

Análise *in vitro* da desinfecção de escovas dentais por substâncias com potencial antimicrobiano

In vitro analysis of toothbrushes' disinfection by antimicrobial activity substances

Análisis in vitro de la desinfección de cepillos dentales por sustancias con potencial antimicrobiano

Erick Tássio Barbosa **NEVES**¹
Erik Lafitt Tavares **MONTEIRO**¹
Diego Romário **SILVA**²
Matheus França **PERAZZO**³
Zilka Nanes **LIMA**⁴
Alessandro Leite **CAVALCANTI**¹

¹Departamento de Odontologia, Universidade Estadual da Paraíba – UEPB, 58429-500, Campina Grande-PB, Brasil

²Departamento de ciências fisiológicas (Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica) Faculdade de Odontologia de Piracicaba – FOP/UNICAMP, Universidade Estadual de Campinas, 13414-018, Piracicaba-SP, Brasil

³Departamento de Odontologia, Universidade Federal de Minas Gerais – UFMG, 31270-901, Belo Horizonte-MG, Brasil

⁴Departamento de Farmácia, Universidade Estadual da Paraíba – UEPB, 58429-500, Campina Grande-PB, Brasil

Resumo

Introdução: a correta utilização de técnicas e materiais de higiene são alguns dos fatores que influenciam positivamente a saúde bucal. O mal acondicionamento e higienização das escovas dentais podem contribuir para a reincidência de infecções bucofaríngeas. **Objetivo:** avaliar, *in vitro*, o potencial de descontaminação de duas diluições de hipoclorito de sódio em escovas dentais. **Materiais e Métodos:** as escovas foram inoculadas com *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Streptococcus mutans* e *Pseudomonas aeruginosa*, durante 30 segundos. Posteriormente foram tratadas por 10 minutos com: solução bucal Colgate Periogard® com álcool e 0,12% de gluconato de clorexidina, Água Sanitária Brilux® com 2,5% de cloro ativo diluída em água destilada até a concentração de 1% e Água Sanitária Brilux® com 2,5% de cloro ativo diluída em água destilada de acordo com a indicação do fabricante para desinfecção de frutas e vegetais (0,005%). Alíquotas das soluções foram semeadas em BHI ágar e incubadas a 37°C, por 48 horas. Foi feita a contagem das Unidades Formadoras de Colônia UFC/mL. **Resultados:** para as soluções Colgate Periogard® e Água Sanitária Brilux® (1%) não foi observado crescimento de microrganismos, já a solução Sanitária Brilux® (0,005%) apresentou um discreto crescimento para *Streptococcus mutans* (10200 UFC/ml) e *Candida albicans* (1200 UFC/ml). **Conclusão:** o Colgate Periogard® e a Água Sanitária Brilux® (1%) foram semelhantemente eficazes na desinfecção das escovas. O hipoclorito é uma substância de baixo custo, de fácil acesso e um bom candidato a ser adotado para a indicação de armazenamento e limpeza das escovas.

Descritores: Anti-Infeciosos; Desinfecção; Escovação Dentária.

Abstract

Introduction: The correct use of techniques and hygiene materials are some of the factors that positively influence oral health. Poorly conditioned and hygienised toothbrushes may contribute to the recurrence of oropharyngeal infections. **Objective:** to evaluate, *in vitro*, the decontamination potential of two dilutions of sodium hypochlorite in dental brushes. **Materials and Methods:** The brushes were inoculated with *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Streptococcus mutans* and *Pseudomonas aeruginosa* for 30 seconds. They were then treated for 10 minutes with: Colgate Periogard® alcohol solution and 0.12% chlorhexidine gluconate, Brilux® Sanitary Water with 2.5% active chlorine diluted in distilled water to a concentration of 1% and Sanitary Water Brilux® with 2.5% active chlorine diluted in distilled water according to the manufacturer's indication for disinfection of fruits and vegetables (0.005%). Aliquots of the solutions were seeded in BHI agar and incubated at 37 ° C for 48 hours. The UFC / mL colony forming units were counted. **Results:** Brilux® solution (0,005%) showed a slight growth for *Streptococcus mutans* (10200 CFU / ml) and *Candida albicans* (1200 CFU / ml). **Conclusion:** Colgate Periogard® and Brilux® Sanitary Water (1%) were similarly effective in disinfecting the brushes. Hypochlorite is a low cost, easily accessible substance and a good candidate to be adopted for the storage and cleaning indication of brushes.

