, que se efetue a esterilização das escovas, ou que se utilize escovas descartáveis.

A eficácia do Dentec 4000, um parêlo de luz ultravioleta, na desinfecção de escovas dentais, foi avaliada por Fratto et al., em 1990. As escovas foram imersas em suspensões de *S. pyogenes*, *Escherichia coli* e estreptococos do grupo mutans e incubadas a 37°C, por 48 horas. Decorrido esse período, cada escova foi colocada em um recipiente parcialmente fechado contendo ágar, e deixada à temperatura ambiente por 0, 5 e 10 minutos, 1, 4 ou 8 horas. Em seguida, cada escova foi imersa em uma solução de NaCl a 0,45% e agitada. Um mL dessa suspensão foi retirado e esfregado sobre uma lâmina contendo meio próprio para os microrganismos avaliados. Após 48 horas de incubação a 37°C, foi confirmada a contaminação das escovas dentais, por meio da leitura da densidade microbiana na lâmina. As escovas contaminadas foram expostas ao aparelho de ultravioleta (UV) por 2 ou 5 minutos. Após 2 minutos de exposição à UV, observou-se uma redução média na densidade microbiana de 1,80, em 90,0% das amostras examinadas. Depois de 5 minutos de exposição, a redução encontrou-se entre 90,0 e 100,0%. Segundo esses autores, o

aparelho de UV desempenha um papel importante no controle da transmissão de infecções, via escovas dentais.

Nos últimos anos, segundo Glass (1990), vários trabalhos têm evidenciado uma grande quantidade de microrganismos em escovas dentais de pacientes saudáveis e doentes. Esses microrganismos são capazes de ocasionar alterações na cavidade bucal, infecções respiratórias e, possivelmente, infecções renais. Próteses totais são artefatos contaminados por microrganismos; não somente na sua superfície. Dependendo da profundidade das porosidades da prótese total, essas podem ser infectadas em curto espaço de tempo, após 8 horas de contato com os microrganismos. As esterilizações de escovas dentais e próteses totais são recomendadas.

De acordo com Glass et al. (1991), utensílios de uso pessoal como escovas dentais e fio dental podem ser fontes de transmissão de doenças. Esse problema pode se intensificar nos casos de viagens, transporte das escovas em recipientes contaminados, facilidade de exposição em banheiros ou, ainda, nos casos de exposição à água contaminada. Esses microrganismos podem invadir facilmente no organismo durante a escovação ou o uso do fio dental. A partir da década de 80, os autores avaliaram a relação da contaminação de escovas dentais e fio dental e a transmissão de doenças. O fio dental apresenta menor contaminação que as escovas, porém pode transmitir doenças quando infectado. São feitas recomendações sobre

o uso de escovas descartáveis e a necessidade da esterilização de escovas dentais para pessoas que viajam constantemente.

Em 1992, Glass avaliou escovas e próteses totais contaminadas, relacionando-as à transmissão de doenças. Com relação às escovas dentais, constatou que: 1- As escovas de pacientes saudáveis e com doenças inflamatórias na cavidade bucal apresentavam níveis significativos de microrganismos patogênicos e oportunistas; 2- Durante sua fabricação, as escovas podem ser contaminadas e transmitir doenças aos futuros usuários; 3- Na opinião dos pacientes, o fato das escovas tornarem-se contaminadas durante a escovação não é relevante o bastante para que os mesmos troquem as escovas; 4- Escovas mantidas em ambientes úmidos, como por exemplo o banheiro, retêm microrganismos por até 7 dias; 5- Quanto mais cerdas por tufo e quanto mais tufos por escova, maior a retenção de vírus; 6- Escovação repetitiva com a mesma escova, durante 1 mês, resultou em maior número de infecções e com maior intensidade; 7- Pacientes que apresentam doenças inflamatórias na cavidade bucal relatam melhora nos sintomas após trocarem suas escovas; 8- Indivíduos saudáveis devem trocar suas escovas a cada 2 semanas, enquanto que os pacientes que apresentam patologias na cavidade bucal ou patologias sistêmicas, ou que estejam fazendo o uso de quimioterapia, ou que tenham sido submetidos à cirurgia cardíaca ou transplante de órgãos, devem trocar suas escovas mais freqüentemente; 9- As próteses totais também podem ser infectadas por

microrganismos, em sua superfície ou em sua porção interna. Estas podem ser desinfetadas utilizando pastilhas de Micostatin, alvejante clorado ou detergente de máquina de lavar roupa, entre outros.

Em 1993, Glass & Shapiro questionaram se a troca de escovas dentais com maior frequência (a cada 2 semanas) influenciaria no sucesso do tratamento de pacientes com doenças inflamatórias na cavidade bucal. Cinquenta e nove desses pacientes receberam escovas dentais novas, sendo instruídos a descartar suas escovas velhas e utilizar enxaguatórios e dentifrícios com bicarbonato de sódio. Recomendaram que as escovas dentais fossem guardadas expostas ao ar livre no quarto, e não no banheiro, que é o ambiente mais contaminado das residências. Sem levar em conta a natureza do processo da doença e a cultura microbiana, 55 pacientes relataram melhora dos sintomas, apenas com a troca das escovas. Dos 4 pacientes restantes, 3 relataram que mantiveram suas escovas velhas e 1 relatou que não usava escova dental. Dos 59 pacientes, 20 (34,0%) não necessitaram de tratamento adicional após a troca das escovas, e os outros 39 pacientes foram tratados com vibramicina. Os autores concluíram que apenas trocando as escovas dentais, doenças como mucosite, aftas, glossite, gengivite descamativa e líquen plano, entre outras, podem ser eliminadas.

Vários autores relataram ser rara a transmissão do vírus HIV de maneira que não seja sexual ou pericutânea. Observando 4 casos descritos

na literatura, Glass et al., em 1994, pesquisaram se as escovas dentais poderiam abrigar o vírus HIV, atuando como possíveis veículos de transmissão. Seis escovas de dente de pacientes HIV-positivos, duas escovas de indivíduos não infectados e duas escovas novas foram utilizadas no estudo. Um feixe de cerdas de cada escova foi retirado, colocado em um tubo esterilizado que, por sua vez, foi colocado em gelo seco e enviado à Universidade de Louisville, onde foram manipuladas, utilizando-se três diferentes reações em cadeia de polimerase (PCR), que são técnicas utilizadas para verificação da presença de DNA proviral de HIV. Enquanto uma escova de dente de um paciente HIV positivo foi também positiva para o DNA proviral de HIV, 5 escovas dentais de pacientes positivos foram negativas para o DNA proviral. Baseados nesses dados, o risco potencial de transmissão de HIV via escovas de dente deve ser considerado, para o controle de reinfecção ou transmissão de HIV. Atenção apropriada deve ser direcionada à manutenção de uma adequada higiene das escovas dentais.

Em 1994, Glass & Jensen testaram a eficácia do aparelho de ultravioleta DS60 (Pollenex) na redução do número de bactérias (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* e *Serratia marcescens*), leveduras e vírus (*Herpes simplex* tipo I e vírus *Parainfluenza* tipo III). Onze escovas dentais esterilizadas foram incubadas em 7mL de suspensão de bactérias e leveduras por 10 minutos. Dessas escovas contaminadas, 3 foram colocadas em tubo esterilizado

(inóculo controle), 4 foram colocadas no aparelho de ultravioleta DS60 por 24 horas e outras 4 escovas colocadas em uma estante no interior de uma câmara bacteriológica à temperatura ambiente, por 24 horas. Diluições seriadas foram semeadas, em duplicata, e as placas incubadas a 37°C, por 24 a 48 horas. Após esses procedimentos, realizaram a contagem das colônias bacterianas. Outras 144 escovas esterilizadas foram expostas aos dois tipos de vírus (72 escovas para cada grupo), por 10 minutos. Doze escovas de cada grupo foram imersas em HBSS (solução salina balanceada de Hanks), centrifugadas por 45 segundos e, subsequentemente, foi quantificado o nível viral. Trinta escovas contaminadas sofreram exposição ao aparelho de ultravioleta DS60 e 30 à luz natural, ambos por 24 horas. Decorrido este período, as escovas foram colocadas em HBSS, centrifugadas por 45 segundos e, posteriormente, as partículas virais foram quantificadas. O aparelho de ultravioleta DS60 foi eficaz na redução do número de bactérias e leveduras e eliminou ambos os tipos de vírus das escovas contaminadas.

A contaminação de escovas dentais de crianças de 4 a 6 anos de idade foi estudada por Malmberg et al., em 1994, com a finalidade de verificar se as escovas constituíam fontes potenciais de transmissão de infecções. Foram avaliadas 44 escovas de crianças de 4 creches da cidade de Goteborg, as quais realizaram a escovação duas vezes ao dia, sem dentifrício. As escovas foram recolhidas 2 horas após o uso e transportadas

ao laboratório para análise microbiológica. Os estreptococos, principalmente *S. salivarius*, *S. sanguis* e *S. mitis* foram os microrganismos mais freqüentes e, geralmente, constituíam a maior parte dos microrganismos (média de 50,0%). Estreptococos beta-hemolíticos não foram encontrados em nenhuma amostra. *Haemophilus* foram observados em 82,0% das amostras, sendo o *H. parainfluenza* o mais freqüente. *H. influenza* foi identificado em apenas uma amostra. Anaeróbios constituíram, em média, um terço dos microrganismos presentes. Os estafilococos foram identificados em 86,0% das amostras, com predominância de *S. epidermidis*. Fungos foram encontrados em 50,0% das amostras, sendo que foi identificado um grande número de microrganismos entéricos nas escovas de uma das creches. Estes resultados evidenciaram que as escovas, após seu uso, encontram-se extremamente contaminadas por microrganismos, provenientes tanto da cavidade bucal quanto do ambiente. O nível de microrganismos nas escovas provavelmente está em íntima relação com o grau de secagem após o uso, na dependência também do tempo e de como essas são armazenadas. Suporte para escovas em ambientes ventilados parece ser o método preferido de armazenamento. A escovação dental não supervisionada dá oportunidade às crianças institucionalizadas de brincarem com as escovas, as quais podem estar contaminadas com microrganismos do ambiente ou advindos das escovas de outras crianças. Mesmo se o risco de infecção por esses microrganismos for considerado baixo, isso não é aceitável do ponto de vista higiênico.

A hipótese de que as escovas dentais utilizadas para a higiene bucal poderiam servir como reservatório de bactérias levou Carvajal et al. (1995) a realizarem um estudo com 15 pacientes apresentando periodontite moderada não tratada. Os pacientes receberam uma escova nova e foram instruídos a realizar sua higiene bucal de forma habitual, somente pela manhã, sem utilizar dentífrico, durante 15 dias. Após o uso, as escovas deveriam ser enxaguadas e guardadas sem cuidados especiais. Aleatoriamente, selecionaram filamentos de cada amostra experimental e controle (escova sem uso), os quais foram processados para microscopia eletrônica de varredura. As escovas da amostra experimental evidenciaram a presença de populações bacterianas na forma de cocos e bacilos. As bactérias foram vistas formando placas aderidas aos filamentos. Baseados nos resultados obtidos, os autores concluíram que pode ocorrer contaminação da escova dental, quando utilizada de forma habitual, e que essa constitui um veículo de transmissão de bactérias.

Em 1995, Caudry et al. demonstraram, quantitativamente, a presença de microrganismos aderentes às cerdas das escovas dentais. Também, avaliaram a eficácia de vários agentes anti-sépticos bucais sobre microrganismos originários das escovas dentais. Foram avaliadas 20 escovas dentais usadas por indivíduos saudáveis por 12 meses. Os seguintes agentes antimicrobianos foram testados: Virkon 1% (detergente à base de peróxido de hidrogênio), Listerine, Cepacol (cloreto de cetilpiridínio), Scope e Plax.

Além disso, 6 voluntários testaram a eficácia do Listerine na prevenção da contaminação de escovas dentais, por meio de imersão no agente antimicrobiano, por 20 minutos, após a escovação. O Listerine foi trocado a cada 3 dias, durante 3 meses quando, então, as escovas foram submetidas à cultura microbiana. O efeito antibacteriano do Virkon, Listerine, Cepacol, Scope e Plax foram testados em várias espécies de microrganismos, incluindo *Candida albicans*, *Mycobacterium smegmatis*, *M. bovis* e *Streptococcus mitis*. Os resultados evidenciaram que foram desalojados de cada escova uma média de 4×10^3 ufc/mL de microrganismos. O Virkon e o Listerine eliminaram todas as espécies de microrganismos testados, e todos os microrganismos nas cerdas das escovas dentais. O Plax e o Scope mostraram-se menos eficazes. Concluíram que mergulhar as escovas em Listerine por 20 minutos foi suficiente para eliminar a contaminação bacteriana das mesmas.

Cesco et al. (1995) realizaram um estudo com a finalidade de avaliar o nível de contaminação das escovas dentais por estreptococos do grupo mutans. Analisaram 300 escovas, sendo 150 escovas do tipo monobloco, com hastilhas (Bignelli/FORP/USP/FIPEC), e 150 escovas do tipo segmentadas, com cerdas (Johnson & Johnson 30), de 50 crianças de 3 a 7 anos. Na primeira fase, as escovas foram usadas apenas uma vez e foram imediatamente processadas. Na segunda fase, as escovas foram utilizadas 3 vezes ao dia, durante 5 dias, quando foram imediatamente processadas. Na

terceira fase, as escovas foram usadas por 5 dias e deixadas à temperatura ambiente durante 4 horas. Os estreptococos do grupo mutans estavam presentes em 3 (6,0%) das escovas Bignelli e em 12 (24,0%) das escovas do tipo segmentadas, usadas uma única vez. Foram obtidas culturas positivas em 7 (14,0%) das escovas Bignelli e 25 (50,0%) das escovas Johnson & Johnson 30, utilizadas por 5 dias e processadas imediatamente. Em 4 (8,0%) e 13 (26,0%) das escovas Bignelli e escovas do tipo segmentadas, respectivamente, processadas depois de 4 horas, também foram encontrados os estreptococos do grupo mutans. Estes dados mostram que as escovas convencionais com múltiplas cerdas retêm mais estreptococos do grupo mutans do que as escovas do tipo monobloco.

Glass et al., em 1995, descreveram o caso de um paciente HIV-positivo que não apresentava manifestações sistêmicas da doença, a não ser uma lesão vascular na região gengival anterior da maxila e no palato. O paciente foi encaminhado a um cirurgião, para biópsia das lesões vasculares, e para um higienista dental, que realizou profilaxia e orientou o paciente a utilizar 2 escovas por dia, as quais deveriam ser trocadas semanalmente e guardadas, após o uso, na lavadora de louças. A biópsia revelou a presença de Sarcoma de Kaposi, com ausência de microrganismos. As lesões foram observadas semanalmente, durante 3 meses e, neste período, o paciente não recebeu prescrição adicional, a não ser um multivitamínico. Decorrido um ano do diagnóstico, a lesão no palato dobrou de tamanho, sendo

indicada a radioterapia. A lesão gengival havia desaparecido. Se as lesões tivessem sido provocadas por um microrganismo como a *Rochalimaea henselae*, sua transmissão via escova de dente para outras partes da cavidade bucal e/ou a reinfecção das lesões poderia ocorrer. A associação possível entre a escova dental e a redução da lesão gengival maxilar pode ser devido à redução da inflamação e não à reintrodução de microrganismos pela escova de dente.

Para avaliar a contaminação de escovas dentais por parasitas intestinais e por coliformes, Borges et al. (1996) analisaram as escovas dentais e as fezes de 98 crianças de ambos os sexos, de 1 a 14 anos de idade, pertencentes a famílias de baixa renda, moradores de bairro de periferia. Os participantes do estudo responderam a um questionário sobre o uso das escovas dentais e higiene pessoal. Cada indivíduo trouxe a sua escova dental, a qual foi mergulhada em soro fisiológico e agitada por 3 a 5 minutos. Em seguida, a escova foi retirada do tubo e avaliada sob o ponto de vista das condições físicas da mesma. Para pesquisa de coliformes, 0,5 mL das amostras foram inoculadas em 2 tubos de Caldo Verde Brilhante Bile Lactose – Brila (Merk) e incubadas a 37°C, por 48 horas. Para pesquisa de parasitas intestinais foram centrifugados 10mL do material em soro fisiológico a 3000 rpm, por 15 minutos. A seguir, o sobrenadante foi desprezado e o sedimento examinado ao microscópio. As amostras de fezes foram submetidas ao exame parasitológico pelo método de Hoffmann. De

acordo com os resultados obtidos, 55,5% dos exames parasitológicos de fezes foram positivos, e 16,46% das escovas dentais apresentaram contaminação por coliformes fecais. Os autores concluíram que a escova dental é um veículo transmissor de parasitoses intestinais e de outras doenças e que, em alguns casos, essa é compartilhada por outras pessoas. As comunidades devem ser informadas e incentivadas a assumir a responsabilidade das medidas higiênicas ideais e viáveis, com o objetivo de evitar a disseminação de doenças.

Segundo critérios da *Food and Drug Administration's – FDA*, Glass et al. (1996) avaliaram a luz ultravioleta (UV) na desinfecção de escovas dentais. Escovas dentais foram esterilizadas e, em seguida, contaminadas com um dos seguintes microrganismos: *Candida albicans*, *Streptococcus* beta-hemolíticos e *Capnocytophaga gingivalis*. Duas escovas foram contaminadas com cada microrganismo e, em seguida, foram incubadas para servirem como controle. Cinco escovas para cada microrganismo foram colocadas em um dispositivo que simulava as condições do banheiro, e cinco escovas por microrganismo foram colocadas no aparelho de luz ultravioleta. Todas as escovas foram processadas e as unidades formadoras de colônia (ufc) contadas após 24 e 48 horas. Uma redução de no mínimo 1×10^2 ufc foi observada nas escovas com os microrganismos *Candida albicans* e *Streptococcus* beta-hemolíticos tratados com luz ultravioleta, quando comparadas com o controle. Com relação à *Capnocytophaga gingivalis*, foi

observada uma redução de 3×10^6 ufc nas escovas tratadas com luz ultravioleta. O aparelho de luz ultravioleta mostrou ser eficaz na eliminação ou na redução do número de microrganismos encontrados nas escovas dentais.

Meier et al. (1996) realizaram um estudo para confirmar as evidências de que o cloreto de cetilpiridínio (CCP) constitui uma solução prática para a eliminação de microrganismos residuais de escovas dentais secas ao ar, e de escovas armazenadas em dispositivos para viagem. Cinquenta e duas escovas sintéticas esterilizadas foram contaminadas com culturas de *Staphylococcus epidermidis* ou *Candida albicans*. Metade das escovas receberam aplicação de spray de CCP, 3 vezes consecutivas, sobre as cerdas, enquanto a outra metade serviu como controle. As escovas permaneceram nos dispositivos ou ao ar livre para secagem, por 12 horas, sendo a seguir submetidas à cultura microbiana. Os resultados evidenciaram que o CCP ocasionou uma diminuição significativa dos microrganismos residuais nas cerdas das escovas. O uso do spray de CCP nas escovas secas ao ar livre reduziu o número de *Staphylococcus epidermidis* em 100 vezes, enquanto a *Candida albicans* apresentou 94,0% de redução do crescimento. As contagens bacterianas foram maiores nas escovas armazenadas em dispositivos fechados, quando comparadas com as escovas armazenadas ao ar livre. Apesar desta redução, o tratamento com CCP não eliminou completamente o crescimento bacteriano. Porém, a redução dos níveis

bacterianos pode ser significativa quando se considera indivíduo comprometido imunologicamente. Os autores concluíram que o CCP parece ser um desinfetante eficaz para escovas dentais, frente aos microrganismos testados. É um método prático e econômico que poderia, facilmente, ser introduzido nas recomendações do controle de infecção.

Verran & Leahy-Gilmartin (1996) investigaram a contaminação microbiana de escovas dentais utilizadas por 28 indivíduos. A parte ativa das escovas foi seccionada, agitada por 10 segundos em 10mL de PBS esterilizado, colocada em banho de sonicação por 20 segundos e, posteriormente, foram novamente agitadas em aparelho Vortex Mixer por 30 segundos. A suspensão resultante foi diluída a 10^{-2} e ambas, suspensão pura e diluída, foram inoculadas em vários meios de cultura seletivos, pela técnica de semeadura em caracol (espiral). Após incubação, a contagem microbiana por escova foi calculada, observando-se que o total de microrganismos isolados por escova variou de 0 a 10^8 ufc. Estafilococos, coliformes, pseudomonas e leveduras foram isoladas de 64, 57, 28 e 39% das escovas, respectivamente. Os testes de identificação evidenciaram que os meios seletivos para estafilococos, coliformes, pseudomonas e leveduras eram apropriados, com mais de 90% de eficiência. Em ágar MacConkey, 8 de 11 colônias foram negativas para oxidase. Nenhum microrganismo anaeróbio pigmentado de negro foi isolado e nenhum dos 17 tipos de colônias em ágar seletivo para *Helicobacter* provou pertencer àquele gênero. A microscopia

eletrônica das cerdas revelou restos de dentifrício, porém microrganismos não estavam evidentes.

Glass et al. (1997) avaliaram o efeito da luz ultravioleta na redução da quantidade de microrganismos de escovas dentais *in vivo*. Foram fornecidas escovas novas, esterilizadas, com 2 fileiras de cerdas, a 10 indivíduos, sendo os mesmos instruídos a guardá-las no banheiro após o uso diário, por 2 semanas. Outro grupo de escovas foi submetido aos mesmos procedimentos descritos, sendo as escovas guardadas em um aparelho de luz ultravioleta. As escovas foram coletadas e processadas para análise microbiana, sendo as unidades formadoras de colônia (ufc) contadas após 24 e 48 horas de incubação. De acordo com os resultados obtidos o aparelho de luz ultravioleta apresentou eficácia na eliminação ou redução do número de microrganismos nas escovas dentais.

Pinto et al. (1997) avaliaram a presença de microrganismos anaeróbios da cavidade bucal em escovas dentais, após seu uso, avaliando a possibilidade de transmissão indireta. Os autores selecionaram, aleatoriamente, 20 pacientes adultos de 15 a 60 anos, de ambos os sexos, com diagnóstico clínico de periodontite. Cada paciente recebeu uma escova dental esterilizada por semana, acondicionada em tubo de ensaio, durante 4 semanas consecutivas. A cada semana, os pacientes escovavam as faces vestibulares e linguais ou palatinas dos dentes, por um minuto. Após a

escovação, as escovas foram inoculadas em tubos contendo 5mL de caldo BHI-PRAS (caldo infusão de cérebro e coração pré-reduzido). Posteriormente, os 20 tubos foram incubados em jarras de anaerobiose, a 37°C, durante 7 dias. Na 2^a, 3^a e 4^a semanas as escovas dentais, após o uso, foram recolocadas nos tubos de ensaio, à temperatura ambiente, por zero, 24 e 48 horas e sete dias, respectivamente. Em seguida, foram inoculadas em caldo BHI-PRAS, sendo os tubos incubados em jarra de anaerobiose a 37°C, também por 7 dias. A leitura foi realizada pela observação da turvação do meio de cultura. O material foi submetido à coloração de Gram. Observaram que 100,0% das amostras apresentaram crescimento microbiano nos tempos 0, 24 e 48 horas. Ausência de crescimento foi observada após 7 dias de exposição das escovas dentais às condições ambientais apenas em 10,0% das amostras (2 escovas). Concluíram que quanto maior o tempo de permanência das escovas em condições ambientais, menor a densidade do crescimento microbiano. As escovas dentais expostas às condições ambientais por tempo zero apresentaram um número maior de cocos Gram-positivos e poucas bactérias Gram-negativas. Após 24 horas, ainda houve um predomínio de Gram-positivos e de bacilos filamentosos Gram-negativos. Decorridas 48 horas, verificou-se uma alteração nos morfotipos microbianos, com aumento das bactérias Gram-negativas. Após 7 dias houve diminuição das formas Gram-negativas e predomínio de bacilos Gram-positivos.

Verran et al., em 1997, analisaram fatores que poderiam influenciar na contaminação microbiana de escovas dentais. O período de uso, o tipo de dentifrício utilizado (contendo ou não citrato de zinco e triclosan) e o uso de escovas antimicrobianas (com cerdas de nylon apresentando prata incorporada durante a fabricação) foram analisados nesse estudo em 120 casos. Os resultados indicaram uma grande contaminação microbiana das escovas por estreptococos, estafilococos, enterococos, pseudomonas e leveduras. As contagens de ufc das escovas utilizadas à noite foram significativamente menores que as das escovas usadas pela manhã. O dentifrício contendo triclosan e citrato de zinco, comparado ao dentifrício placebo, ocasionou redução significativa na contagem total de microrganismos e nas contagens de enterococos, estreptococos e estafilococos. A contaminação não foi influenciada pelo uso das escovas por 2, 4 ou 6 semanas, e a utilização das escovas antimicrobianas não apresentou efeitos significantes na redução da contaminação. Os autores concluíram que a contaminação microbiana das escovas dentais pode ser reduzida por meio da utilização de dentifrícios contendo triclosan e citrato de zinco.

O artigo publicado pela Dra. Mary Zolnowski-Casey, em maio de 1998, no *Journal of American Dental Association*, foi criticado por Glass (1998). Nesse artigo, a autora relatava que dos 16.000 artigos publicados sobre escovas dentais, somente 2 eram relativos à desinfecção das mesmas,

e sugeria o armazenamento das escovas no banheiro. Segundo Glass, tendo sido ele o primeiro pesquisador a abordar os problemas de transmissão de doenças pela escova dental, publicou 18 artigos e resumos sobre os cuidados relativos às escovas dentais. Segundo o autor, quando a escova é guardada no banheiro, que é a parte mais contaminada da casa, amplia-se o problema da contaminação da escova. Relatou também que, de acordo com seus estudos, a única maneira de se eliminar uniformemente os microrganismos aeróbios, anaeróbios facultativos e obrigatórios, fungos e vírus de escovas contaminadas era por meio do armazenamento das mesmas em artefato com luz ultravioleta ("Purebrush Antibacterial Toothbrush Storage System – Murdock Laboratorius"). Tratamentos físicos, como sugerido pela Dra. Zolnowski-Casey, lavadoras de louças, fervura, autoclavagem e forno de microondas não eliminam grandes quantidades e grupos de microrganismos, ou inutilizam as escovas. O óxido de etileno é capaz de esterilizar as escovas dentais, porém trata-se de um produto químico carcinogênico, com grande afinidade para o plástico da escova dental e para as cerdas, sendo inadequado para uso regular.

O artigo de Taji & Rogers (1998) sobre a contaminação bacteriana de escovas dentais foi comentado por Ramli, em 1998. Apesar do número de participantes ser pequeno, reiterou algumas conclusões como: as escovas dentais podem abrigar microrganismos; e que a escovação em pacientes com doença periodontal avançada ocasiona mais bacteriêmias que em

pacientes com boa higiene bucal. Salientou também, que o banheiro, lugar onde normalmente se guardam as escovas, é um dos fatores responsáveis pela contaminação das mesmas. É essencial lavar as mãos antes de efetuar a escovação, e escolher bem o local para guardar as mesmas.

A eficácia de uma película de clorexidina sobre os filamentos de nylon das escovas interdentais, na redução da contaminação microbiana, foi estudada por Suido et al., em 1998. Vinte pacientes com doença periodontal moderada utilizaram diariamente escovas interdentais com a película de clorexidina e sem a película (controle), por uma ou duas semanas. Após a utilização, cada escova foi exposta ao meio externo (20-22°C e 65% de umidade relativa) por 24 horas, para secagem. As escovas foram, então, colocadas separadamente em placas com meio contendo *Staphylococcus aureus*. A zona de inibição foi medida por um analisador de imagem. Os resultados demonstraram atividade antimicrobiana dos filamentos com a película, após uma ou duas semanas de uso. A atividade antimicrobiana residual dos filamentos após uma semana foi significativamente maior que a encontrada após duas semanas. O número de bactérias aderidas aos filamentos com película de clorexidina foi menor, comparado aos filamentos não revestidos. Os resultados sugeriram que filamentos de escovas interdentais revestidos por clorexidina reduzem significativamente a contaminação bacteriana, e que esta atividade antimicrobiana permanece por mais de duas semanas de uso.

A contaminação microbiana de escovas dentais foi avaliada por Taji & Rogers (1998), em um estudo piloto. Dez indivíduos adultos receberam uma escova nova do mesmo tipo e marca, e dentifrícios fluoretados idênticos, sendo solicitado que seguissem sua prática habitual de higiene bucal por um período de três semanas. Ao final desse período, as escovas foram coletadas e submetidas ao processamento microbiológico. Cada escova foi seccionada e a porção da cabeça transferida para tubos de ensaio contendo 10 mL de PBS esterilizado. O conteúdo dos tubos foi homogeneizado em mixer por 60 segundos, seguido por ultra-som por 30 segundos e novamente em mixer por 15 segundos. Para identificar algumas variáveis que poderiam influenciar na contagem microbiana nas escovas, os autores obtiveram as seguintes informações: método usado para lavagem das mesmas, forma e local de armazenamento pós-lavagem, frequência de escovação e o uso da pré-lavagem da boca. Lesões de cárie abertas, evidência de doença periodontal e anormalidades de mucosa foram parâmetros também avaliados. O número total de microrganismos variou de 10^4 a 10^6 unidades formadoras de colônia por escova. Estafilococos foram encontrados em todas as escovas e estreptococos em apenas uma escova, sendo esses 2 gêneros quantitativamente dominantes. *Candida*, corinebactérias, pseudomonas e coliformes foram identificados em 70, 60, 50 e 30% das escovas, respectivamente. Entretanto, estreptococos do grupo mutans, lactobacilos e anaeróbios Gram-negativos pigmentados de negro não foram detectados. Não houve relação aparente entre as variáveis

avaliadas e os microrganismos presentes. Os autores sugeriram a necessidade de estudos adicionais.

Zolnowski-Casey (1998) avaliou quatro métodos de desinfecção de escovas dentais: enxágüe, imersão em água fervente; imersão em detergente de cozinha e lavagem em máquina de lavar louças. Após os processamentos, as escovas foram semeadas em meio sólido. O autor concluiu que o método de lavagem em máquina de lavar louça foi o mais eficaz seguido de imersão em água fervente.

Motzfeld et al., em 1999, realizaram um estudo com o objetivo de avaliar a contaminação por microrganismos bucais, de escovas dentais usadas de forma rotineira. Quarenta escovas dentais de alunos do 1º ano da Escola de Odontologia da Universidade do Chile foram recolhidas, sem levar em conta suas condições, marca comercial e tempo de uso. As escovas foram colocadas, separadamente, em tubos de ensaio contendo o meio tioglicolato e incubadas por 24 horas. Posteriormente, de cada tubo foram retiradas amostras, as quais foram semeadas em vários meios de cultura seletivos para *S. mutans*, *Candida*, *Lactobacillus* e aeróbios facultativos totais. Os resultados das culturas mostraram uma pequena porcentagem de *S. mutans* e *Candida* (2,8%), e de *Lactobacillus* (1,2%), porém altas porcentagens de aeróbios facultativos (100,0%). Os baixos valores obtidos para alguns microrganismos podem ser decorrentes dos dentifrícios, dentre

outros fatores, os quais contêm produtos químicos que inibem certos microrganismos, além de apresentar propriedades antienzimáticas.

Zarski & Leroy, em 1999, sugeriram algumas recomendações para pacientes infectados pelo vírus da hepatite C (HCV), bem como para os membros da família e parceiros sexuais, tendo em vista que o vírus, normalmente transmitido por via parenteral, também pode ser transmitido por outras vias. Mesmo sendo baixo o risco de transmissão sexual e por contatos em ambiente domiciliar, recomendaram o uso de preservativos nos casos de parceiros múltiplos ou nos casos de alto risco de transmissão. Os pacientes HCV-positivos não devem doar sangue, órgãos ou outros tecidos. Embora o risco de transmissão após acidentes com agulhas também seja reduzido, justifica-se o emprego das medidas de precaução universal para os profissionais da área de saúde. A transmissão hospitalar foi descrita após a realização de procedimentos médicos, especialmente hemodiálise e endoscopia. A gravidez não é contra-indicada nesses pacientes, uma vez que a transmissão perinatal é rara e a amamentação é permitida. Os pacientes com doença ativa devem abster-se da ingestão de álcool, principalmente durante a fase da terapia antiviral. Segundo os autores, alguns objetos de uso pessoal, como giletes, cortadores de unhas e escovas dentais não devem ser compartilhadas.

Long et al., em 2000, avaliaram a presença de enterobactérias em escovas dentais, e se a forma de acondicionamento e limpeza influenciavam na contaminação das mesmas. Participaram do estudo 3 grupos de 10 pessoas, orientados a efetuar a escovação 3 vezes ao dia, com escova dental Kolynos Doctor Flexível e dentifrício Sorriso Ação Total. O primeiro grupo foi orientado a guardar as escovas no armário embutido na parede do banheiro; o segundo grupo acondicionou a escova dental na caixa de acrílico original da mesma, guardando o conjunto em um local que não fosse sobre a pia; e o terceiro grupo colocou a escova em um copo, sobre a pia do banheiro. Após um mês de uso, as escovas dentais foram recolhidas para análise microbiológica em meios seletivos. Apenas 11 (36,6%) das 30 escovas analisadas apresentaram crescimento bacteriano. Nenhuma das escovas acondicionadas no armário do banheiro apresentou crescimento bacteriano. Quatro escovas dentais (40,0%), pertencentes ao grupo acondicionado em caixas de acrílico, apresentaram crescimento bacteriano. O grupo que manteve o copo sobre a pia apresentou crescimento bacteriano em 7 escovas dentais (70,0%). Concluíram que o acondicionamento das escovas dentais interfere na viabilidade de enterobactérias nas mesmas.

Nelson-Filho et al. (2000) determinaram o nível de contaminação de escovas dentais de crianças, por estreptococos do grupo mutans, e avaliaram a eficácia de dois métodos de desinfecção, utilizando as técnicas de cultura e identificação microbiana e microscopia eletrônica de varredura

(MEV). Um total de 19 crianças, com faixa etária de 5 a 12 anos, de médio/alto risco bacteriológico à cárie, utilizaram escovas dentais Johnson's Jr e dentifrício Kolynos Super Branco, uma vez ao dia, durante 5 dias consecutivos. As escovas foram, então, imersas nas seguintes soluções, por um período de 20 horas: Grupo I – gluconato de clorexidina a 0,12%; Grupo II – hipoclorito de sódio a 1,0%; e Grupo III – água de torneira esterilizada. Em seguida, as escovas foram submetidas ao processamento microbiológico, sendo colocadas em tubos contendo o meio de cultura CaSa B (Caldo Sacarose Bacitracina), incubadas por 3 a 4 dias, a 37°C. Decorrido esse período, efetuaram a contagem do número de unidades formadoras de colônia de estreptococos do grupo mutans, em microscópio estereoscópico e luz refletida, com confirmação pela semeadura em SB₂₀. Além disso, as cerdas de duas escovas de cada grupo foram submetidas à análise em MEV. Demonstraram que não houve crescimento bacteriano nas escovas dos Grupos I e II. Por outro lado, no Grupo III evidenciaram o crescimento de estreptococos do grupo mutans em todas as escovas, em números variando de 21 a 120 ufc. Em MEV, observaram a formação do biofilme cariogênico aderido às cerdas das escovas de todos os grupos, nos casos de cultura positiva. Concluíram que a imersão em gluconato de clorexidina a 0,12% e em hipoclorito de sódio a 1,0% são métodos eficazes para a desinfecção de escovas dentais.

Otha et al. (2000) avaliaram, *in vitro*, a possibilidade de infecção viral mediada pelo sangue, em escovas dentais. Após serem mergulhadas em sangue, as escovas foram enxaguadas e foi efetuada a mensuração da quantidade de sangue retido nas cerdas. De acordo com os resultados obtidos, uma quantidade menor de sangue ficou retida nas escovas com cerdas de nylon, quando comparadas com aquelas de cerdas de pêlo de animal. Quanto menor a condensação das cerdas, menor foi a retenção do sangue. De acordo com esses resultados, supõe-se que o risco de infecção viral, em casos de escovas de dente compartilhadas por mais de uma pessoa, é baixo. Em adição, a adsorção de um componente da superfície do vírus às cerdas foi avaliada. Os resultados indicaram que a albumina, a solução SDS e diluentes dos dentifrícios inibem a adsorção do vírus às cerdas. Portanto, proteínas da saliva, assim como componentes dos dentifrícios, podem inibir a retenção de vírus às cerdas.

Chibebe & Pallos (2001) avaliaram *in vitro* a esterilização (*sic*) de escovas dentais contaminadas com *Streptococcus mutans*, *Candida albicans*, *Escherichia coli* e *Bacillus subtilis*, com o uso de um forno de microondas caseiro. Foram utilizadas 128 escovas divididas em quatro grupos de 32, sendo cada grupo contaminado com um dos microrganismos citados. Cada grupo foi exposto ao forno de microondas por 5, 7 e 10 minutos. Um dos grupos não foi submetido a essa exposição. A seguir, as cerdas das escovas foram semeadas em um meio de cultura líquido, o qual foi incubado a 37°C,

por 24 horas, quando então foi feita a primeira leitura. A segunda leitura (confirmação) foi feita após 1 semana. Os resultados obtidos demonstraram que a partir de 7 minutos de exposição todos os microrganismos foram eliminados. Concluíram que fungos, bactérias aeróbias e anaeróbias, incluindo uma forma de esporo, podem facilmente ser eliminados das escovas dentais, utilizando um forno de microondas convencional, durante sete minutos.