Descriptors: Anti-Infective Agents; Disinfection; Toothbrushing.

Resumen

Introducción: la correcta utilización de técnicas y materiales de higiene son algunos de los factores que influyen positivamente la salud bucal. El mal acondicionamiento e higienización de los cepillos dentales pueden contribuir a la reincidencia de infecciones bucofaríngeas. **Objetivo:** evaluar, *in vitro*, el potencial de descontaminación de dos diluciones de hipoclorito de sodio en cepillos dentales. **Materiales y Métodos:** los cepillos fueron inoculados con *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Streptococcus mutans* y *Pseudomonas aeruginosa*, durante 30 segundos. En la mayoría de los casos, se observó un aumento en la concentración de agua potable en el agua potable, con una concentración de 1% y agua sanitaria, Brilux® con 2,5% de cloro activo diluida en agua destilada de acuerdo con la indicación del fabricante para desinfección de frutas y vegetales (0,005%). Las alícuotas de las soluciones fueron sembradas en BHI ágar e incubadas a 37°C, por 48 horas. Se realizó el conteo de las Unidades Formadoras de Colonia UFC / mL. **Resultados:** para las soluciones Colgate Periogard® y Agua Sanitaria Brilux® (1%) no se observó crecimiento de microorganismos, ya la solución Sanitaria Brilux® (0,005%) presentó un discreto crecimiento para *Streptococcus mutans* (10200 UFC / ml) y *Candida albicans* (1200 UFC / ml). **Conclusión:** el Colgate Periogard® y el Agua Sanitaria Brilux® (1%) fueron similares en la desinfección de las escobillas. El hipoclorito es una sustancia de bajo costo, de fácil acceso y un buen candidato a ser adoptado para la indicación de almacenamiento y limpieza de los cepillos.

Descriptores: Antiinfectivos; Desinfección; Cepillado Dental.

INTRODUÇÃO

A higiene bucal está relacionada à diminuição da prevalência da cárie dental, como também à saúde gengival adequada, estética e a relação social do indivíduo. Para sua manutenção, considera-se que o controle mecânico do biofilme dental (escovas, fio dental e enxaguatórios bucais) é um método fácil e eficaz, de forma que a utilização

de protocolos de higiene baseado nesses itens impacta positivamente na saúde bucal dos pacientes^{1,2}.

Os primeiros relatos oficiais de que escovas dentais poderiam atuar como uma fonte de infecções repetidas por via oral são encontrados no início do século XX³. Em seguida, surgiram discussões acerca

de uma condição sistêmica mais complicada, a endocardite bacteriana resultante de bacteremia por escovas dentais contaminadas⁴.

Recomenda-se que as escovas dentais sejam substituídas mensalmente e armazenadas de forma adequada durante o seu uso, pois proporcionam um meio contaminado, juntamente ao substrato de restos alimentares, favorecendo o crescimento de microrganismos. Nesse sentido, a utilização de substâncias desinfetantes em intervalos regulares pode contribuir para redução dessas contaminações^{5,6}.

A maioria dos microrganismos transferidos da escova dental para a cavidade bucal ou para outras escovas (quando acondicionadas no mesmo ambiente) compõem a microbiota natural do paciente, no entanto, na presença de quadros infecciosos, é possível que os microrganismos envolvidos também sejam transferidos^{7,8}.

A literatura tem demonstrado melhor recuperação de pacientes com infecções bucofaríngeas após a substituição das escovas dentais usadas por outras novas, indicando potencialização na capacidade de resposta do hospedeiro que realizou a substituição em relação àqueles que não realizaram⁹.

A partir dessa perspectiva, é importante que sejam desenvolvidos estudos para análise de substâncias capazes de promover a desinfecção de escovas dentais. Tal proposta é particularmente positiva devido à possibilidade de utilização dos agentes desinfetantes em âmbito coletivo, com um destaque para o ambiente pré-escolar, quando hábitos de higiene geral são introduzidos e a possibilidade de infecções pelo amplo contato é claramente maior¹⁰. Assim, o objetivo desse trabalho foi analisar agentes químicos de custo acessível para desinfecção de escovas dentais.