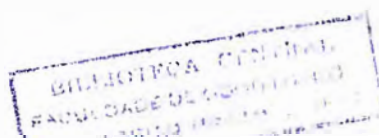
Em 2001, Lara et al. compararam a eficácia *in vitro* de diferentes soluções antimicrobianas, com diferentes princípios ativos, na desinfecção de escovas dentais, frente a alguns microrganismos específicos. As seguintes soluções aquosas foram avaliadas: Cosmocil CQ^Â (cloridrato de polihexametileno biguanida), Myacide Pharma Bp^â (Bronopol), cloreto de cetilpiridínio e gluconato de cobre, todos com efeito bactericida e/ou bacteriostático. O controle negativo foi uma solução isenta de substâncias ativas. As soluções foram preparadas por dissolução simples e foi medido o pH das formulações. A avaliação da atividade antimicrobiana foi efetuada pelo método de difusão de disco, frente a 23 microrganismos, empregando-se o meio Mueller Hinton e o Tryptic Soy Agar (TSA). Os inóculos foram semeados de acordo com as exigências nutricionais de cada organismo e incubadas a 37°C, por cerca de 20 horas. As placas foram mantidas à temperatura ambiente por 2 horas para pré-difusão, sendo então incubadas a 37°C, por cerca de 20 horas (TSA em sacos de plástico com ar expirado).

Decorrido o tempo de incubação, os halos e aros de inibição foram mensurados. Os resultados, após a análise estatística, evidenciaram diferenças na eficácia das diferentes formulações. Os autores concluíram que outras substâncias que não a clorexidina, o cloreto de cetilpiridínio, o triclosan e o hipoclorito de sódio podem também ser usadas para a desinfecção de escovas dentais. Todas as substâncias, quando foram usadas isoladamente em uma base comum, apresentaram atividade antimicrobiana. As associações de substâncias bactericidas avaliadas também apresentaram atividade.

Sanches et al. (2001) avaliaram o emprego do anti-séptico bucal Wash (Abbott Laboratório), à base de cloreto de cetilpiridínio a 0,05%, na desinfecção de escovas dentais utilizadas por 52 alunos do curso de graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia de Bauru - USP. Os alunos foram divididos em 3 grupos, de acordo com o número de dentes presentes nas arcadas. O primeiro grupo (grupo teste), composto por 20 estudantes, enxaguou as escovas em água corrente, após a escovação, e as manteve imersas em frascos de plástico contendo 10 mL de anti-séptico bucal Wash, até a próxima utilização, trocando a solução a cada três dias. O segundo grupo (controle negativo), composto também por 20 estudantes, procedeu da mesma maneira que o primeiro grupo, sendo as escovas mantidas em solução alcoólica a 77% V/V. O terceiro grupo (controle positivo), composto por 12 estudantes, efetuou a higienização bucal e, em

seguida, enxaguaram as escovas em água corrente e as mantiveram expostas ao ar, na posição vertical. As escovas dentais foram recolhidas após dois meses, para análise microbiológica. Os microrganismos avaliados foram os estreptococos do grupo mutans, *Staphylococcus aureus*, bacilos Gram-negativos, estreptococos bucais, pneumococos, meningococos, lactobacilos, leveduras e fungos. De acordo com os resultados obtidos, verificaram que a solução alcoólica utilizada nas escovas apresentou uma maior redução no número de unidades formadoras de colônia (ufc), seguida pela solução de cloreto de cetilpiridínio a 0,05%. Os autores concluíram que manter as escovas imersas em solução antimicrobiana, até sua próxima utilização, ocasiona redução da contaminação das mesmas.

O nível de bactérias em escovas dentais e interdentais, em relação ao uso de dentifrícios, foi avaliado por Quirynen et al. (2001). O estudo foi realizado com 12 pacientes de 38 a 63 anos, do Departamento de Periodontia do Hospital da Universidade Católica de Leuven – Bélgica, os quais estavam sob tratamento para periodontite crônica avançada. Todos os pacientes receberam profilaxia profissional com escovas interdentais (nos espaços interdentários), e foram submetidos à escovação com escovas novas, com e sem dentifrício. Após cada escovação, as escovas foram enxaguadas em água corrente de torneira, armazenadas e secas à temperatura ambiente. Em diferentes intervalos de tempo, as escovas interdentais ou 4 tufo das escovas foram submetidos à cultura microbiana.



Imediatamente após o enxágüe, as escovas dentais sem dentifrício abrigavam 10^7 , 10^8 e 10^7 unidades formadoras de colônia, respectivamente, de microrganismos aeróbios, anaeróbios e espécies pigmentadas de negro. Uma diminuição insignificante ocorreu nas primeiras 24 horas. Decorridas 48 horas, ainda havia 10^4 unidades formadoras de colônia de espécies aeróbias e anaeróbias. O nível de bactérias sobreviventes nas escovas foi bastante reduzido pelo uso do detergente contido nos dentifrícios, com relação às espécies aeróbias e anaeróbias.

Warren et al. (2001), em um estudo piloto *in vivo*, avaliaram o efeito de dentifrícios contendo triclosan sobre a contaminação residual de escovas dentais contaminadas. Vinte pacientes de 27 a 70 anos de idade, portadores de periodontite, da clínica da Universidade do Texas – Houston, participaram do estudo, e cada indivíduo participou tanto do grupo controle quanto do grupo experimental. Os dentes de uma arcada serviram como controle, não sendo escovados com dentifrício, e os dentes da outra arcada foram escovados com um dentifrício fluoretado (Colgate-Palmolive) contendo 0,15% de monofluorofosfato de sódio, ou com dentifrício contendo triclosan (0,3%) e fluoreto de sódio a 0,14% (Colgate Total). A escovação pela técnica de Bass foi realizada por um higienista dental, utilizando uma quantidade padronizada de dentifrício, por 30 segundos e escovas dentais *Crest complete* (Procter & Gamble). Após a escovação, as escovas foram enxaguadas por 10 segundos em água esterilizada e enviadas ao laboratório

para o processamento microbiológico. Foram utilizados meios de cultura seletivos para a detecção de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Aa); *Porphyromonas gingivalis* (Pg) e espécies de *Prevotella* (Ps), que são bactérias anaeróbias encontradas comumente nas doenças periodontais. Os resultados evidenciaram 85,0% de isolamento de Aa nas escovas do grupo controle, e 87,5% nas escovas do dentífrico fluoretado e 66,7% nas escovas do dentífrico contendo triclosan. As Pg foram observadas em 80,0% das escovas controle, 87,5% das escovas associadas ao dentífrico fluoretado e 83,3% das escovas associadas ao dentífrico contendo triclosan. Observaram 20,0% de frequência de Ps nas escovas controle e 8,3% nas escovas do dentífrico com triclosan. Nas escovas associadas ao dentífrico fluoretado não foram detectadas Ps. Foram isolados microrganismos periodontopatogênicos de escovas dentais deixadas secar, ao ar livre, por 4 horas após a escovação. Tanto o dentífrico fluoretado quanto o dentífrico contendo triclosan pareceram não inibir o desenvolvimento de microrganismos periodontopatogênicos nas escovas dentais. Portanto, muitas dessas bactérias sobrevivem e podem se estabelecer na cavidade bucal, sendo capazes de reinfetar pacientes a partir das escovas dentais que foram deixadas ao ar, para secagem. Reiteraram a afirmativa de que há contaminação microbiana residual nas escovas dentais e sugeriram a necessidade de estudos a longo prazo, tendo em vista que, nesse estudo, os pacientes efetuaram apenas uma escovação.

Em 2002, Isper avaliou, por meio de cultura microbiana e microscopia eletrônica de varredura (MEV), a contaminação das cerdas de escovas dentais de 30 crianças, por estreptococos do grupo mutans, em função do dentifrício utilizado, com ou sem triclosan. Os procedimentos clínicos foram divididos em três etapas, com intervalo de uma semana entre cada uma. Na primeira etapa, as crianças efetuaram a escovação apenas com água, na segunda com dentifrício fluoretado (Tandy) e na terceira com dentifrício contendo triclosan (Colgate Total). Ao término de cada etapa, as escovas foram submetidas à cultura microbiana, empregando o meio de cultura CaSa B. Quatro escovas de cada grupo foram observadas em MEV. Os resultados obtidos foram submetidos à análise estatística. No Grupo I (sem dentifrício), os estreptococos do grupo mutans estavam presentes em 93,3% das escovas, com número de unidades formadoras de colônia (ufc) variando de 11 a +100, sendo incontável em 12 escovas. No Grupo II (escovação com dentifrício fluoretado), 76,7% das escovas estavam colonizadas por estreptococos do grupo mutans, com número de ufc variando de 5 a +100, sendo incontável em 11 escovas. Por outro lado, apenas 40,0% das escovas dentais do Grupo III (escovação utilizando dentifrício contendo triclosan) encontravam-se contaminadas por estreptococos do grupo mutans, com números de ufc variando de 2 a +100, sendo incontável em apenas 2 escovas. Evidenciou, pela técnica de cultura microbiana e MEV, a formação de biofilme bacteriano cariogênico aderido às cerdas das escovas de todos os grupos com cultura positiva. Assim, o autor

concluiu que as cerdas das escovas dentais tornaram-se contaminadas por estreptococos do grupo mutans, após uma única escovação de 4 minutos, em 93,3% dos casos, e que a eficácia do dentifrício contendo triclosan (60,0%) foi significativamente maior que a do dentifrício fluoretado (23,3%) na redução da contaminação das cerdas de escovas dentais de crianças, por estreptococos do grupo mutans.

A eficácia de soluções antimicrobianas para desinfecção de escovas dentais, utilizadas por crianças, por meio das técnicas de cultura e de formação de biofilme, foi avaliada por Macari, em 2002. O estudo foi realizado pelo sistema *change-over*, constando de quatro etapas com intervalo de 3 a 4 dias entre cada uma. As 4 soluções (spray 1 – controle, spray 2 – placebo, spray 3 – com Cosmocil CQ^Â, ou spray 4 - Brushtox[®]) foram utilizadas pelas mesmas crianças, sob a forma de spray. As 40 crianças foram divididas aleatoriamente em 4 grupos de 10, sendo avaliadas as 4 soluções em cada etapa, em sistema de rodízio entre grupos. Em cada etapa, as crianças receberam, uma escova dental Magic Grip REACH[®] com dentifrício fluoretado Sorriso[®] e realizaram uma única escovação de um minuto. Após o enxágüe das escovas com água de torneira, cada solução foi borrifada (6 vezes) sobre as cerdas, a uma distância de no máximo 5 cm. As escovas foram fixadas em um suporte de isopor, acondicionado em contêiner fechado, levadas ao laboratório de Microbiologia (FCFRP – USP), e mantidas à temperatura ambiente, durante 4 horas sendo, em seguida, introduzidas

em meio de cultura CaSa B. A confirmação da identidade dos estreptococos do grupo mutans foi realizada em meio SB₂₀ modificado. Os resultados foram submetidos ao teste estatístico de Friedman e pós-teste de Dunn para análise da formação do biofilme cariogênico e aos testes de Cochran e de Wilcoxon para a verificação da inibição do desenvolvimento microbiano nas escovas. Em relação à formação de biofilme cariogênico, a análise estatística demonstrou que não houve diferença entre os sprays 2 (placebo), 3 (com Cosmocil CQ^Â) e 4 (Brushtox[®]), porém os três grupos foram estatisticamente diferentes do spray 1 (controle). O Brushtox[®] (spray 4), uma solução à base de etanol e biocidas, foi o mais eficaz em relação à inibição do desenvolvimento de microrganismos, seguido do spray 3 (com Cosmocil CQ^Â). O spray 1 (controle) e 2 (placebo), não apresentaram diferença estatisticamente significativa em relação à inibição do desenvolvimento microbiano. Assim, pôde-se concluir que os sprays 2 (placebo), 3 (com Cosmocil CQ^Â) e 4 (Brushtox[®]) foram eficazes na inibição da formação do biofilme cariogênico nas cerdas das escovas, e que o Brushtox[®] (spray 4) foi a solução antimicrobiana que demonstrou melhores resultados na inibição do desenvolvimento de microrganismos sobre as cerdas das escovas dentais de crianças.

A eficácia de diferentes soluções antimicrobianas, aplicadas sob a forma de spray, na desinfecção de escovas dentais foi avaliada *in vivo* por Sato (2002). Fizeram parte do estudo 30 voluntários adultos, sendo que cada

indivíduo utilizou quatro formulações antimicrobianas, uma por semana, borrifadas nas cerdas das escovas. As seguintes soluções foram avaliadas: 1) formulação básica (base) e clorexidina (CHX); 2) base e cloreto de cetilpiridínio a 0,05% (CCP); 3) base somente; e 4) água de torneira esterilizada (controle). Ao final de cada semana, as escovas foram introduzidas individualmente em tubos de ensaio contendo 10,0 mL de Caldo Letheen – Calet, sendo esses submetidos à agitação em um aparelho de ultra-som, de forma a desalojar os microrganismos aderidos nas cerdas das escovas, sem causar ruptura. Essa suspensão foi submetida à diluição decimal seriada em solução salina fosfatada tamponada (PBS). Foram feitas 5 sementeiras de 10,0 μ L de cada diluição, nos meios de cultura Ágar Sangue suplementado – Ask, Ágar Mitis Salivarius – Ms, Ágar Sangue – As e Ágar Eosina Azul de Metileno – EAM. Nos meios Ágar Sacarose Bacitracina - SB₂₀ e Ágar Gema de Ovo Hipertônico - Ni foi semeado um volume de 50,0 μ L de cada solução. As placas contendo os meios SB₂₀ e Ms foram incubadas em microaerofilia por 2-3 dias, em sacos de plástico, pelo sistema de ar expirado, a 37°C. As placas contendo o meio Ask foram incubadas em anaerobiose com o envelope Anaerobac, por 5 dias, a 37°C. Os meios As, Ni e EAM foram incubados em aerobiose, em estufa bacteriológica por 24-48 horas, a 37°C. Decorrido o período de incubação, foi feita a contagem do número de unidades formadoras de colônia por mL (ufc/mL), utilizando um microscópio estereoscópico sob luz refletida. Uma redução estatisticamente significativa na contaminação microbiana foi observada com os sprays 1

(base + CHX), 2 (base +CCP) e 3 (base), quando comparados com o controle. Essa redução foi mais acentuada quando a CHX ou o CCP foram adicionados à formulação. Desta forma, o autor concluiu que a utilização de substâncias antimicrobianas contendo CHX ou CCP na formulação básica, sob a forma de spray, é um método eficaz, prático e econômico para desinfecção de escovas dentais, atuando como agentes de promoção de saúde.

Silveira et al. (2002) avaliaram a eficácia de um porta-escovas na prevenção da contaminação de escovas dentais por coliformes fecais e parasitas intestinais. Um total de 108 indivíduos de diferentes faixas etárias participou desse estudo, inicialmente respondendo a um questionário para avaliação dos hábitos de higiene bucal e do modo de acondicionamento das suas escovas. O modelo de porta-escova foi construído a partir de garrafas descartáveis de refrigerante (Pet) de dois litros, cortadas ao meio, em secção diagonal. A amostra foi dividida em dois grupos de 54 indivíduos. Os participantes do grupo A receberam os porta-escovas, dentifrícios e escovas dentais, enquanto que os indivíduos do grupo B receberam somente as escovas dentais e os dentifrícios. Após 60 dias, as escovas dentais foram submetidas a exame microbiológico para pesquisa de coliformes, e exame parasitológico para pesquisa de parasitas intestinais. No grupo A observaram contaminação por coliformes em 29,6% das escovas, enquanto que no grupo B essa contaminação foi de 44,4% e, dentre essas, 5,5% com presença de parasitas intestinais. Concluíram que o uso de porta escovas é um método

simples e eficaz, que reduz o índice de contaminação das escovas dentais, apresentando grande importância na prevenção de doenças.

3. Proposição

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a contaminação de escovas dentais de pacientes portadores de necessidades especiais por estreptococos do grupo mutans, assim como a eficácia dos sprays de gluconato de clorexidina a 0,12% e de cloreto de cetilpiridínio a 0,05%, na desinfecção dessas escovas.

4. MATERIAL E MÉTODO

4. Material e Método

Após aprovação do projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa envolvendo seres humanos da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (Processo número 2002.1.471.58.9 – Anexo A), foi obtido o consentimento livre e esclarecido dos responsáveis por cada indivíduo participante da pesquisa, bem como da Diretoria Geral da APAE (Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais) da cidade de Ribeirão Preto –SP. Participaram do estudo um total de 45 indivíduos de 6 a 20 anos, de ambos os sexos, em fase de dentição mista e permanente, portadores de necessidades especiais. Inicialmente os participantes foram submetidos a uma sessão de motivação com relação à importância da saúde bucal e em seguida receberam, coletivamente, instruções sobre higienização da cavidade bucal.

O estudo foi dividido em três etapas (I, II e III), com intervalo de 3 a 4 dias entre cada etapa. A tabela 1 apresenta as soluções avaliadas em cada etapa do experimento (água de torneira esterilizada, Periogard ou Anti-Séptico Bucal Reach – Johnson & Johnson), as quais foram acondicionadas em frascos de plástico na forma de spray (Elyplast – São José do Rio Preto – São Paulo), no fluxo laminar (Veco – Campinas – SP).

Tabela 1 – Soluções avaliadas nas etapas I, II e III.

Etapa	Solução avaliada	Fabricante
I	Água de torneira esterilizada	-
II	Periogard (Gluconato de clorexidina a 0,12% - CHX – 0,12%)	Colgate Palmolive - Kolynos do Brasil Ltda.
III	Anti-séptico Bucal (Cloreto de cetilpiridínio a 0,05% - CCP – 0,05%)	Johnson & Johnson - Reach

Na primeira etapa, cada indivíduo recebeu uma escova dental Johnson 30, gentilmente cedida pela Johnson & Johnson – Reach (São José dos Campos - São Paulo - SP) e efetuou a escovação dental, durante um minuto, sob supervisão e com quantidade padronizada de dentifrício Sorriso – Kolynos do Brasil (Figura 1 - A e B), cobrindo 1/3 das cerdas, dispensada sobre a escova por um único profissional.

Após a escovação, as escovas foram enxaguadas pelos próprios indivíduos participantes, com água de torneira, e o excesso de líquido foi eliminado pelo profissional, batendo-se levemente o cabo da escova contra a borda da pia. A seguir, as escovas foram suspensas segurando-se pelo cabo, em posição vertical, com as cerdas voltadas para cima, a fim de evitar a contaminação das mesmas com matéria orgânica ou resíduos que pudessem escorrer do cabo para as cerdas.

A uma distância de no máximo 5 centímetros, a cabeça de cada escova (Etapa I – controle) foi borrifada (6 vezes) com água de torneira esterilizada (volume de aproximadamente 0,6mL), pelo profissional, em 6 direções diferentes: 1- sobre as cerdas, 2- do lado direito, 3- do lado

esquerdo, 4- atrás da cabeça da escova, 5- acima e 6- abaixo das cerdas. O excesso de solução foi removido batendo novamente o cabo da escova contra a borda da pia.

As escovas foram, então, fixadas em um suporte de isopor, evitando o contato entre elas, acondicionado em contêiner de papelão fechado, para evitar correntes de ar, e levadas ao laboratório de Microbiologia do Departamento de Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo, para processamento microbiológico.

Na segunda etapa, realizada após 72 horas, os mesmos indivíduos receberam uma nova escova, e repetiram os procedimentos descritos anteriormente. No entanto, nesta etapa (Etapa II: CHX – 0,12%) as escovas foram borrifadas (6 vezes) com Periogard - Colgate Palmolive - Divisão da Kolynos do Brasil Ltda. – São Paulo (Figura 1- C). De acordo com o fabricante, essa solução anti-séptica apresenta os seguintes componentes: gluconato de clorexidina a 0,12%, água, glicerina, etanol, polisorbato 20, composição aromática com sabor predominante de menta, sacarinato de sódio e corante FD&C Blue nº 1.

Decorridas 96 horas, os mesmos indivíduos participaram da terceira etapa do estudo, recebendo uma nova escova e efetuando os mesmos procedimentos já descritos. Nesta etapa (Etapa III: CCP – 0,05%), as escovas foram borrifadas (6 vezes) com o Anti-séptico Bucal Reach - Johnson & Johnson – São José dos Campos – São Paulo (Figura 1 – D e E).

Os componentes desta solução anti-séptica, de acordo com o fabricante, são: cloreto de cetilpiridínio (CCP) a 0,05%, fluoreto de sódio a 0,05%, sorbitol, glicerina, poloxamer 407, metilparabeno, propilparabeno, fosfato de sódio dibásico, álcool etílico, sacarina sódica, corante azul FD&C nº 1, aroma de menta e água livre de minerais.

Após serem borrifadas com as diferentes soluções e transportadas para o laboratório de Microbiologia (Figura 1 – F), as escovas de cada etapa (I, II e III) foram mantidas no recipiente fechado (contêiner de papelão), à temperatura ambiente, por 4 horas.

Como controle adicional, 3 escovas dentais (Johnson 30 - Johnson & Johnson – Reach - São José dos Campos - São Paulo) foram retiradas de sua embalagem original e submetidas ao processamento microbiológico, sem serem utilizadas.

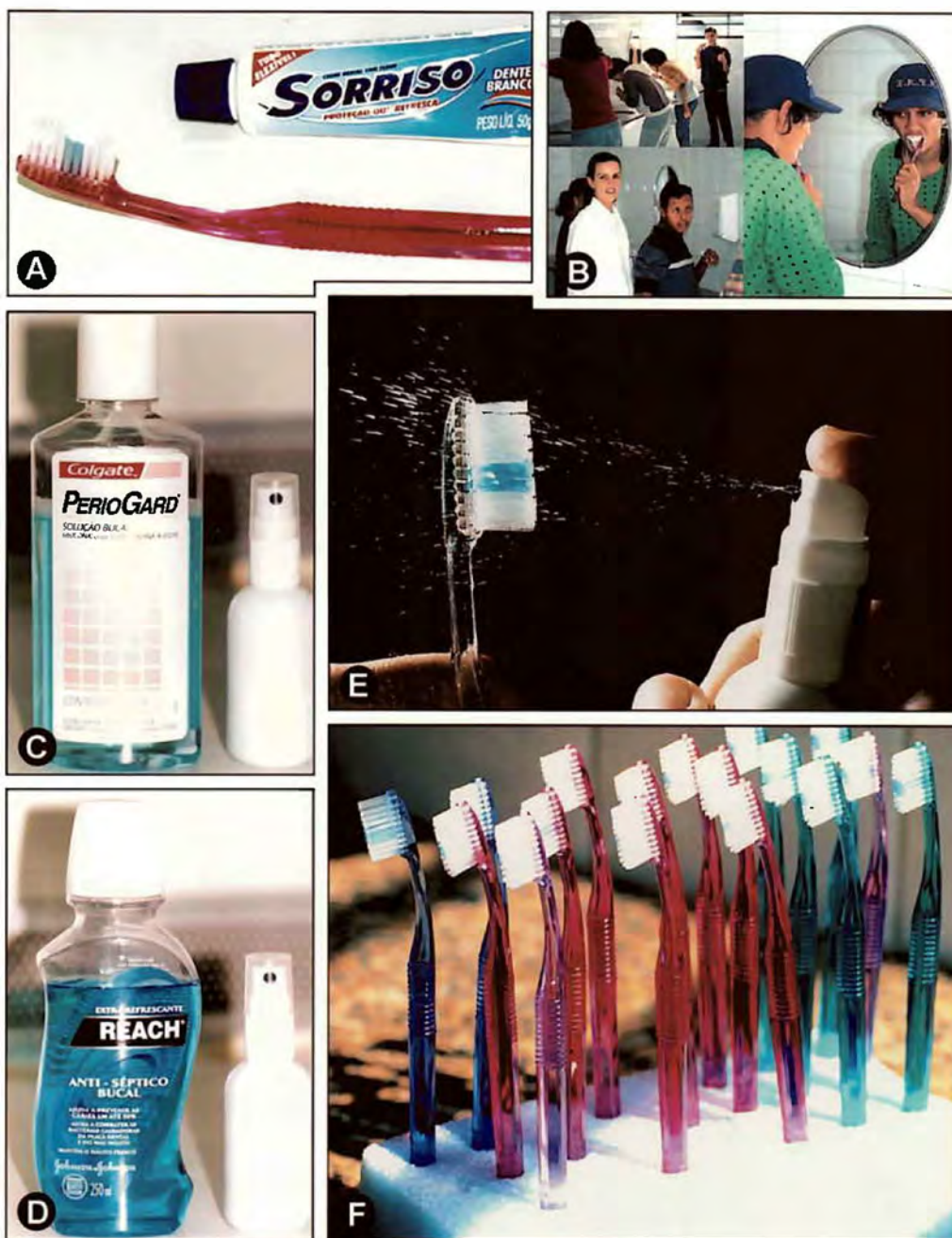


Figura 1: Materiais utilizados e procedimentos clínicos

- A- Escova dental Johnson 30 e dentifrício Sorriso, utilizados nas três etapas do experimento;
- B- Indivíduos portadores de necessidades especiais efetuando a escovação supervisionada.
- C- Solução à base de gluconato de clorexidina a 0,12% (Periogard - Colgate), acondicionada em frasco de plástico, na forma de spray;
- D- Solução à base de cloreto de cetilpiridínio a 0,05% (Anti-séptico bucal Reach Johnson & Johnson), acondicionada em frasco de plástico, na forma de spray;
- E- Solução antimicrobiana sendo borrifada nas cerdas das escovas dentais;
- F- Escovas dentais fixadas em suporte de isopor para transporte.

PROCESSAMENTO MICROBIOLÓGICO - CULTURA MICROBIANA

As escovas dentais de cada etapa foram colocadas individualmente em tubos de ensaio de 25x150mm contendo 10,0mL de meio de cultura CaSa B (Caldo Sacarose Bacitracina), em posição vertical, sem tocar o fundo e nem as paredes do tubo, de forma que as cerdas ficassem totalmente submersas no meio de cultura (Figura 2 – A e B). As escovas foram mantidas suspensas pelo cabo, utilizando o tampão de algodão para prendê-las à borda dos tubos de ensaio. Os tubos foram, então, incubados por 3 a 4 dias, a 37°C. O meio de cultura CaSa B, seletivo enriquecedor para estreptococos do grupo mutans, foi preparado como descrito por Jensen & Bratthall (1989), sem azul de tripan, como sugerido por Cesco et al., em 1995.

Meio de cultura CaSa B -composição

Casitone	Difco	15,0g
Extrato de levedura	Difco	5,0g
L-Cisteína	Merck	0,2g
Sulfito de sódio	Merck	0,1g
Acetato de sódio	Reagen	20,0g
Sacarose	Açúcar cristal	200,0g
Água destilada		1000,0mL

Os componentes, pesados em balança elétrica, foram colocados em balão de fundo chato, onde se adicionou água destilada, sendo a seguir autoclavados a 120°C, durante 20 minutos. Decorrido o período de esterilização, a autoclave foi aberta com cuidado, para resfriamento rápido, evitando a caramelização do açúcar. O meio preparado foi, então,

armazenado à temperatura ambiente. No momento do uso foi adicionado de 1,0% da solução de bacitracina ao meio, o qual foi homogeneizado e distribuído em tubos, em volume de 10,0mL, no fluxo laminar (Veco – Campinas - SP). O meio foi conservado em refrigerador, a cerca de 4°C, e utilizado no prazo máximo de 7 dias, uma vez que a bacitracina perde a atividade antimicrobiana após esse período.

Solução de Bacitracina

Bacitracina Sigma	0,0033g
Água destilada esterilizada	10,0mL

A Bacitracina foi pesada, em balança analítica (Metler), em tubo de ensaio de 15x125mm, sendo a seguir dissolvida em 10,0mL de água destilada esterilizada, em condições assépticas.

O meio de cultura seletivo enriquecedor CaSa B foi empregado para verificar a formação de biofilme pelos estreptococos do grupo mutans sobre as cerdas das escovas.

Após a incubação, as escovas foram submetidas à agitação no próprio meio de cultura e retiradas cuidadosamente para evitar o contato das cerdas com as paredes do tubo. Para a remoção do excesso de líquido retido entre as cerdas, as escovas foram batidas contra a borda de um copo de béquer por 3 a 4 vezes.

As cerdas das escovas foram analisadas quanto à presença ou não de biofilme cariogênico, com o auxílio de um microscópio estereoscópico

(Nikon – Japão), sob luz refletida, sendo efetuada a contagem das colônias/biofilmes de estreptococos do grupo mutans aderidas às cerdas (Figura 2 – C).

Decorrido o tempo de incubação, as escovas com ausência de formação de biofilme foram mantidas no meio de cultura e observadas por até 20 dias, para análise da possível turvação do meio, indicativa do desenvolvimento de outros microrganismos que não os estreptococos do grupo mutans (Figura 2 – E). Caso não houvesse turvação do meio após 20 dias, essas escovas foram classificadas como *0**, ou seja, as escovas encontravam-se isentas de microrganismos (Figura 2 -D).

A confirmação de que as colônias/biofilmes desenvolvidos realmente eram pertencentes ao grupo mutans foi realizada transferindo-se algumas colônias/biofilmes presentes nas cerdas, para tubos contendo 2,0mL de Tampão Fosfato Sorensen (PBS), preparado segundo Sober & Harte (1968) e pérolas de vidro. Após serem submetidos à agitação em aparelho Mixtron-Toptronix (São Paulo - SP), em velocidade 4, por 2 minutos, foi efetuada a semeadura de alíquotas da suspensão resultante em meio de cultura SB₂₀ modificado (Azevedo, 1988; Torres et al., 1993), seletivo para estreptococos do grupo mutans (Figura 2- F).

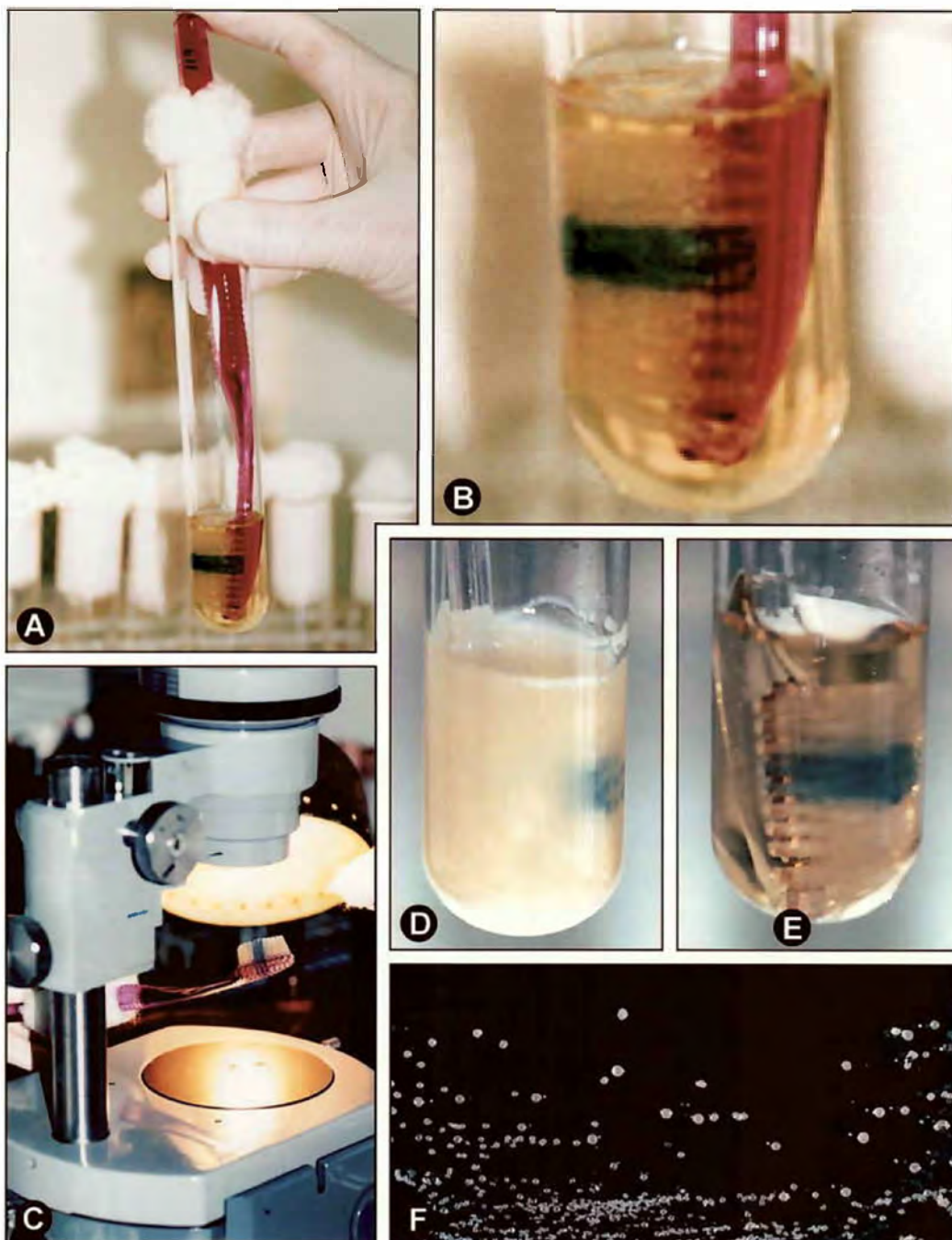


Figura 2: Processamento microbiológico

- A- Escova imersa em tubo de ensaio contendo o meio de cultura CaSa B;
- B- Detalhe da figura anterior, evidenciando a cabeça da escova no meio de cultura, em posição vertical, sem tocar no fundo e nem nas paredes laterais do tubo;
- C- Contagem das colônias/biofilmes de estreptococos do grupo mutans aderidas às cerdas, utilizando microscópio estereoscópico e luz refletida.
- D- Turvação do meio de cultura, indicativa do desenvolvimento de outros microrganismos que não os estreptococos do grupo mutans;
- E- Escova isenta de microrganismos (ausência de turvação do meio de cultura após 20 dias), classificada como 0*;
- F- Confirmação da identidade microbiana (estreptococos do grupo mutans) no meio de cultura SB₂.

A Figura 3 apresenta o fluxograma da metodologia empregada.

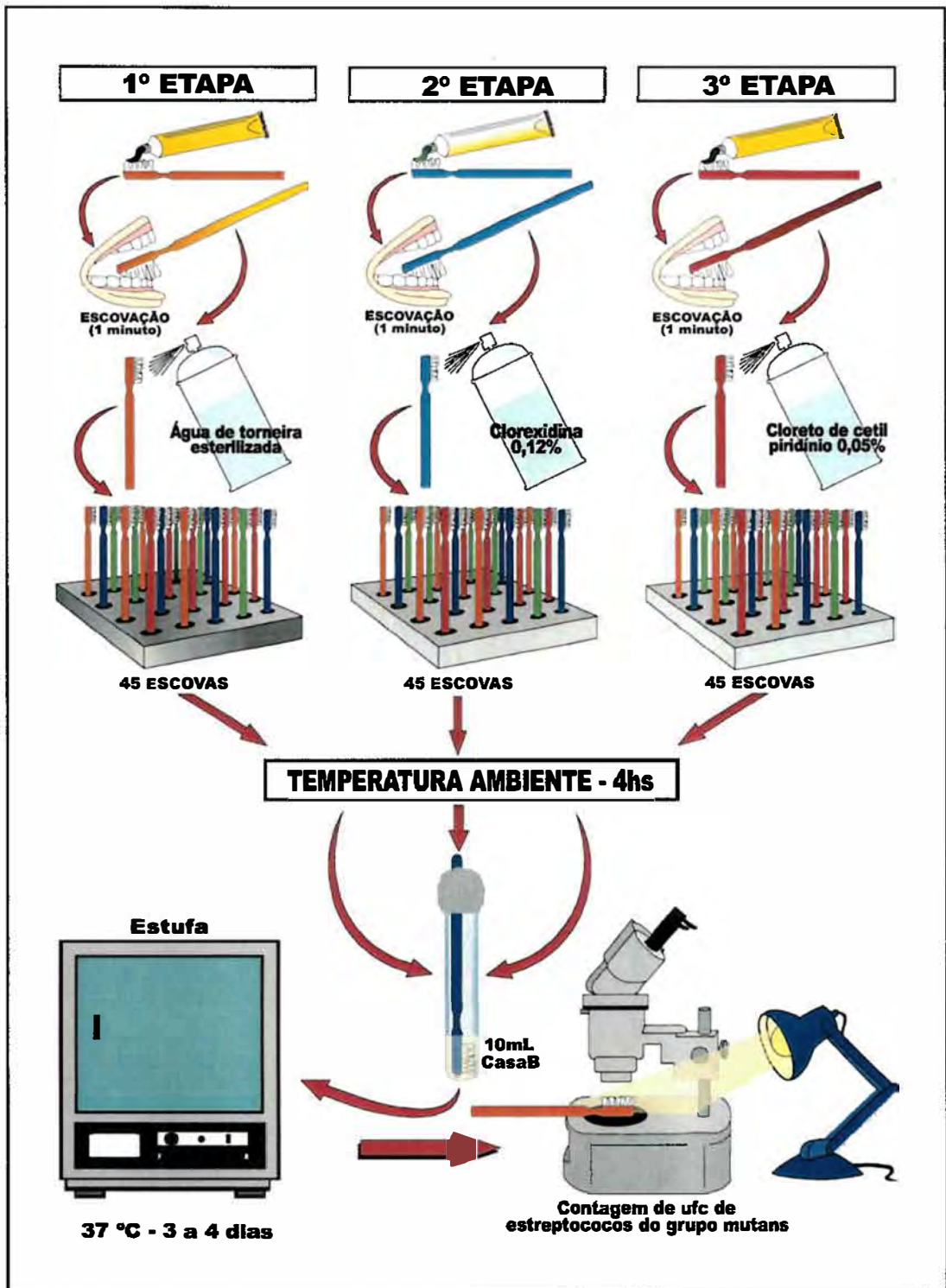


Figura 3: Fluxograma da metodologia empregada.