MATERIAL E MÉTODO

Descrição do estudo

A análise foi realizada no laboratório de análises clínicas da Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). A amostra foi composta por 100 escovas dentais pop 32 macias (Bitufo®). As escovas foram divididas em quatro grupos de 25 escovas. Cada grupo foi contaminado com uma espécie de microrganismo que pode ser encontrado no ambiente bucal.

Inoculação das escovas

Foram utilizadas cepas de quatro microrganismos: *Escherichia coli* (*E. coli*) ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) ATCC 15442, *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) ATCC 25175 e *Cândida albicans* (*C. albicans*) ATCC 289065. Cada grupo, contendo 25 escovas, foi imerso, por 30 segundos, em um tubo de ensaio contendo o inóculo de um dos microrganismos diluído em solução salina a 0,9%. A concentração de

células presentes na solução contaminada foi padronizada em uma escala de $1,5 \times 10^8$ células (Escala MacFarland).

Desinfecção das escovas

Após imersão no inóculo, as escovas foram transportadas para tubos de ensaio contendo 10ml de diferentes agentes químicos, onde permaneceram durante por 10 minutos. De cada grupo de 25 escovas, cinco tiveram suas cerdas submersas em hipoclorito de sódio (água sanitária Brilux® com 2,5% de cloro ativo diluída em água destilada até a concentração de 1%), outras cinco em água sanitária Brilux® com 2,5% de cloro ativo diluída em água destilada de acordo com a indicação do fabricante para desinfecção de frutas e vegetais (10ml de solução para cada 5 litros de água destilada – 0,005% de cloro ativo) e as cinco restantes em solução bucal de clorexidina a 0,12% (Colgate Periogard® - CLX).

As escovas foram previamente esterilizadas em solução de glutaraldeído 2,5%. O controle positivo foi o grupo de escovas tratadas com glutaraldeído. Com relação às cinco escovas do controle negativo, logo após contaminação no inóculo foram submersas em solução fisiológica estéril.

Plaqueamento das amostras

Após sua imersão em tubos de ensaio com os agentes químicos, as escovas foram encaminhadas para descarte e as soluções resultantes foram semeadas em placas de Petri com BHI Agar (Agar Infusão de Cérebro e Coração Modelo M211). O *S. mutans* foi cultivado em Agar sangue. A leitura dos resultados foi feita 48 horas após o semeio das placas que ficaram em estufa a 37°C. A placa contendo *S. mutans* foi incubada em microaerofilia. Os resultados foram obtidos em número de Unidades Formadoras de Colônia (UFC) de cada placa, obtidos por um único examinador previamente treinado, determinando a média de crescimento em cada grupo.

Análise estatística

Os ensaios foram realizados em triplicata e em três experimentos independentes. Posteriormente, utilizou-se análise de variância e análise post-hoc de acordo com o teste de Tukey, com nível de significância de 5% ($\alpha < 0,05$).

RESULTADOS

Os resultados (Figuras 1 a 4) mostraram superioridade dos agentes químicos: água sanitária Brilux® a 1% e da solução bucal Colgate Periogard®, que possui gluconato de clorexidina a 0,12% em sua composição. A água sanitária Brilux® diluída segundo indicações do fabricante na concentração de 0,005%, mostrou-se a menos eficaz das soluções para *Streptococcus mutans* e *Cândida albicans*, embora tenha apresentado bom resultado geral nas escovas contaminadas por *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*.

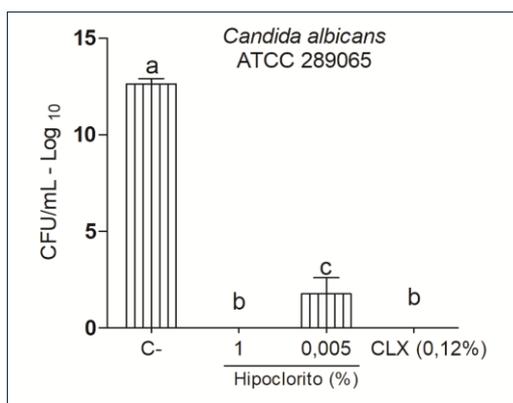


Figura 1: Gráfico mostrando a diferença entre a quantidade de UFC/ml de *P. Aeruginosa* frente ao tratamento com diluições de hipoclorito e enxaguante bucal com clorexidina 0,012% em relação ao controle negativo.

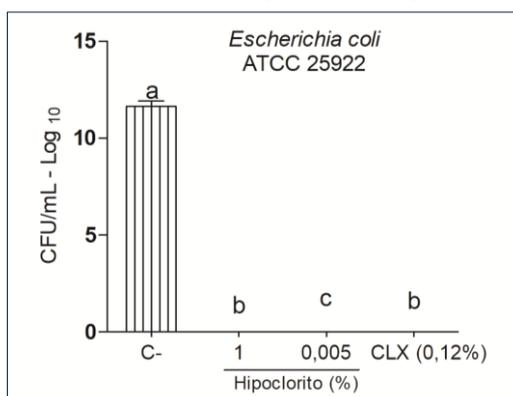


Figura 2: Gráfico mostrando a diferença entre a quantidade de UFC/ml de *S. mutans* frente ao tratamento com diluições de hipoclorito e enxaguante bucal com clorexidina 0,012% em relação ao controle negativo.

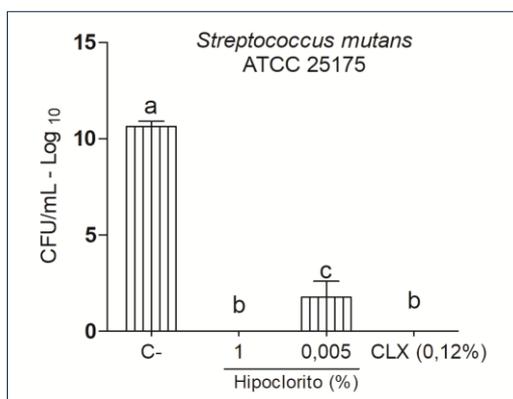


Figura 3: Gráfico mostrando a diferença entre a quantidade de UFC/ml de *E. Coli* frente ao tratamento com diluições de hipoclorito e enxaguante bucal com clorexidina 0,012% em relação ao controle negativo.

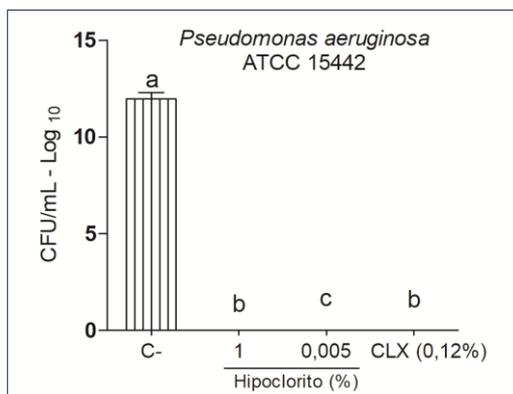


Figura 4: Gráfico mostrando a diferença entre a quantidade de UFC/ml de *C. albicans* frente ao tratamento com diluições de hipoclorito e enxaguante bucal com clorexidina 0,012% em relação ao controle negativo.

DISCUSSÃO

A boca é um ambiente propício à contaminação e infecção devido à presença de um elevado número de microrganismos. Frente à microbiota natural, desequilíbrios podem favorecer a proliferação desordenada de espécies oportunistas o que leva ao aumento da patogenicidade e ao estabelecimento de infecções que podem surgir localmente ou em estruturas distantes como são os casos das endocardites infecciosas e das infecções respiratórias^{11,12}.

De forma geral, há escassa discussão em torno da desinfecção de escovas dentais. Até mesmo no ambiente acadêmico, tem-se percebido que parte dos estudantes de Odontologia não adotam uma técnica apropriada de acondicionamento e higienização das escovas dentais. Esse comportamento prejudica o processo de educação em saúde bucal, uma vez que os futuros profissionais também são responsáveis pela disseminação da informação para a população¹³.

A utilização de agentes químicos com a finalidade de promover a desinfecção de escovas dentais tem se popularizado, inclusive devido à existência no mercado de uma grande variedade de produtos com potencial bactericida. De modo geral, um agente para desinfecção deve favorecer o controle das infecções provocadas pela contaminação nas escovas dentais, além de apresentar baixo custo e ser de fácil acesso¹⁴.

Embora o enxágue das escovas dentais em água corrente seja um método habitual, não apresenta eficácia comprovada¹⁵. Métodos de desinfecção alternativos têm sido estudados, a exemplo da aplicação de agentes fitoterápicos. Estudo utilizando infusão de romã para desinfecção de escovas dentais contaminadas por *S. mutans* demonstrou a inefetividade dessa solução, especialmente quando comparada ao hipoclorito de sódio a 1% e ao digluconato de clorexidina a 0,12%¹⁶.