Análise Estatística

Para a análise estatística da variável “colônias/biofilmes” foi utilizado o software *Graphpad InStat^R, version 3.05 for Windows 95*. Para a análise da eficácia dos tratamentos na inibição do desenvolvimento bacteriano (classificação 0*) na superfície das escovas dentais utilizou-se o software GMC 8.1 (Maia Campos, 2000).

Para a verificação de possíveis diferenças entre as etapas (I, II e III), com relação à formação do biofilme cariogênico sobre as cerdas das escovas, foi aplicado o teste estatístico não paramétrico para amostras vinculadas, denominado teste de Friedman. Quando o teste de Friedman indicou diferença entre as etapas, aplicou-se o pós-teste de Dunn para comparações múltiplas, confrontando as etapas duas a duas (Dunn, 1964; Daniel, 1978).

Para comparar os 3 tratamentos com relação à eficácia na eliminação do desenvolvimento bacteriano nas cerdas das escovas dentais (classificação 0*) foi utilizado o teste não-paramétrico de Cochran, uma vez que esses resultados constituem dados dicotomizados, representados somente por respostas do tipo “positivo” (+) ou “negativo” (-). Quando o teste de Cochran indicou diferença entre as etapas, aplicou-se o teste dos sinais para verificar entre quais etapas havia diferença (Siegel, 1975).

5. Resultados

Da Cultura microbiana

Dos 45 indivíduos iniciais, 39 compareceram às três etapas do tratamento. Os números de colônias/biofilmes de estreptococos do grupo mutans observados nas cerdas das escovas dentais, nas Etapas I, II, e III, estão apresentados na tabela 2.

Tabela 2- Número de colônias/biofilmes de estreptococos do grupo mutans nas cerdas das escovas dentais de pacientes especiais, após uma única utilização, nas diferentes etapas.

Caso	Etapa I (Água de torneira)	Etapa II Gluconato de Clorexidina 0,12%)	Etapa III Cloreto de Cetilpiridínio – 0,05%)
1	0	0*	0*
2	+100	0*	0
3	+100	0	31
4	0	0*	0
5	0	0*	0*
6	0	0*	0*
7	52	0*	0
8	+100	0*	4
9	+100	0*	0*
10	8	0	12
11	23	0*	0
12	+100	0	0*
13	+100	0*	0*
14	5	0*	0*
15	+100	0*	0*
16	27	0*	0
17	29	0*	0
18	3	0*	0*
19	+100	0	0*
20	+100	0*	0
21	0	0*	0*
22	0	0*	0
23	2	0*	0
24	+100	0	1
25	62	0*	0
26	+100	0*	0*
27	+100	0*	0
28	0	0*	0*
29	+100	0*	0*
30	7	0*	0*
31	+100	0	0*
32	8	0*	0
33	0	0*	0
34	+100	0	0
35	76	0*	0*
36	+100	0*	0
37	0	0*	0*
38	5	0	0
39	4	0*	0

0*: ausência de desenvolvimento microbiano; 0: turvação do meio de cultura

De acordo com a tabela 2, os estreptococos do grupo mutans estavam presentes em 30 das 39 escovas dentais (76,9%) da Etapa I (borrifadas com água de torneira esterilizada), com números de colônias/biofilmes variando de 2 a +100 (Figura 3 A-F). Apenas 9 escovas dentais (23,1%) não se encontravam colonizadas pelos estreptococos do grupo mutans, porém apresentaram cultura positiva (turbacção do meio de cultura).

Na Etapa II, onde foi efetuada a desinfecção utilizando a solução à base de gluconato de clorexidina a 0,12%, não se observou a presença de estreptococos do grupo mutans em nenhuma das escovas, evidenciando 100,0% de eficácia (Figura 4 A, B e C). No entanto, em função da turbacção do meio de cultura, observou-se a presença de outros microrganismos em 8 escovas (20,5%). Microrganismos estavam ausentes (classificação 0*) em 31 escovas dentais (79,5%).

Na Etapa III (escovas desinfetadas com solução à base de cloreto de cetilpiridínio a 0,05%), 4 escovas dentais (10,3%) estavam colonizadas por estreptococos do grupo mutans, com números de colônias/biofilmes variando de 1 a 31 (Figura 4 D, E e F). Um total de 35 escovas (89,7%) não se encontrava colonizada pelos estreptococos do grupo mutans, porém a cultura foi positiva (presença de outros microrganismos evidenciada pela turbacção do meio de cultura) em 17 (43,6%) dos casos. Microrganismos estavam ausentes (classificação 0*) em 18 escovas (46,2%).

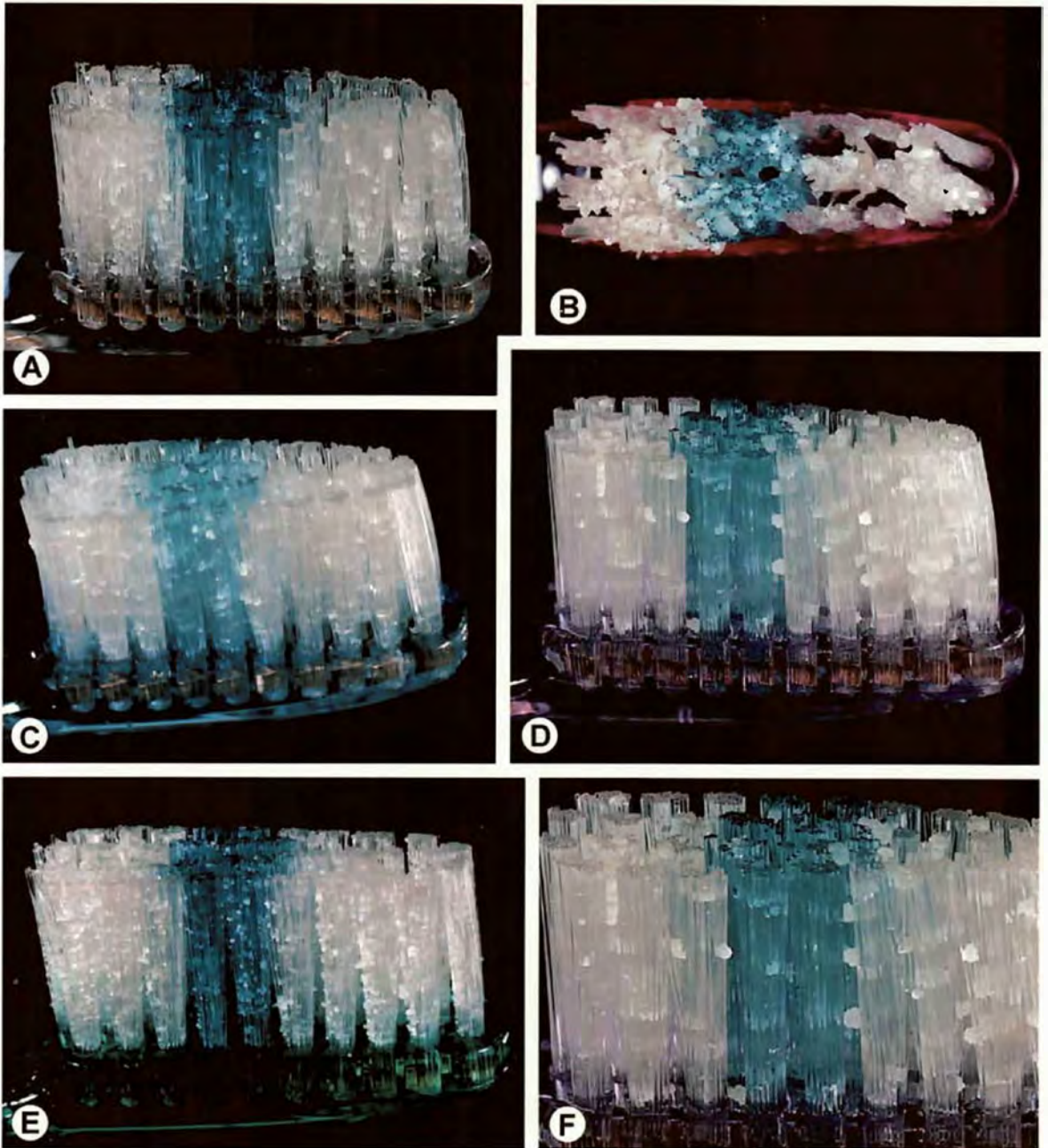


Figura 3: Etapa I - Spray de água de torneira esterilizada.

A a F : intenso desenvolvimento de colônias/biofilmes (estreptococos do grupo mutans) sobre as cerdas das escovas.

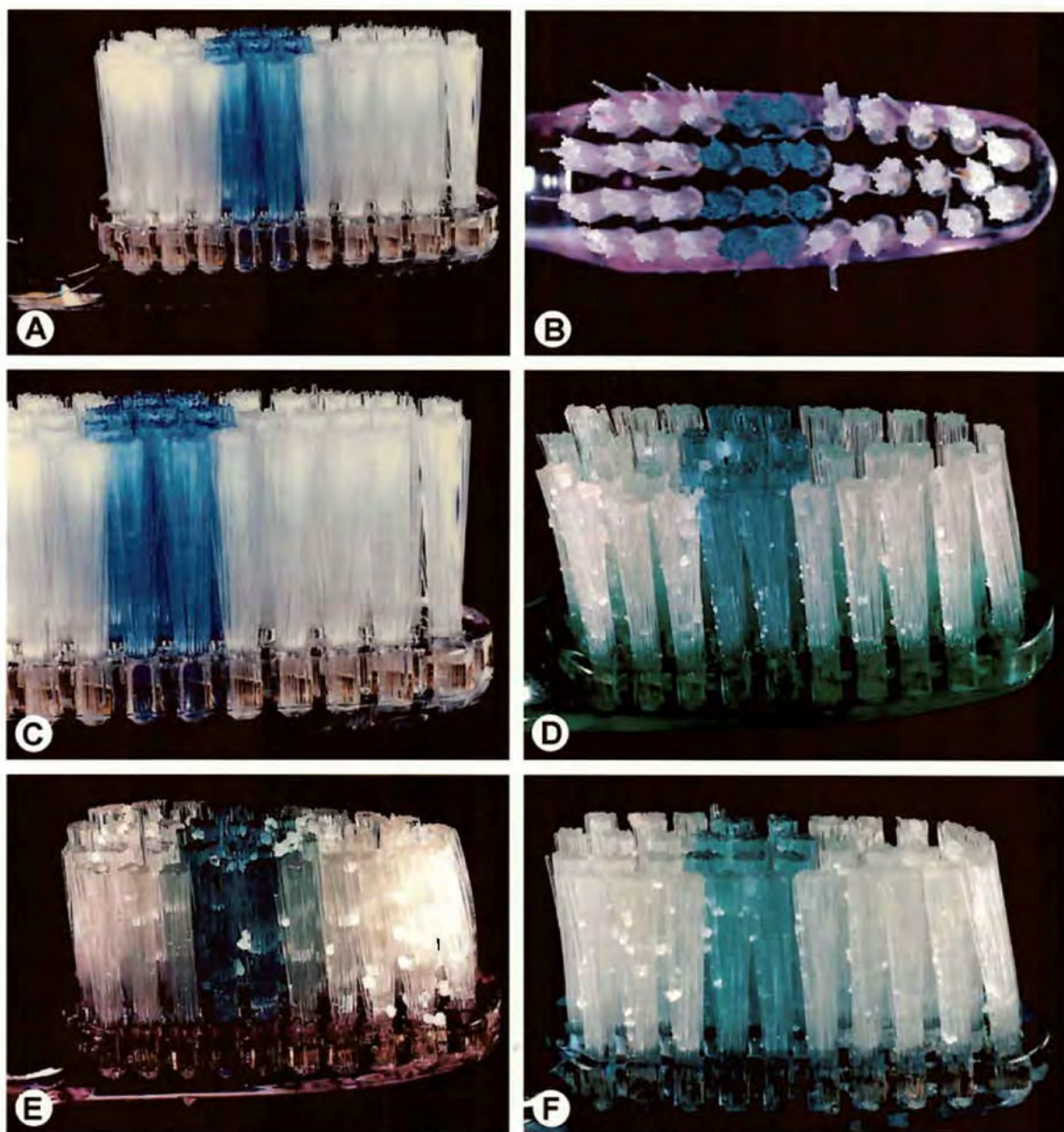


Figura 4: Etapa II: Gluconato de Clorexidina a 0,12% (spray).

A, B, C: ausência de desenvolvimento de colônias/biofilmes de estreptococos do grupo mutans sobre as cerdas das escovas.

Etapa III: Cloreto de Cetilpiridínio a 0,05% (spray)

D, E, F: Presença de pequeno número de colônias/biofilmes de estreptococos do grupo mutans sobre as cerdas das escovas.

Esses resultados encontram-se agrupados na tabela 3.

Tabela 3 – Resultados da cultura microbiana, após utilização de diferentes sprays (água de torneira esterilizada, gluconato de clorexidina a 0,12% e cloreto de cetilpiridínio a 0,05%) para desinfecção de escovas dentais de pacientes com necessidades especiais.

Cultura microbiana (biofilme cariogênico)	Etapa I (água de torneira esterilizada)		Etapa II (CHX – 0,12%)		Etapa III (CCP – 0,05%)	
	n	%	n	%	n	%
	Positiva	30	76,9	0	0	4
Negativa	9	23,1	39	100	35	89,74
Escova isenta de microrganismos (0*)	0	0	31	79,5	18	46,2

Nas 3 escovas novas, submetidas ao processamento microbiológico sem serem utilizadas (controle adicional), não ocorreu desenvolvimento microbiano após incubação a 37°C, por 20 dias.

Da Análise Estatística

Para a realização da análise estatística, os números de colônias/biofilmes (tabela 2) foram convertidos em escores (Apêndice A), tendo como base os seguintes parâmetros:

- Escore 0 : foram incluídas nesse escore as escovas com ausência de desenvolvimento microbiano (0*) ou com ausência de formação de biofilme;
- Escore 1: de 1 a 50 biofilmes/colônias de estreptococos do grupo mutans;
- Escore 2: de 51 a 100 biofilmes/colônias de estreptococos do grupo mutans;
- Escore 3: mais de 100 biofilmes/colônias de estreptococos do grupo mutans.

Os resultados da cultura microbiana das escovas das etapas I, II e III (Tabela 4-Apêndice A), com relação à presença ou ausência de biofilme cariogênico sobre as cerdas das escovas, foram confrontados utilizando o teste de Friedman, o qual detectou diferença estatisticamente significativa entre as etapas ($\chi^2 = 57,02$, com $p < 0,0001$).

A fim de esclarecer entre quais etapas havia diferença, foi aplicado o pós-teste de Dunn (Tabela 5-Apêndice A). Houve diferença significativa entre as etapas I (controle – água de torneira esterilizada) e II (gluconato de clorexidina a 0,12%) e entre as etapas I e III (cloreto de cetilpiridínio a 0,05%), com $p < 0,001$. No entanto, não se observou diferença estatística entre as etapas II e III.

O gráfico 1 apresenta os resultados obtidos com a aplicação do teste de Friedman e o pós-teste de Dunn, para a comparação entre as etapas I, II e III, em relação à formação ou não do biofilme cariogênico sobre as cerdas das escovas dentais.

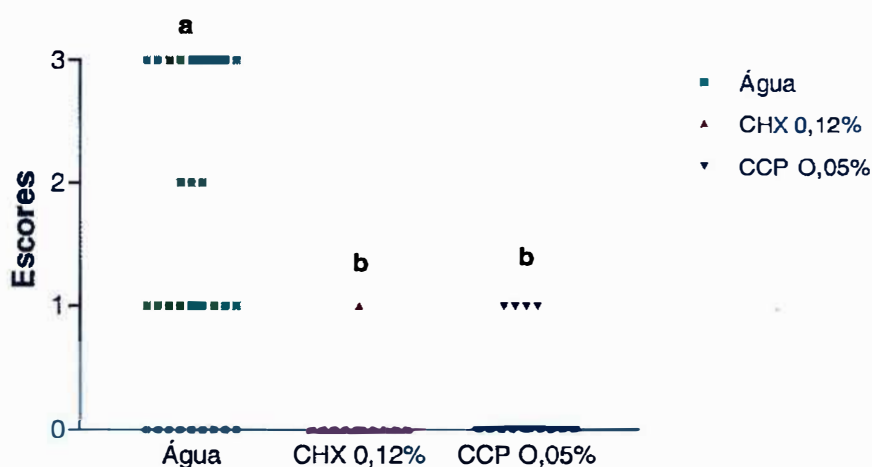


Gráfico 1- Resultados do teste de Friedman e do pós-teste de Dunn. As letras iguais e diferentes representam resultados estatísticos semelhantes e diferentes, respectivamente.

Pode-se inferir que as soluções à base de gluconato de clorexidina a 0,12% e de cloreto de cetilpiridínio a 0,05% foram eficazes na redução/eliminação da formação do biofilme cariogênico na superfície das escovas dentais. Por outro lado, não houve diferença na eficácia dos sprays de gluconato de clorexidina a 0,12% (Etapa II) e de cloreto de cetilpiridínio a 0,05% (Etapa III).

Além da análise da presença ou ausência de estreptococos do grupo mutans, comparou-se a eficácia das diferentes soluções em inibir o desenvolvimento de microrganismos, ou seja, em tornar as escovas isentas de microrganismos (classificação 0*). Com essa finalidade, os dados da tabela 2 foram novamente convertidos, atribuindo-se valor 0 aos casos onde as escovas se encontravam isentas de microrganismos (cultura negativa, evidenciada pela ausência de turvação do meio e cultura, ou seja, escovas classificadas como 0*), e atribuindo-se valor 1 para os casos onde havia presença de microrganismos nas escovas dentais, ou seja, com cultura positiva: escores 0, 1, 2 e 3 (Tabela 6-Apêndice A).

As etapas I, II e III foram confrontadas utilizando-se o teste não paramétrico Q de Cochran. Houve diferença estatisticamente significativa ao nível de 1,0% entre as etapas (Tabela 7-Apêndice A).

Como teste adicional comparativo foi efetuado o teste dos sinais. Os resultados das comparações entre as etapas I e II, I e III, e entre as etapas II e III encontram-se expressos nas tabelas 8, 9 e 10 (Apêndice A).

Houve diferença estatisticamente significativa entre as etapas I e II, etapas I e III, e etapas II e III ($p < 0,01$).

Logo, pôde-se estabelecer que, com relação à eficácia das soluções avaliadas em inibir o desenvolvimento microbiano:

Etapa I \neq Etapa II \neq Etapa III

Desta forma, pode-se inferir que a solução à base de gluconato de clorexidina a 0,12% apresentou maior eficácia em tornar as escovas isentas de microrganismos.