Com o objetivo de avaliar a contaminação e descontaminação de escovas dentais utilizadas por crianças com necessidades especiais, foi realizado um estudo experimental com três diferentes agentes químicos, que foram borrifados nas escovas dentais previamente utilizadas por 30 crianças durante 30 dias. Foram aplicadas soluções de hipoclorito de sódio a 1%, digluconato de clorexidina a 0,12% e água destilada como grupo controle. Os resultados mostraram eficiência na redução dos bacilos gram negativos e das leveduras do grupo *Candida spp* apenas através do uso da clorexidina, e nenhuma das soluções se mostrou efetiva contra *Streptococcus spp*¹⁷.

Em contraste, o presente estudo utilizou a técnica de imersão das escovas em substituição ao borrifamento, por acreditar que a primeira permite um maior contato das cerdas para ação do agente

químico utilizado. Por essa razão sugere-se que os resultados inibitórios obtidos com a clorexidina 0,12%, inclusive para *S. mutans*, podem ter se dado em decorrência dessa mudança metodológica. A ação do digluconato de clorexidina a 0,12% foi confirmada através da imersão de escovas dentais previamente contaminadas em um outro estudo, demonstrando concordância com os resultados obtidos na presente análise¹⁸.

Em um estudo realizado com escovas de pré-escolares de 6-7 anos, utilizadas por cinco dias, concluiu-se que entre o borrifamento das escovas com água deionizada esterilizada, hipoclorito de sódio a 1% e ácido acético a 0,5 % para sua desinfecção, a solução que mostrou maior efetividade antimicrobiana foi o hipoclorito de sódio a 1%¹⁵. Apesar da variação metodológica devido ao uso de borrifamento, os resultados obtidos estão em concordância com o presente estudo, pois o hipoclorito de sódio em uma concentração de 1% mostrou efetividade contra os microrganismos testados.

Outras possibilidades de desinfecção de escovas vêm sendo estudadas. A utilização de dentríficos com triclosan demonstrou uma redução significativa da contaminação de escovas dentais contaminadas pelo *S. mutans*¹⁹. Alternativas ao uso da clorexidina como agente para desinfecção também estão divulgadas na literatura. Um recente estudo demonstrou uma maior efetividade da utilização de raios ultravioleta na desinfecção de escovas em relação ao digluconato de clorexidina. Tais resultados são promissores, mas a depender do público a que se destinam podem demandar gastos inviáveis e reduzir a abrangência de indivíduos com acesso a esse recurso²⁰.

O presente trabalho, por se tratar de estudo laboratorial, apresenta limitações próprias que evidenciam a necessidade de uma reprodução mais fidedigna do ambiente bucal. Os resultados são portanto preliminares, e acredita-se que a principal contribuição está em torno da possibilidade de permitir a avaliação de substâncias como o hipoclorito de sódio que é de baixo custo e fácil acesso populacional. Desta forma, sugere-se a realização de novos estudos utilizando escovas dentais contaminadas *in vivo* e prosseguimento dos pacientes para acompanhamento do nível de contaminação das escovas e melhor esclarecimento dos resultados.

CONCLUSÃO

Dentre os agentes químicos testados, a clorexidina a 0,12% apresentou os melhores resultados devido ao seu alto potencial antimicrobiano e sua baixa toxicidade em níveis controlados além de ser considerada uma substância tolerável aos tecidos bucais. O uso do hipoclorito de

sódio a 1% também demonstrou resultados positivos. Cabe, no entanto, salientar o impasse que é a sua toxicidade quando em contato direto com os tecidos bucais estando em altas concentrações. Por isso recomenda-se o uso do mesmo em menores concentrações de forma a superar essa problemática e prosseguir com o enxágue completo da escova dental após a realização de todo processo de desinfecção. Recomenda-se o empenho e dedicação para um bom acondicionamento das escovas dentais em local arejado e livre de contaminação e a sua substituição periódica.

REFERÊNCIAS

1. Alves DM, Santos AA, Santos TJ, Bomfim AMA, Calado AA. Avaliação da eficácia de uma escova e fita dentais alternativas utilizadas na higienização bucal em escolares da rede pública. *Odontol clín-cient.* 2003. 2(3):191-95.
2. Murray J, Scholten I. An oral hygiene protocol improves oral health for patients in inpatient stroke rehabilitation. *Gerodontology.* 2018; 35(1):18-24.
3. Cobb CM. Toothbrushes as a cause of repeated infections of the mouth. *Boston Med Surg J.* 1920; 183:263-64.
4. 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(9):1241-45.
5. Moreira ACS, Cavalcante GM. Influência da higienização na contaminação de escovas dentais. *Arq Ciênc Saúde Unipar.* 2008; 12(2):99-103.
6. Naik R, Ahmed Mujib BR, Telagi N, Anil BS, Spoorthi BR. Contaminated tooth brushes-potential threat to oral and general health. *J Family Med Prime Care.* 2015; 4(3):444-48.
7. Chibebe Jr J, Pallos D. Avaliação da esterilização de escovas dentais em forno de micro-ondas (estudo *in vitro*). *Rev biociênc.* 2001; 7(2):39-42.
8. Kosay K, Iway T, Miura K. Residual contamination of toothbrushes by microorganisms. *ASDC J Dent Child.* 1989; 56(3):201-4.
9. Glass RT. Toothbrush types and retention of microorganisms: how to choose a biologically sound toothbrush. *J Okla Dent. Assoc.* 1992; 82(3):26-8.
10. Massoni ACLT, Silva MCA, Perazzo MF, Pereira RVS, Pessoa CP, Granville-Garcia AF. Condições físicas e acondicionamento de escovas dentais de pré-escolares. *Arq Odontol.* 2015; 51(2):96-103.
11. Lockhart PB, Brennan M, Thornhill M, Michalowicz BS, Noll J, Bahrani-Mougeot FK et al. Poor oral hygiene as a risk for infective endocarditis – related bacteremia. *J Am Dent Assoc.* 2009; 140(10):1238-44.

12. Gomes-Filho IS, Passos JS, Cruz SS. Respiratory disease and the role of oral bacteria. *J Oral Microbiol.* 2010; 2:10.3402.
13. Zão EJR, Silva MAM, Alves MU. Desinfecção e armazenamento de escovas dentais: avaliação da prática realizada por acadêmicos do Curso de Odontologia da Universidade Severino Sombra - Vassouras/RJ. *Rev Pró-UniverSUS.* 2011; 2:53-64.
14. Gonçalves CS, Mialhe FL. Contaminação das escovas dentais: Uma revisão crítica da literatura. *R Periodontia.* 2009; 19(3):56-63.
15. Chaves RAC, Ribeiro DML, Zaia JE, Alves EG, Souza MGM, Martins CHG et al. Avaliação de soluções antibacterianas na descontaminação de escovas dentais de pré-escolares. *Rev Odontol UNESP.* 2007; 36(1):29-33.
16. Freire PLN, Campos PH, Carvalho FG, Rodrigues JA, Diniz MB. Is pomegranate peels infusion effective for disinfection of toothbrushes? *Rev Odontol Unesp.* 2016; 45(5):253-57.
17. Chibinsk ACR, Grandó K, Fanchin PT, Campagnoli E, Santos FA, Wambier DS. Descontaminação de escovas dentais utilizadas por crianças portadoras de necessidades especiais: análise microbiológica. *RSBO.* 2011; 8(2):145-52.
18. Soares DGS, Oliveira CB, Leal C, Drumond MRS, Padilha WWN. Atividade antibacteriana in vitro da tintura de aroeira (*Schinus molle*) na descontaminação de escovas dentais contaminadas pelo *S. mutans*. *Pesq Bras Odontoped Clin Integr.* 2007; 7(3):253-57.
19. Nelson-Filho P, Ispert AR, Assed S, Faria G, Ito IY. Effect of triclosan dentifrice on toothbrush contamination. *Pediatr Dent.* 2004; 26(1):11-6.
20. Tomar P, Hongal S, Saxena V, Jain M, Rana K, Ganavadiya R. Evaluating sanitization of toothbrushes using ultra violet rays and 0.2% chlorhexidine solution: A comparative clinical study. *J Basic Clin Pharm.* 2014; 6(1):12-8.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

AUTOR PARA CORRESPONDENCIA

Erick Tássio Barbosa Neves

erick.tassio@hotmail.com

Submetido em 17/07/2018

Aceito em 04/10/2018