6. Discussão

Da Etapa I

Após serem utilizadas, em condições usuais de armazenamento, as escovas dentais tornam-se contaminadas por microrganismos provenientes da cavidade bucal (Lehmer & Appleton, 1931; Whitley & Gilmore, 1973; Svanberg, 1978; Glass & Lare, 1986; Kozai et al., 1989; Malmberg et al., 1994; Carvajal et al., 1995; Caudry et al., 1995; Pinto et al., 1997; Taji & Rogers, 1998; Nelson-Filho et al., 2000; Warren et al., 2001; Isper, 2002; Sato, 2002; Macari, 2002), os quais encontram-se firmemente aderidos às cerdas (Caudry et al., 1995), podendo servir como reservatório para sua inoculação/reinoculação (Whitley & Gilmore, 1973; Svanberg, 1978; Marcano, 1981; Kozai et al., 1989; Glass et al., 1991; Carvajal et al., 1995; Pinto et al., 1997).

Em trabalhos realizados com adultos e crianças, verifica-se que o uso rotineiro de escovas dentais pode contribuir para promover a disseminação de microrganismos na cavidade bucal, no mesmo indivíduo ou entre diferentes indivíduos (Svanberg, 1978; Newbrun, 1992; Pinto et al., 1997). Esse fato é de fundamental importância num país como o Brasil, onde o uso coletivo/comunitário de escovas dentais é elevado, particularmente nas famílias de baixo nível sócio-econômico (Paschoal & Rotta, 1992; Bregagnolo et al., 1999; Grigoletto et al., 2000; Grigoletto et al., 2001). Eventualmente, também pode haver contato entre escovas de diferentes membros da

família, nos recipientes sobre a pia ou nos armários de banheiro (Fratto et al., 1990).

Além disso, torna-se muito difícil o controle da ocorrência de contato salivar entre indivíduos em ambientes como creches, pré-escolas e outras instituições que abrigam crianças de idade precoce (Malmberg et al., 1994). Esse fato agrava-se quando se fala de indivíduos com necessidades especiais, em função do comportamento muitas vezes não colaborador, e dos diferentes níveis de comprometimento mental.

Apesar da ausência de trabalhos publicados contando com a participação de pacientes com necessidades especiais, apenas um número reduzido de pesquisas foi publicado avaliando a presença de estreptococos do grupo mutans nas cerdas de escovas dentais de crianças e adultos (Svanberg, 1978; Kozai et al., 1989; Cesco et al., 1995; Motzfeld et al., 1999; Nelson-Filho et al., 2000; Sanches et al., 2001; Bergamasco et al., 2002; Isper, 2002; Macari, 2002; Sato, 2002).

Embora tivessem como objetivo avaliar a presença de estreptococos do grupo mutans em escovas dentais, Taji & Rogers (1998) não evidenciaram desenvolvimento desses microrganismos, em um estudo piloto com escovas de pacientes adultos, utilizadas durante três semanas. Possivelmente, nossos resultados diferiram dos obtidos por esses autores pelo fato de terem utilizado em seu estudo o dentifrício Colgate Total, o qual apresenta Triclosan em sua composição. Como evidenciado por Isper (2002), em função de sua eficácia, o dentifrício contendo Triclosan pode reduzir a

contaminação bacteriana das cerdas de escovas dentais, por estreptococos do grupo mutans.

Em 2002, Macari evidenciou a formação de biofilme cariogênico nas cerdas das escovas dentais de crianças em apenas 50,0% dos casos. Segundo o autor, esse fato possivelmente foi decorrente do baixo risco à cárie dental da população estudada, aliado à utilização de dentifrício fluoretado para realização do estudo que, segundo Isper (2002) reduz a formação do biofilme cariogênico em aproximadamente 17%.

Por outro lado, os resultados do presente estudo são concordantes com os obtidos por Isper (2002), que observou que os estreptococos do grupo mutans estavam presentes em 23 das 30 escovas dentais de crianças, após uma única escovação de 4 minutos com dentifrício fluoretado (Tandy – Kolynos do Brasil Ltda – São Paulo - SP), totalizando 76,7% de contaminação. Os números de unidades formadoras de colônia variaram de 5 a +100, sendo incontável em 12 escovas. Esses resultados (76,7% de contaminação), obtidos por Isper em 2002, com crianças, são semelhantes aos obtidos no presente estudo, efetuado com pacientes especiais, onde observou 76,9% de contaminação pelos estreptococos do grupo mutans, com números de unidades formadoras de colônia variando de 2 a +100.

Embora com porcentagem inferior, os resultados obtidos nesse estudo são concordantes com os de Svanberg (1978) e de Nelson-Filho et al. (2000). Svanberg (1978) relatou a presença de estreptococos do grupo

mutans em 100,0% das escovas, com números variando de $1,5$ a $6,0 \times 10^6$ unidades formadoras de colônia, 15 minutos após a escovação, enquanto que Nelson-Filho et al. (2000) observaram desenvolvimento de estreptococos do grupo mutans em 100,0% das escovas de crianças, em números variando de 21 a 120 unidades formadoras de colônia, sendo incontável em uma escova. Cabe salientar que neste último estudo as escovas foram utilizadas uma vez ao dia, durante 5 dias, e mantidas em água esterilizada após sua utilização.

Em um estudo com crianças japonesas, Kozai et al. (1989) relataram que os *S. mutans* mantiveram-se em altos níveis ($2,55 \times 10^4$ unidades formadoras de colônia) nas escovas dentais, mesmo após 6 horas de exposição ao ar. Nossos resultados revelaram a presença do grupo mutans, sobre as cerdas das escovas da etapa I, após 4 horas de exposição à temperatura ambiente.

No entanto, avaliando bacteriologicamente escovas dentais de crianças brasileiras, na faixa etária de 3 a 7 anos, Cesco et al. (1995) observaram a presença do grupo mutans em apenas 24,0%. Esses resultados são discordantes dos obtidos no presente estudo, provavelmente em função de que Cesco et al. (1995) utilizaram crianças de uma creche modelo ("Creche Carochinha") que recebe filhos de docentes e funcionários do Campus da Universidade de São Paulo, em Ribeirão Preto. Em 1993, Nelson Filho et al. realizaram colheita de saliva das crianças desta creche, pelo método da espátula de madeira proposto por Köhler & Bratthall (1978),

observando que 47,7% e 38,4% das crianças apresentavam baixo e médio risco bacteriológico à cárie dental, respectivamente. Diferentemente, o presente estudo foi realizado em uma Instituição que recebe crianças com necessidades especiais, geralmente consideradas de alto risco/alta atividade de cárie dental.

Em 1999, Motzfeld et al. detectaram *S. mutans* em apenas 2,8% das escovas dentais analisadas, em números variando de 600 a incontável, enquanto que Sanches et al. (2001) não detectaram esses microrganismos. A diferença, com relação aos nossos resultados, possivelmente é decorrente do fato de que nos estudos de Motzfeld et al. (1999) e Sanches et al. (2001), a população estudada era composta de alunos da Faculdade de Odontologia do Chile e de alunos da Faculdade de Odontologia de Bauru - USP, respectivamente, os quais, por formação, são mais conscientes do importante papel da higiene bucal, para manutenção da saúde.

Ainda, nos estudos de Motzfeld et al. (1989) e Sanches et al. (2001) a avaliação da presença de estreptococos do grupo mutans foi realizada na suspensão obtida após agitação/dessorção da microbiota das cerdas, enquanto que no presente estudo a avaliação da formação do biofilme foi efetuada *in situ*, sobre as cerdas. Sato, em 2002, observaram apenas 10,0% de contaminação por estreptococos do grupo mutans, em escovas dentais de indivíduos adultos, semeando a suspensão obtida pela dessorção com emprego do ultra-som. Essa porcentagem se elevou para

56,7%, quando da utilização do método da formação de biofilme sobre as cerdas.

Assim, concordamos com Macari (2002) quando afirma que quando o objetivo é avaliar a contaminação microbiana das escovas, assim como a eficácia de agentes antimicrobianos, pode-se indicar o uso da técnica de imersão da escova em meio de cultura líquido (método de formação do biofilme). No entanto, quando o objetivo for a verificação do "nível/grau" de contaminação, é imperioso que seja empregado o sistema de diluição seriada.

Desta forma, os resultados do presente trabalho evidenciaram que, à semelhança do que ocorre com crianças e adultos, as escovas dentais de pacientes especiais, após uma única escovação por um minuto utilizando dentífrico fluoretado, tornam-se contaminadas por estreptococos do grupo mutans.

Concordamos com Sato (2002) quando afirma ser um paradoxo o fato do cirurgião-dentista esterilizar ou desinfetar todo o arsenal a ser utilizado para realização de determinado procedimento odontológico, visando a manutenção da cadeia asséptica, e não tomar qualquer precaução que não o simples enxágüe da escova dental, após sua utilização na higienização dos tecidos moles e duros da cavidade bucal.

Essa afirmativa se agrava quando se analisa os resultados do trabalho de Oliveira-Neto & Nelson-Filho (2002) que avaliaram, por meio de entrevistas, os cuidados adotados com as escovas dentais, bem como o

conhecimento da necessidade da utilização de métodos de desinfecção das mesmas, nas seguintes populações: alunos do primeiro ano do curso de graduação em Odontologia, cirurgiões-dentistas, crianças de 6 a 12 anos de idade, mães de bebês com faixa etária de 1 a 3 anos, e mães de pacientes com necessidades especiais, com faixa etária de 1 a 12 anos. Os resultados obtidos evidenciaram que a maioria quase absoluta das populações estudadas (97,5% dos bebês, 97,5% dos pacientes especiais, e 100,0% das crianças, alunos de graduação e cirurgiões-dentistas) apenas lava e retira o excesso de água das cerdas, após a escovação dental, sendo que a maioria dos entrevistados guarda suas escovas no armário do banheiro. Do total de 237 entrevistados, apenas 2 (0,8%) efetuavam algum tipo de desinfecção das escovas, após sua utilização, sem contudo terem recebido qualquer orientação de cirurgiões-dentistas.

Coelho et al. (2001) verificaram, em crianças de creches, que posteriormente à escovação, apenas 20,0% delas realizam a lavagem das escovas. Além disso, 42,0% das crianças não efetuam nenhuma forma de secagem das escovas, enquanto que 8,0% secam todas as escovas com uma toalha de pano, sugerindo a necessidade da implantação de um programa direcionado aos professores, bem como da normatização de um conjunto de ações e atividades relativas à higienização bucal de pré-escolares.

Observa-se, assim, que há necessidade de uma maior divulgação da necessidade da realização da desinfecção das escovas dentais, após sua utilização, como um hábito de higiene pessoal rotineiro, mesmo entre

cirurgiões-dentistas, para que esses possam orientar seus pacientes, implementando campanhas educativas.

Da Etapa II

A clorexidina foi descoberta na década de 40 por pesquisadores que buscavam desenvolver agentes antimalária (Parson, 1974). Embora nunca tenha sido utilizada no tratamento da malária, a clorexidina é amplamente utilizada na área médica, desde 1950, para o tratamento de queimaduras e anti-sepsia da pele, mãos, braços e campos operatórios (Lopes et al., 1992), entre outras. Embora esta venha sendo utilizada topicamente para controle de placa (biofilme dental) desde 1959, o estudo clássico de Loe et al., de 1976, popularizou o uso da clorexidina em Odontologia.

Atualmente, esse agente antimicrobiano é utilizado como anti-séptico, em forma de bochechos, irrigação subgengival, géis, dentifrícios ou chicletes (Denton, 1991), para limpeza superficial após preparo cavitário (Teixeira et al., 1999), para irrigação de canais radiculares (Leonardo et al., 1999), para desinfecção de escovas dentais (Nelson-Filho et al., 2000; Sato, 2002), para desinfecção de chupetas (Louvain et al., 2001) e para controle dos níveis de microrganismos cariogênicos (Twetman & Grindefjord, 1999).

A clorexidina é uma biguanida que apresenta propriedades catiônicas. Além das formas de diacetato e dicloridrato, na cavidade bucal é mais utilizada sob a forma de digluconato, substância hidrossolúvel que se

dissocia facilmente em pH fisiológico, liberando componentes da clorexidina carregados positivamente (moléculas livres), que lhe conferem o caráter antibacteriano (Fardal & Turnbull, 1986). Consistindo de dois anéis de 4-clorofenol e dois grupos bisbiguanidas, simetricamente ligadas a uma cadeia hexametileno, fornecendo à molécula propriedades hidrófilas e hidrófobas, a clorexidina apresenta diferentes efeitos sobre as bactérias, na cavidade bucal (Thylstrup & Fejerskov, 2001). A molécula de clorexidina carregada positivamente adere-se à parede celular da bactéria, carregada negativamente (Loe & Schiott, 1970), alterando o equilíbrio osmótico da célula e permitindo a entrada e/ou saída de substâncias de baixo peso molecular. Em alta concentração, ocasiona precipitação do citoplasma, resultando na morte da bactéria (Greenstein et al., 1986). Assim, o efeito bactericida da clorexidina reduz o número de microrganismos salivares (Stabholz et al., 1986).

Os estreptococos da cavidade bucal transportam açúcares por meio do sistema fosfoenolpiruvato-fosfotransferase. A clorexidina, mesmo em baixas concentrações, inibe este sistema, possivelmente explicando a redução da produção de ácidos pelos estreptococos, oriundos da glicose, sem afetar a viabilidade celular (Marsh et al., 1983). Além disso, inibe enzimas essenciais para o acúmulo bacteriano sobre as superfícies dentais, como a glicosiltransferase (Scheie et al., 1987). Adicionalmente, a adesão deste agente antimicrobiano à bactéria e às glicoproteínas salivares interfere

na formação da película e na adsorção bacteriana ao dente (Rolla & Melsen, 1975).

A atividade antimicrobiana da clorexidina, *in vivo*, em parte é decorrente da sua substantividade ou efeito prolongado (Thylstrup & Fejerskov, 2001), que é a propriedade de se adsorver, reversivelmente, à mucosa bucal, película dentária, proteínas salivares e hidroxiapatita (Rolla et al., 1971), sendo lentamente liberada na cavidade bucal por até 24 horas (Gjeramo et al., 1974). A maior parte desta substância encontra-se aderido à superfície da mucosa bucal, por interação reversível da clorexidina com grupos fosfato, sulfato e carboxila dos tecidos da mucosa bucal (Stabholz et al., 1986).

A clorexidina apresenta um amplo espectro de atividade antimicrobiana, sendo ativa contra microrganismos Gram-positivos e Gram-negativos, leveduras e fungos, em diferentes níveis de sensibilidade (Greenstein et al., 1986; Fardal & Turnbull, 1986; Thylstrup & Fejerskov, 2001). Microrganismos Gram-positivos são mais sensíveis que Gram-negativos (Hennessey, 1973; Thylstrup & Fejerskov, 2001), enquanto que os estreptococos são mais sensíveis que os estafilococos (Hennessey, 1973).

A segurança no uso da clorexidina e seu baixo potencial de toxicidade têm sido bem documentados na literatura (Schiott, 1970; Loe & Schiott, 1970; Gjeramo & Rolla, 1971; Hennessey, 1973; Loe et al., 1976; Greenstein et al., 1986; Fardal & Turnbull, 1986; Clark et al., 1991; Al-Tannir & Goodman, 1994; Thylstrup & Fejerskov, 2001). O uso prolongado deste

agente antimicrobiano ocasiona efeitos colaterais, como pigmentação marrom-amarelada dos dentes (Greenstein et al., 1986; Fardal & Turnbull, 1986; Flotra, 1973; Thylstrup & Fejerskov, 2001) e margens de restaurações (Al-Tannir & Goodman, 1994), alterações na sensação gustativa (Fardal & Turnbull, 1986; Flotra, 1973), sabor amargo (Thylstrup & Fejerskov, 2001), pigmentação da língua (Al-Tannir & Goodman, 1994; Thylstrup & Fejerskov, 2001) e sensação de queimação da mucosa bucal (Flotra, 1973).

O uso da clorexidina para controle do biofilme dental e redução da gengivite, em pacientes com necessidades especiais, tem sido indicado desde 1973 (Flotra, 1973), particularmente na Escandinávia (Francis et al., 1987) sendo, de acordo com Storhaug (1977), a melhor opção para esta finalidade. Desde então, vem sendo utilizada nesses pacientes, com excelentes resultados, em trabalhos clínicos e laboratoriais, especialmente sob a forma de gel (Usher, 1975; Russel & Bay, 1978; Clark et al., 1991) e spray (Francis et al., 1987; Burtner et al., 1991).

Emilson (1977) demonstrou que os *S. mutans* são altamente sensíveis à clorexidina, podendo esta ser usada para reduzir a quantidade desses microrganismos na cavidade bucal (Maltz et al., 1981), ocasionando uma redução na incidência de lesões de cárie (Lindquist et al., 1989).

Observa-se na literatura que a eficácia de diferentes agentes químicos na desinfecção de escovas dentais tem sido avaliada. Dentre esses se encontra o Lugol, a solução aquosa de cloreto de sódio (Lehmer & Appleton, 1931), soluções à base de peróxido de hidrogênio, Listerine, Plax

(Caudry et al., 1995), cloreto de cetilpiridínio (Caudry et al., 1995; Meier et al., 1996; Sato et al., 2002; Sanches et al., 2001), hipoclorito de sódio a 1% (Nelson-Filho et al., 2000), solução de ácido bórico a 4%, ácido salicílico a 2% (Feo, 1981) e álcool a 77% (Sanches et al., 2001). Tem sido empregados, também, agentes físicos como a luz ultravioleta (Nelson & Glass, 1989; Fratto et al., 1990; Glass & Jensen, 1994; Glass et al., 1995; Glass et al., 1997; Glass, 1998) e o forno de microondas (Chibebe & Pallos, 2001), além de lavadora de louças (Zolnowski-Casey, 1998). No entanto, estes têm demonstrado níveis de eficácia variáveis e dificuldades na sua aplicação diária, por parte dos pacientes.

No presente trabalho, foi utilizada a clorexidina sob a forma de spray que, conforme salientado por Méier et al. (1996); Sato (2002) e Macari (2002), é um método prático, seguro, de fácil utilização, rápido, barato, transportável, econômico e, sobretudo, eficaz.

De acordo com os resultados obtidos no presente estudo, a clorexidina eliminou totalmente a contaminação das cerdas das escovas de pacientes portadores de necessidades especiais por estreptococos do grupo mutans, atingindo 100,0% de eficácia. Além disso, um total de 79,5% das escovas, após utilização da clorexidina na forma de spray, apresentaram-se isentas de microrganismos (classificação 0*).

Esses resultados estão de acordo com os obtidos por Nelson-Filho et al. (2000), que observaram ausência de desenvolvimento de estreptococos do grupo mutans nas escovas de crianças, utilizadas durante 5

dias, e mergulhadas por 20 horas em solução de gluconato de clorexidina a 0,12%, preparada em farmácia de manipulação. Também, de acordo com Sato (2002), o spray à base de digluconato de clorexidina a 0,12%, utilizado durante 7 dias, foi capaz de inibir a formação de biofilme na superfície das cerdas das escovas de adultos, em 100,0% dos casos.

Da Etapa III

O cloreto de cetilpiridínio (1 cloreto hexadecilpiridínio ou CCP) é um composto aniônico quaternário (quaternário de amônia). A primeira geração desses compostos foi introduzida em 1935 (Rutala, 1989), apresentando atividade bactericida, ação detergente e baixo nível de toxicidade. No entanto, sua ação era reduzida na presença de água, sabão e resíduos aniônicos, sendo que microrganismos Gram-negativos se desenvolviam na presença desses compostos. A segunda geração dos quaternários de amônia (cloreto de etil benzil) foi introduzida em 1955, apresentando melhorias em suas propriedades (Christensen et al., 1989). A terceira geração (cloreto de dodecil dimetil amônia) teve suas propriedades melhoradas ainda mais, sendo ativos em água e tolerantes a resíduos aniônicos (Meier et al., 1996).

A atividade antibacteriana dos quaternários de amônia atuais é atribuída à inativação das enzimas produtoras de energia, desnaturação de proteínas celulares essenciais e ruptura das membranas celulares. Assim, o cloreto de cetilpiridínio pode ser descrito como um surfactante bactericida

catiônico, utilizado como desinfetante e anti-séptico, com propriedades detergentes (Meier et al., 1996).

A molécula do cloreto de cetilpiridínio apresenta grupos hidrófilos e hidrófobos, permitindo diferentes interações. Presume-se que a interação com as bactérias ocorra por meio de ligação catiônica muito semelhante à que ocorre com a clorexidina (Thylstrup & Fejerskov, 2001). Embora a atividade antimicrobiana do CCP seja semelhante à da clorexidina, sua propriedade de inibição do biofilme dental é inferior (Gjerme et al., 1970).

Em 1995, Caudry et al. avaliaram a eficácia do Cepacol, anti-séptico à base de cloreto de cetilpiridínio a 0,05%, sobre microrganismos removidos das escovas, observando a eliminação de 100,0% dos microrganismos, após 20 minutos de exposição. No presente estudo, o spray de cloreto de cetilpiridínio foi eficaz em 89,1% dos casos, na eliminação de estreptococos do grupo mutans. Além disso, 46,2% das escovas encontravam-se isentas de contaminação bacteriana (classificação 0*).

Meier et al. (1996) contaminaram escovas dentais *in vitro* com densidades ópticas standardizadas de culturas de *S. epidermidis* ou *Candida albicans*, as quais em seguida foram borrifadas por três vezes consecutivas com solução de CCP. Os *S. epidermidis* foram reduzidos em 100 vezes, enquanto que *Candida albicans* sofreram uma redução de 94,0%. Esses resultados demonstraram que o spray de cloreto de cetilpiridínio, *in vitro*, reduziu o crescimento de bactérias e fungos residuais presentes nas escovas dentais, sendo um método eficaz, prático e econômico, que poderia

facilmente ser introduzido nas recomendações de controle de infecção. Apesar dos microrganismos avaliados serem diferentes, nossos resultados *in vivo*, com pacientes portadores de necessidades especiais, comprovam tal afirmativa.

Concordamos também com Sato (2002), que também evidenciou eficácia na redução de microrganismos aeróbios e anaeróbios em escovas de adultos, após aplicação de spray à base de cloreto de cetilpiridínio a 0,05%.

Deve ser salientado que não há relatos na literatura específica avaliando a eficácia do cloreto de cetilpiridínio, nem da clorexidina, na eliminação de microrganismos cariogênicos de escovas dentais de pacientes portadores de necessidades especiais.

Adicionalmente, a análise macroscópica das escovas com cultura microbiana positiva, efetuada no presente estudo, permitiu evidenciar a formação do biofilme bacteriano cariogênico, aderido à superfície das cerdas das escovas com cultura positiva, em todas as etapas (I, II e III), como já relatado por Cesco et al. (1995), Nelson-Filho et al. (2000), Isper (2002), Sato (2002) e Macari (2002).

Deve ser ainda salientado que, além da presença de microrganismos cariogênicos, as escovas podem abrigar outros microrganismos patogênicos, responsáveis por diferentes doenças locais ou sistêmicas. Em se tratando de pacientes com necessidades especiais, esse fato é de fundamental relevância, tendo em vista que esses pacientes em

geral apresentam alterações debilitantes, em diferentes sistemas orgânicos sendo, portanto, de maior risco à ocorrência de bacteriemias.

Segundo Glass & Lare (1986), há uma correlação positiva entre a contaminação microbiana das escovas e a ocorrência de doenças bucais. Esses autores relataram que freqüentemente ocorrem traumatismos gengivais durante a escovação, os quais servem como porta de entrada para microrganismos. Bacteriemias ocasionadas diariamente pela escovação dental têm sido descritas na literatura (Silver et al., 1979; Sconyers et al., 1973). A escovação em pacientes com doença periodontal avançada ocasiona mais bacteriemias que em pacientes de boa higiene bucal (Müller et al., 1989; Ramli, 1998). Além disso, de acordo com Glass et al. (1990) os microrganismos presentes nas cerdas das escovas podem não apenas provocar doenças localizadas na cavidade bucal, mas também infecções gastrointestinais e respiratórias.

Tendo em vista que as bacteriemias causadas por microrganismos oriundos da cavidade bucal podem resultar em endocardite bacteriana, torna-se tão importante reduzir essas bacteriemias diárias quanto implementar a antibioticoterapia profilática, previamente a procedimentos odontológicos invasivos, em pacientes de risco (Kaye, 1986). Acreditamos que isso justifique ainda mais a necessidade da implementação de cuidados diários na desinfecção de escovas dentais, após sua utilização, particularmente em pacientes portadores de necessidades especiais.

A comparação dos resultados obtidos no presente estudo com a literatura se torna impossibilitada, pois não existem trabalhos publicados

avaliando a contaminação/descontaminação de escovas dentais de indivíduos portadores de necessidades especiais.

Nesses pacientes, observa-se uma maior dificuldade em se efetuar um adequado controle do biofilme dental, em função de suas limitações físicas e/ou mentais, geralmente associadas a outros problemas sistêmicos, além de dificuldades na realização do tratamento da doença cárie e de suas complicações. Justifica-se, assim, a importância da prevenção precoce, implementada em todos os níveis.

No presente estudo, avaliamos apenas a presença de microrganismos cariogênicos nas escovas dentais. Assim, é necessário que se realize estudos adicionais, avaliando a contaminação de escovas de pacientes portadores de necessidades especiais por diferentes tipos de vírus, fungos e outras bactérias patogênicas, propondo-se métodos para sua desinfecção, visando melhorar as condições de saúde proporcionando, assim, melhor qualidade de vida e bem estar físico e emocional a esses pacientes.

7. CONCLUSÃO

7. Conclusão

Considerando os resultados obtidos, pôde-se concluir que:

- As cerdas das escovas dentais de pacientes portadores de necessidades especiais tornaram-se contaminadas por estreptococos do grupo mutans, após uma única escovação de 1 minuto;
- Para eliminar a contaminação das escovas dentais por estreptococos do grupo mutans, tanto a solução à base de gluconato de clorexidina a 0,12% quanto a solução à base de cloreto de cetilpiridínio a 0,05%, sob a forma de spray, podem ser indicadas;
- Com a finalidade de tornar a escova isenta de microrganismos, a solução à base de gluconato de clorexidina a 0,12% apresentou eficácia estatisticamente superior às demais soluções avaliadas (água de torneira esterilizada e solução à base de cloreto de cetilpiridínio a 0,05%).
- O método de aplicação das soluções antimicrobianas em spray parece ser a forma mais prática, rápida, fácil e econômica de desinfecção de escovas.
- Os cirurgiões dentistas devem recomendar a desinfecção de escovas dentais como hábito rotineiro de controle de infecção.

8. BIBLIOGRAFIA

8. Bibliografia *

1. Al-Tannir MA, Goodman HS. A review of chlorhexedine and its use in special populations. *Spec Care Dentist* 1994; 14:116-22.
2. Azevedo RVP. O emprego da bacteriocinotipagem (mutacinotipagem) no rastreamento epidemiológico de estreptococos do grupo mutans [tese]. São Paulo: Univ. de São Paulo; 1988.
3. Borges EJS, Yokoxino J, Miranda AV, Correa LR, Silveira SRA, Siqueira RV, Chavasco JK. Verificação da contaminação de escovas de dente por coliformes e parasitas intestinais. *Rev Univ Alfenas* 1996; 2:183-7.
4. Bregagnolo JC, Watanabe MGC, Mestriner Jr W, Gaspar D. Utilização de escova dental coletiva entre escolares da rede oficial de ensino de Jardinópolis. In: CONGRESSO INTERNO DE PESQUISA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO, 1º, 1999, Ribeirão Preto. *Anais...* Ribeirão Preto: USP, 1999. p. 116.
5. Burtner AP, Low DW, Mcneal DR, Hassel TM, Smith RG. Effects of chlorhexidine spray on plaque and gingival health in institutionalized persons with mental retardation. *Spec Care Dent* 1991; 11:97-100.
6. Carvajal E, Gálvez P, Majlis G, Oyarzún A. Presencia de microorganismos en cepillos dentales utilizados en higiene oral habitual. *Rev Dent Chile* 1995; 85:25-8.
7. Caudry SD, Klitorinos A, Chan ECS. Contaminated toothbrushes and their disinfection. *J Can Dent Assoc* 1995; 61:511-6.
8. Cesco RT, Bignelli P, Santos CP, Ito IY. Toothbrushes: evaluation of contamination level by streptococci of mutans group. In: WORLD CONGRESS ON PREVENTIVE DENTISTRY, 5th., 1995, São Paulo. *Proceedings...* São Paulo, 1995. p. 103.
9. Chibebe Jr J, Pallos D. Avaliação da esterilização de escovas dentais em forno de microondas (estudo *in vitro*). *Biociências* 2001; 7:39-42.

10. Christensen RP, Robison RA, Robison DF. Antimicrobial activity of environmental surface disinfectant in the absence and presence of bioburden. *J Am Dent Assoc* 1989; 119:493-505.
11. Clark CD, Morgan J, MacEntee MI. Effects of a 1% chlorhexidine gel on the cariogenic bacteria in high-risk elders: a pilot study. *Spec Care Dent* 1991; 11:101-3.
12. Cobb CM. Toothbrushes as a cause of repeated infections of the mouth. *Boston Med Surg J* 1920; 183:263-4.
13. Coelho RC, Brandão LM, Silveira JLGC. Uso e acondicionamento de escovas em creches. *Pesqui Odontol Bras* 2001; 15:19
14. Cutress TW. Periodontal disease and oral hygiene in trisomy 21. *Arch Oral Biol* 1971; 16:1345-55.
15. Daniel WW. *Applied Nonparametric Statistics*. Boston: Houghton Mifflin; 1978.
16. Dayoub MB, Rusilko D, Gross, A. Microbial contamination of toothbrushes. *J Dent Res* 1977; 56:706.
17. Denton GW. Chlorhexidine. In: Block SS, editors. *Disinfection, sterilization and preservations*. 4th ed. Philadelphia: Ed. Lea & Febiger; 1991. p.274-89.
18. Dunn OJ. Multiple comparisons using ranking sums. *Technometrics*. Richmond 1964; 6: 41-52.
19. Emilson CG. Susceptibility of various microorganisms to chlorhexidine. *Scand J Dent Res* 1977; 85:255-65.
20. Fardal O, Turnbull RS. A review of the literature on use of chlorhexidine in dentistry. *J Am Dent Assoc* 1986; 112:863-9.
21. Feo M. Supervivencia y desinfección de *Candida albicans* en el cepillo de dientes. *Mycopathologia* 1981; 74: 129-34.
22. Fine DH, Furgang D, Barnett ML, Drew C, Steinberg L, Charles CH, Vincent JW. Effect of an essential oil-containing antiseptic mouthrinse on plaque and salivary *Streptococcus mutans* levels. *J Clin Periodontol* 2000; 27:157-61.
23. Flotra L. Different modes of chlorhexidine application and related local side effects. *J Periodont Res* 1973; 12 (Suppl):41-4.

24. Fourniol-Filho A. Pacientes especiais e a odontologia. São Paulo: Livraria Santos Editora; 1998.
25. Francis JR, Hunter B, Addy MA. Comparison of three delivery methods of chlorhexidine in handicapped children. *J Periodontol* 1987; 58:451-5.
26. Fratto G, Nazzicone M, Ortolani E. Disinfezione degli spazzolini dentali. *Ricerca sperimentale. Prev Assist Dent* 1990; 16:7-10.
27. Girgis SS. Dental health of persons with severe mentally handicapping conditions. *Spec Care Dent* 1985; 5:246-8.
28. Gjermo P, Baasbud KL, Rolla G. The plaque inhibiting capacity of 11 antibacterial compouds. *J Periodont Res* 1970; 5:102-9.
29. Gjermo P, Bonesvoll P, Rolla G. Relationship between plaque – inhibiting effect and retention of chlorhexidine in the human oral cavity. *Archs Oral Biol* 1974; 19:1031-4.
30. Gjermo P, Rolla G. The plaque-inhibiting effect of chlorhexidine-containing dentifrices. *Scand J Dent Res* 1971; 79:126-32.
31. Glass RT. The infected toothbrush, the infected denture, and transmission of disease: a review. *Compend Contin Educ Dent* 1992; 13: 592-8.
32. Glass RT. Toothbrush care. *J Am Dent Assoc* 1998; 129:1076.
33. Glass RT. Transmission of disease: the role of the toothbrush and the denture. Annual Meeting, American Academy of Oral Pathology; IADR Abstract Form 1990 abril 22-26; San Diego, USA; San Diego Princess; 1990.
34. Glass RT, Carson RS, Barker RL, Peiper SC, Shapiro S. Detection of HIV proviral DNA on toothbrushes: a preliminary study. *J Am Dent Assoc* 1994; 84:17-20.
35. Glass RT, Furgason M, Moody J. Effectiveness of an ultra-violet light toothbrush sanitizer on three microorganism. *J Dent Res* 1996; 75:417.
36. Glass RT, Furgason M, Moody J. *In vivo* study of the efficacy of an ultra-violet toothbrush sanitizer. *J Dent Res* 1997; 76:385.
37. Glass RT, Jensen HG. More on the contaminated toothbrushes: the viral story. *Quintessence Int* 1988; 19:713-6.

38. Glass RT, Jensen HG. The effectiveness of a U-V toothbrush sanitizing device in reducing the number of bacteria, yeasts and viruses on toothbrushes. *Okla Dent Assoc J* 1994; 84:24-8.
39. Glass RT, Lare MM. Toothbrushes contamination: a potential health risk? *Quintessence Int* 1986; 17:39-42.
40. Glass RT, Martin M, Jensen H. The toothbrush travel and transmission of disease. In: CONFERENCE ON INTERNATIONAL TRAVEL MEDICINE; 2nd ., 1991, Atlanta. *Proceedings ... Atlanta, 1991.* p. 9-12.
41. Glass RT, Martin M, Jensen H, Peters L J. The toothbrush: a possible unsuspected source of nosocomial infections. In: INTERNATIONAL CONFERENCE ON NOSOCOMIAL INFECTIONS, 3rd ., 1990, Atlanta. *Proceedings... Atlanta, 1990.* p. 5.
42. Glass RT, Martin ME, Peters L J. Transmission of disease in dogs by toothbrushing. *Quintessence Int* 1989; 20:819-24.
43. Glass RT, Min KW, Adler V. The toothbrushes: kaposi sarcoma and aids: a case demonstrating interesting associations. *Okla Dent Assoc J* 1995; 86:22-4.
44. Glass RT, Shapiro S. Oral inflammatory diseases and the toothbrush. *Ala Dent Assoc J* 1993; 77:12-6.
45. Goyings ED, Riekse DM. The periodontal condition of the mentally retarded children: improvement through oral hygiene. *J Pub Health Dent* 1968; 28:5-15.
46. Greenstein G, Berman C, Joffin R. Chlorhexidine – an adjunct to periodontal therapy. *J Periodontol* 1986; 57:370-7.
47. GRIGOLETTO, JC.; GASPAR, D.; WATANABE, MGC.; MESTRINER JÚNIOR, W.; BREGAGNOLO, JC. Hábitos de higiene e utilização de escova dental coletiva por escolares da cidade de Brodósqui – SP. In: CONGRESSO INTERNO DE PESQUISA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO, 3^o., 2000, Ribeirão Preto. *Anais... Ribeirão Preto: USP, 2000.* p. 86.
48. GRIGOLETTO, JC.; GASPAR, D.; WATANABE, MGC.; MESTRINER JÚNIOR, W.; BREGAGNOLO, JC. Hábitos de higiene bucal e utilização de uma mesma escova dental por mais de um membro da família no município de Guatapará – SP. In: CONGRESSO INTERNO DE PESQUISA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE RIBEIRÃO PRETO, 4^o., 2001, Ribeirão Preto. *Anais... Ribeirão Preto: USP, 2001.* p. 76.

49. Hennessey TD. Some bacterial properties of chlorhexidine. *J Periodont Res* 1973; 8:61-7.
50. Isper AR. Avaliação da formação do biofilme nas cerdas de escovas dentais em função do dentífrico utilizado, com ou sem triclosan – técnica de cultura microbiológica e microscopia eletrônica de varredura [dissertação]. Ribeirão Preto – FORP: Univ de São Paulo; 2002.
51. Jensen B, Bratthall D. A new method for the estimation of mutans streptococci in human saliva. *J Dent Res* 1989; 68:468-71.
52. Kauffmann, JH. A study of the toothbrush. *Dent Cosmos* 1924; 66:300-13.
53. Kauffmann, JH. A study of the toothbrush II. *Dent Cosmos* 1929; 71:132-40.
54. Kaye D. Prophylaxis for infective endocarditis: an update. *Ann Int Med* 1986; 1:49-423.
55. Kohler B, Bratthall D. Intrafamilial levels of mutans and some aspects of the bacterial transmission. *J Dent Res* 1978; 86:35-42.
56. Kozai K, Iwai T, Miura K. Residual contamination of toothbrushes by microorganisms. *J Dent Child* 1989; 56:201-4.
57. Laher A, Cleaton-Jones PE. Chlorhexidine rinsing in physically handicapped pupils in Katlehong. *J D A S A* 1996; 51:343-6.
58. Lara EHG, Ito IY, Ogasawara MS, Semprini M, Panzeri H. Avaliação da eficiência de algumas soluções anti-sépticas para desinfecção de escovas dentais. *Rev Assoc Bras Odontol* 2001; 9:18-23.
59. Lehmer E, Appleton JLT. Care of toothbrush. *J Dent Res* 1931; 11:530.
60. Leonardo MR, Tanomaru Filho M, Silva LAB, Nelson Filho P, Bonifácio KC, Ito IY. *In vivo* antimicrobial activity of 2% chlorhexidine used as a root canal irrigation solution. *J Endod* 1999; 25:167-71.
61. Lindquist B, Edward S, Torell P, Krasse B. Effect of different caries preventive measures in children highly infected with mutans streptococci. *Scand J Dent Res* 1989; 97:330-7.
62. Loe H, Schiott CR. The effect of mouthrinses and topical application of chlorhexidine on the development of dental plaque and gingivitis in man. *J Periodont Res* 1970; 5:79-83.

63. Løe H, Schiott CR, Glavind L, Kaning T. Two years' oral use of chlorhexidine in man. I. General design and effects. *J Periodont Res* 1976; 11:135-44.
64. Long SR, Santos AS, Nascimento CMO. Avaliação da contaminação de escovas dentais por enterobactérias. *Rev Odontol Univ St Amaro* 2000; 5:21-5.
65. Lopes JL, Saba-Chujfi E, Fernandes PA, Saba MEC. A utilização do digluconato de clorexidina nos últimos anos e suas perspectivas futuras. *Rev Paul Odontol* 1992; 4:16-20.
66. Louvain MC. Avaliação da formação de biofilme e métodos de desinfecção de chupetas, por meio da técnica de cultura microbiana e microscopia eletrônica de varredura [dissertação]. Ribeirão Preto - FORP: Univ de São Paulo; 2002.
67. Macari S. Eficácia de soluções antimicrobianas, na forma de spray, para a desinfecção de escovas dentais de crianças [dissertação]. Ribeirão Preto – FORP: Univ de São Paulo; 2002.
68. Maia Campos GM. Programa GMC: pesquisa biológica. Versão 8.1: software, 2000. Disponível em: <http://www.forp.usp.br/restauradora/gmc/gmc.html>. Acesso em: jul 2002.
69. Malmberg E, Birkhed D, Norvenious G, Norén JG, Dahén G. Microorganism on toothbrushes at day-care centers. *Acta Odontol Scand* 1994; 52:93-8.
70. Maltz M, Zicket I, Krasse B. Effect of different caries preventive measures in children highly infected with mutans streptococci. *Scand J Dent Res* 1981; 89:445-9.
71. Marcano C. El cepillo de dientes en la ecologia de *Candida albicans*. *Mycopathologia* 1981; 73:135-41.
72. Marsh PD. Inhibition by the antimicrobial agent of acid production and sugar transport in oral streptococcal bacteria. *Arch Oral Biol* 1983; 28:233-40.
73. Martens L, Marks L, Kint JL. Utilization de la chlorhexidine comme moyen de contrôle de plaque préventif et thérapeutique chez l`handicapé. *Rev Belg Méd Dent* 1997; 2:27-37.

74. McKenzie WT, Forgas L, Vernino AR, Parker D, Limestall JD. Comparison of a 0,12% chlorhexidine mouthrinse and a essential oil mouthrinse on oral health in institutionalized, mentally handicapped adults: one-year results. *J Periodontol* 1992; 63:187-93.
75. Medeiros AS, Queiroz AM, Felicio CM. Dificuldades alimentares em pacientes portadores de paralisia cerebral. Revisão de Literatura. *J Bras de Odontopediatr & Odontol Bebê* 2002; 5:131-5.
76. Meier S, Collier C, Scalleta MG, Stephens J, Kimbrough R, Kettering JD. An *in vitro* investigation of the efficacy of CCP for use in toothbrushes decontamination. *J Dent Hyg* 1996; 70:161-5.
77. Motzfeld R, Huerta J, Apip A, Araya E. Tipo y grado de contaminación por bacterias bucales y leveduras de cepillos dentales con uso habitual. *Rev Fac Odontol Univ Chile* 1999; 17:9-14.
78. Mugayar LRF. Pacientes portadores de necessidades especiais. Manual de odontologia e saúde oral. São Paulo: Pancast; 2000.
79. Müller HP, Lange DE, Müller RF. *Actinobacillus Actinomycetemcomitans* contamination of toothbrushes from patients harbouring the organism. *J Clin Periodontol* 1989; 16:388-9.
80. Nelson E, Glass R. The ability of different toothbrushes types to retains microorganisms. IADR Abstratc form; 1989.
81. Nelson-Filho P, Chan C, Azevedo VP, Mussolino ZM, Ito IY. Estreptococos do grupo mutans: correlação do risco à cárie entre mães e filhos. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISA ODONTOLÓGICA, 9^o., 1993, *Anais...* São Paulo, 1993. p. 212.
82. Nelson-Filho P, Macari S, Faria G, Assed S, Ito IY. Microbial contamination of toothbrushes and their decontamination. *Pediatr Dent* 2000; 22:381-4.
83. Newbrun E. Preventing dental caries: breaking the chain of transmission. *Am Dent Assoc J* 1992; 123:55-9.
84. Ohta H, Hanada N, Kaneko K. *In vitro* study on viral infection of blood contaminated toothbrushes. *Int Dent J* 2000; 50:350.
85. Oliveira-Neto JM, Nelson-Filho P. Avaliação dos conhecimentos relativos aos cuidados com as escovas dentais, após sua utilização, em adultos, crianças e pacientes especiais [monografia]. Ribeirão Preto - FORP: Univ de São Paulo; 2001.

86. Parson JC. Chemotherapy of dental plaque – a review. *J Periodontol* 1974; 45:177-86.
87. Paschoal AD, Rotta JCP. Conservação e uso de escovas entre escolares de cinco municípios do ERSA-55 de Casa Branca/SP. *RGO* 1992; 40:276-8.
88. Pinto EDR, Paiva EMM, Pimenta FC. Viabilidade de microrganismos anaeróbios da cavidade bucal em escovas dentárias. *Periodontia* 1997; 6:8–12.
89. Quirynen M, Soete M, Pauwels M, Goossens K, Teughels W, Eldere J, Steenberghe D. Bacterial survival rate on tooth and interdental brushes in relation to the use of toothpaste. *J Clin Periodontol* 2001; 28:1106-14.
90. Rajchert-Trzpił M, Kozłowski J, Osowiecki H. Microbial investigations of new and used toothbrushes with different types of hair. *Czas Stomat* 1978; 31:239-45.
91. Ramli R. Toothbrush contamination. *Aust Dent J* 1998; 43:368.
92. Rolla G, Løe H, Schiott R. Retention of chlorhexidine in the human oral cavity. *Arch Oral Biol* 1971; 16:1109-15.
93. Rolla G, Melsen B. The mechanism of the plaque inhibition by chlorhexidine. *J Dent Res* 1975; 54:57-62.
94. Russel BG, Bay LM. Oral use of chlorhexidine gluconate toothpaste in epileptic children. *Scand J Dent Res* 1978; 86:52-7.
95. Rutala WA. Draft guidelines for selection and use of disinfectants. *Am J Infect Control* 1989; 17:24-38.
96. Sanches MH, Peres SHCS, Peres AS, Bastos JRM. Descontaminação das escovas dentais por imersão em soluções anti-sépticas. *R G O* 2001;49:167-71.
97. Sato S. Avaliação *in vivo* da eficácia de soluções antimicrobianas sob a forma de spray para a desinfecção de escovas dentais [dissertação]. Ribeirão – FORP: Univ de São Paulo; 2002.
98. Schiott CR. The effect of chlorhexidine mouthrinse on human oral flora. *J Periodont Res* 1970; 5:84-9.

99. Sconyers JR, Crawford JJ, Molarty JD. Relationship of bacteremia to toothbrushing in patients with periodontitis. *J Am Dent Assoc* 1973; 87:616-22.
100. Shapira J, Sgan-Cohen HD, Stabholz A, Sela MN, Schurr D, Goutschin J. Clinical and microbiological effects of chlorhexidine and arginine sustained-release varnishes in the mentally retarded. *Spec Care Dent* 1994; 14:158-63.
101. Sheie AA, Assev S, Rolla G. The effect of SnF₂ and NaF on glucose uptake and metabolism in *S. mutans*. Factors relating to demineralization and remineralisation of the teeth. In: Seach SA, editor. Oxford: Irl Press; 1987; 2:99-104.
102. Siegel S. Estatística não paramétrica para a ciência do comportamento. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil; 1975.
103. 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; 8:65-8.
104. Silver JG, Martin AW, McBride BC. Experimental transient bacteremias in human subjects with clinically healthy gingival. *J Clin Periodontol* 1979; 6:33-6.
105. Snyder JR, Knopp JJ, Jordon WA. Dental problems of non-institutionalized mentally retarded children. *North-West Dent* 1960; 39:123-33.
106. Sober HA, Harte RA. Handbook of biochemistry: selected data for molecular biology. Cleveland: Chemical Rubber; 1968.
107. Stabholtz A, Sela MN, Friedman M, Golomb G, Soskolne A. A clinical and microbiological effects of sustained release of chlorhexidine in periodontal pockets. *J Clin Periodontol* 1986; 13:783-8.
108. Stewart RE. Pediatric dentistry – scientific foundations and clinical practice. St Louis: CV Mosby; 1982.
109. Stiefel DJ, Rolla R, Truelove EL. Effectiveness of various preventive methodologies for use with disabled patients. *Clin Prev Dent* 1984; 6:17-22.
110. Stiefel DJ, Truelove EL, Chin MM, Mandel LS. Efficacy of chlorhexidine swabbing in oral health care for people with severe disabilities. *Spec Care Dentist* 1992; 12:57-62.

111. Storhaug K. Hibitane in oral disease in handicapped patients. *J Clin Periodontol* 1977; 4:102-7.
112. 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.
113. Svanberg M. Contamination of toothpaste and toothbrushes by *Streptococcus mutans*. *Scand J Dent Res* 1978; 86:412-4.
114. Taji SS, Rogers AH. The microbial contamination of toothbrushes. A pilot study. *Aust Dent J* 1998; 43:128-30.
115. Teixeira SP, Perez C, Sekito JR, Dias K, Hirata JR. Efeito antimicrobiano de quatro soluções utilizadas na limpeza de preparos cavitários. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISA ODONTOLÓGICA, 16^o., 1999, Anais... Águas de São Pedro, 1999. p. 106.
116. Tesini DA. An annotated review of the literature of dental caries and periodontal disease in mentally retarded individuals. *Spec Care Dent* 1981; 1:75-87.
117. Thylstrup A, Fejerskov O. *Cariologia Clínica*. 2nd ed. São Paulo: Editora Santos; 2001.
118. Torres AS, Pizzolitto AC, Ellias AM, Ito IY. Estreptococos do grupo mutans: avaliação do Ágar SB20 e MSB na determinação de ufc na saliva e na placa dental de adolescentes. *Rev Bras Odontol* 1993; 50:18-21.
119. Twetman S, Grinde Fjord M. Mutans streptococci suppressions by chlorhexidine gel in toddlers. *Am Dent J* 1999; 12:89-91.
120. Usher PJ. Oral hygiene in mentally handicapped children: a pilot study of the use of chlorhexidine gel. *Br Dent J* 1975; 138:217-21.
121. Verran J, Leahy-Gilmartin AA. Investigation into the microbial contamination of toothbrushes. *Microbios* 1996; 85:231-8.
122. Verran J, Leahy-Gilmartin A, Watson GK, Hammond K, Huntington E, Raven SJ. Microbial contamination of toothbrushes during an in-home trial. *J Dent Res* 1997; 76(Special Issue):437.

123. Warren DP, Goldschmidt MC, Thompson MB, Adler-Storthz K, Keene WJ. The effects of toothpastes on the residual microbial contamination of toothbrushes. *J Am Dent Assoc* 2001; 132:1241-5.
124. Whitley R, Gilmore E. Contaminated toothbrushes and their disinfection. *J Dent Res* 1973; 52(Special Issue):218.
125. Zarski JP, Leroy V. Counselling patients with hepatitis C. *J Hepatol* 1999; 31:136-40.
126. Zolnowski-Casey M. An infection control procedure that is the patient's responsibility. *J Am Dent Assoc* 1998; 129:616-7.

9. Apêndice

Apêndice A – Resultados da análise estatística

Tabela 4 – Escores do número de colônias/biofilmes de estreptococos do grupo mutans nas cerdas das escovas dentais (Etapas I, II e III).

Caso	Etapa I (controle)	Etapa II (CHX – 0,12%)	Etapa III (CCP – 0,05%)
1	0	0	0
2	3	0	0
3	3	0	1
4	0	0	0
5	0	0	0
6	0	0	0
7	2	0	0
8	3	0	1
9	3	0	0
10	1	0	1
11	1	0	0
12	3	0	0
13	3	0	0
14	1	0	0
15	3	0	0
16	1	0	0
17	1	0	0
18	1	0	0
19	3	0	0
20	3	0	0
21	0	0	0
22	0	0	0
23	1	0	0
24	3	0	1
25	2	0	0
26	3	0	0
27	3	0	0
28	0	0	0
29	3	0	0
30	1	0	0
31	3	0	0
32	1	0	0
33	0	0	0
34	3	0	0
35	2	0	0
36	3	0	0
37	0	0	0
38	1	0	0
39	1	0	0

Tabela 5 – Comparações múltiplas de acordo com o teste de Dunn

Comparações das etapas	Diferença da soma dos postos
I x II	46,00***
I x III	42,50***
II x III	-3,50 ^{NS}

^{NS} – Diferença não significativa; *** $p < 0,001$

Tabela 6 – Dados obtidos após a conversão da classificação 0* para valor 0, e dos escores 0, 1, 2, 3 para valor 1.

Caso	Etapa I (controle)	Etapa II (CHX – 0,12%)	Etapa III (CCP – 0,05%)
1	1	0	0
2	1	0	1
3	1	1	1
4	1	0	1
5	1	0	0
6	1	0	0
7	1	0	1
8	1	0	1
9	1	0	0
10	1	1	1
11	1	0	1
12	1	1	0
13	1	0	0
14	1	0	0
15	1	0	0
16	1	0	1
17	1	0	1
18	1	0	0
19	1	1	0
20	1	0	1
21	1	0	0
22	1	0	1
23	1	0	1
24	1	1	1
25	1	0	1
26	1	0	0
27	1	0	1
28	1	0	0
29	1	0	0
30	1	0	0
31	1	1	0
32	1	0	1
33	1	0	1
34	1	1	1
35	1	0	0
36	1	0	1
37	1	0	0
38	1	1	1
39	1	0	1

Tabela 5 – Comparações múltiplas de acordo com o teste de Dunn

Comparações das etapas	Diferença da soma dos postos
I x II	46,00***
I x III	42,50***
II x III	-3,50 ^{NS}

^{NS} – Diferença não significativa; *** $p < 0,001$

Tabela 6 – Dados obtidos após a conversão da classificação 0* para valor 0, e dos escores 0, 1, 2, 3 para valor 1.

Caso	Etapa I (controle)	Etapa II (CHX – 0,12%)	Etapa III (CCP – 0,05%)
1	1	0	0
2	1	0	1
3	1	1	1
4	1	0	1
5	1	0	0
6	1	0	0
7	1	0	1
8	1	0	1
9	1	0	0
10	1	1	1
11	1	0	1
12	1	1	0
13	1	0	0
14	1	0	0
15	1	0	0
16	1	0	1
17	1	0	1
18	1	0	0
19	1	1	0
20	1	0	1
21	1	0	0
22	1	0	1
23	1	0	1
24	1	1	1
25	1	0	1
26	1	0	0
27	1	0	1
28	1	0	0
29	1	0	0
30	1	0	0
31	1	1	0
32	1	0	1
33	1	0	1
34	1	1	1
35	1	0	0
36	1	0	1
37	1	0	0
38	1	1	1
39	1	0	1

Tabela 7 - Comparação entre as etapas I, II e III, de acordo com o teste Q de Cochran.

x^2 total para 2 graus de liberdade	42,7647
Probabilidade de H_0 para esse valor	0,0000%
Significante ao nível de 1%	$\alpha = 0,01$

Tabela 8 – Comparação entre as etapas I e II, de acordo com o teste dos sinais.

Valor binomial calculado	5,39
Probabilidades de H_0 para esses valores	
a) em testes monocaudais	0,0000%
b) em testes bicaudais	0,0000%
Significante ao nível de 1%	$\alpha = 0,01$

Tabela 9– Comparação entre as etapas I e III, de acordo com o teste dos sinais.

Valor binomial calculado	0
Probabilidades de H_0 para esses valores	
a) em testes monocaudais	0,0000%
b) em testes bicaudais	0,0000%
Significante ao nível de 1%	$\alpha = 0,01$

Tabela 10 – Comparação entre as etapas II e III, de acordo com o teste dos sinais.

Valores binomiais calculados	0	19	171	969
Probabilidades de H_0 para esses valores				
a) em testes monocaudais				0,2200%
b) em testes bicaudais				0,4400%
Significante ao nível de 1%				$\alpha = 0,01$

Tabela 5 – Comparações múltiplas de acordo com o teste de Dunn

Comparações das etapas	Diferença da soma dos postos
I x II	46,00***
I x III	42,50***
II x III	-3,50 ^{NS}

^{NS} – Diferença não significativa; *** $p < 0,001$

Tabela 6 – Dados obtidos após a conversão da classificação 0* para valor 0, e dos escores 0, 1, 2, 3 para valor 1.

Caso	Etapa I (controle)	Etapa II (CHX – 0,12%)	Etapa III (CCP – 0,05%)
1	1	0	0
2	1	0	1
3	1	1	1
4	1	0	1
5	1	0	0
6	1	0	0
7	1	0	1
8	1	0	1
9	1	0	0
10	1	1	1
11	1	0	1
12	1	1	0
13	1	0	0
14	1	0	0
15	1	0	0
16	1	0	1
17	1	0	1
18	1	0	0
19	1	1	0
20	1	0	1
21	1	0	0
22	1	0	1
23	1	0	1
24	1	1	1
25	1	0	1
26	1	0	0
27	1	0	1
28	1	0	0
29	1	0	0
30	1	0	0
31	1	1	0
32	1	0	1
33	1	0	1
34	1	1	1
35	1	0	0
36	1	0	1
37	1	0	0
38	1	1	1
39	1	0	1

Anexo A – Ofício do Comitê de Ética em Pesquisa**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO**
FACULDADE DE ODONTOLÓGIA DE RIBEIRÃO PRETO

Of. CEP/116 FORP/05.7.2002

Prezado Senhor,

Ref. Processo nº 2002.1.471.58.9

De ordem do Senhor Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa, Prof. Dr. Ricardo Gariba Silva, informamos que o Comitê de Ética em Pesquisa, desta Faculdade, em sua 38ª sessão, realizada em 03 de julho de 2002, deliberou aprovar o Projeto de pesquisa envolvendo seres humanos intitulado: "Contaminação de escovas dentais de pacientes especiais por estreptococos do grupo mutans - Avaliação de métodos de sanitização, pela técnica de cultura", a ser desenvolvido por Vossa Senhoria, na Associação de Pais e Amigos dos Excepcionais de Ribeirão Preto - APAE; na Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto - USP e na Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto - USP, devendo o atestado, para publicação final, ser expedido pelo Comitê de Ética em Pesquisa, após a entrega e aprovação do Relatório Final pelo referido Comitê.

Na oportunidade, lembramos da necessidade de apresentar a este Comitê, o Relatório Final no dia 31 de julho de 2003.

Atenciosamente,

Rosângela A. S. Troca Nascimento
Rosângela A. S. Troca Nascimento
Secretária do Comitê de Ética em Pesquisa

Ilmo. Sr.
Prof. Dr. PAULO NELSON FILHO
Professor Doutor do Departamento de Clínica Infantil, Odontologia Preventiva e Social -
FORP/USP.

BASTIN:masp