

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA E DESCONTAMINAÇÃO DE ESCOVAS DENTAIS UTILIZADAS POR CRIANÇAS EM UMA ESCOLA MUNICIPAL DE EDUCAÇÃO INFANTIL DE SANTA FÉ DO SUL

Denner Leopoldino ESPERANÇA¹
 Andreia Estela Moreira SOUZA²

RESUMO

A escovação é o método mais eficaz e popular para o controle do biofilme dental, a fim de evitar e prevenir cáries e doenças periodontais. Em contrapartida, existem microrganismos que são capazes de sobreviver entre as cerdas das escovas. Em escolas, outro agravante é o contato salivar, decorrente da troca ou compartilhamento de escovas. O objetivo desse trabalho foi avaliar a contaminação microbiológica de escovas dentais utilizadas por crianças que frequentam uma creche municipal em Santa Fé do Sul/SP e estabelecer um protocolo de descontaminação eficiente e de fácil aplicação. Compuseram a amostra 55 escovas distribuídas a crianças da escola municipal, utilizadas por um período de 30 dias. Dessas, 35 foram recolhidas e imersas em tubos de ensaio contendo solução salina e NaCl 1% e 20 foram submetidas ao método de descontaminação por borrifamento com solução de hipoclorito de sódio a 1% e 2%. Um ml de cada solução foi inoculado em meio ágar BHI, incubado a 37°C por um período de 48 horas. Observou-se contaminação em aproximadamente 89% das escovas, com presença de cocos gram positivos semelhantes a estreptococos orais, além de bacilos gram negativos, cuja colonização precoce é fator de risco a periodontites agressivas. O fungo *Candida albicans* esteve presente em 23% das amostras. A descontaminação por borrifamento apresentou melhores resultados na concentração de 1% de hipoclorito. Não foi possível eliminar totalmente os microrganismos, mas a redução significativa e facilidade do método de descontaminação justificam o emprego da metodologia na escola de educação infantil.

Palavras-chave: Escovas dentais. Análise microbiológica. Descontaminação. Escola municipal.

1 INTRODUÇÃO

A escovação dental é o método mais eficaz e popular para o controle do biofilme dental, a fim de evitar e prevenir cáries e doenças periodontais. A cavidade bucal pode abrigar até

900 tipos diferentes de microrganismos e, para seu controle, a escovação diária desorganiza a placa bacteriana e impede a sua maturação microbiológica, limitando assim a atuação do biofilme sobre o esmalte dentário (ZÃO et al., 2011).

Em contrapartida, se a forma de armazenagem da escova for inadequada, pode haver uma contaminação por bactérias e fungos do ambiente para a escova. Por exemplo, escovas mantidas em banheiros, sem acondicionamento em armários ou capas protetoras, poderão

¹ Graduando do Curso de Ciências Biológicas das Faculdades Integradas de Santa Fé do Sul – SP, FUNEC, denneresperanca@hotmail.com

² Docente das Faculdades Integradas de Santa Fé do Sul – SP, FUNEC, ae_moreira@yahoo.com.br

apresentar contaminação por coliformes fecais e *Pseudomonas* (ANKOLA et al., 2009). Existem microrganismos que são capazes de sobreviver por aproximadamente vinte e quatro horas entre as cerdas das escovas dentais, sendo inevitável a transmissão desses na próxima escovação. Tais objetos se tornam, nesses casos, um reservatório para inoculação e reinoculação de microrganismos, aumentando a microbiota oral ao invés de apresentar ação protetora (NELSON et al., 2006).

Os microrganismos alojados em uma escova dental podem originar infecções comuns e de simples tratamento, como herpes ou faringite, ou complicações sérias e potencialmente fatais como endocardite infecciosa ou, em associação com microrganismos oportunistas, problemas gastrointestinais e renais (CHIBINSKI et al., 2011).

Para controlar a transmissão, as escovas devem ser trocadas regularmente e a sua higienização deve estar inserida no contexto da prevenção em saúde bucal (ARAÚJO et al., 2009). Recomenda-se que, após o uso, as escovas sejam lavadas, secas e mantidas em ambientes ventilados. No entanto, após esse procedimento, observa-se que certos grupos de microrganismos ainda permanecem viáveis, como por exemplo, *Streptococcus mutans* (viável por até oito horas) e *Staphylococcus epidermidis* (viável por até oito dias) (SARAVIA, et al., 2008).

Em escolas ou creches, existe ainda outro agravante que é difícil o contato salivar entre as crianças decorrente da troca e/ou compartilhamento de escovas (BALAPPANAVAR et al., 2009).

Em decorrência disso, diversos trabalhos estão sendo desenvolvidos visando avaliar o nível de contaminação microbiana das escovas dentais, bem como propor métodos de desinfecção (CHIBINSKI, et al., 2011; TEITELBAUM et al., 2008; KOMIYAMA, 2007; CHAVES et al., 2007).

Neste contexto, esse trabalho objetivou avaliar a contaminação microbiológica por bactérias e fungos em escovas dentais utilizadas por crianças que frequentavam uma escola municipal de educação infantil em Santa Fé do Sul/SP e estabelecer um protocolo de descontaminação eficiente e de fácil aplicação.

2 MATERIAL E MÉTODOS

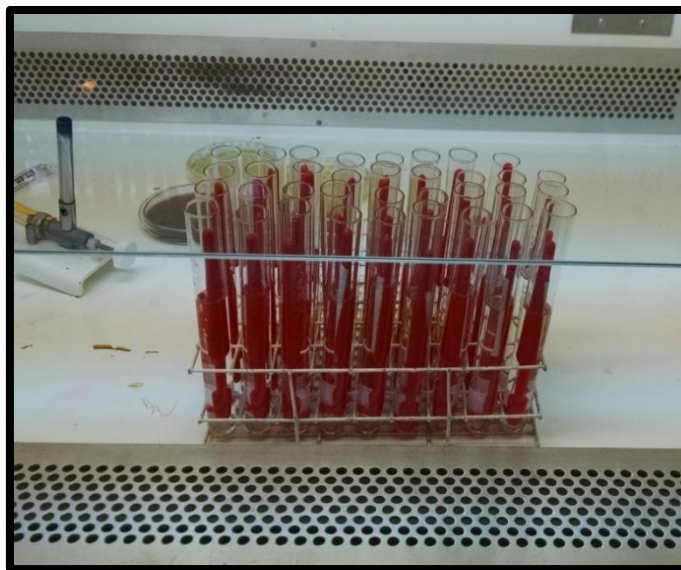
Inicialmente o projeto foi submetido ao comitê de ética em pesquisa com seres humanos (CEP) das Faculdades Integradas de Santa Fé do Sul, obtendo aprovação para o início das análises (CAAE: 36794114.2.0000.5428, folha de aprovação em anexo).

2.1 Amostra

Compuseram a amostra 55 escovas dentais infantis novas, de cerdas macias e cabeça arredondada, doadas pelas Clínicas de Odontologia das Faculdades Integradas de Santa Fé do Sul - SP. As escovas foram distribuídas a crianças, entre 4 e 5 anos, matriculadas em uma Escola Municipal de Educação Infantil de Santa Fé do Sul, em período integral, para serem utilizadas durante 30 dias. O padrão normal de escovação e armazenamento utilizado pelas cuidadoras ou crianças não foi modificado durante o período.

Ao término dos 30 dias, as 35 escovas foram recolhidas e imediatamente imersas em tubos de ensaio, contendo solução salina (NaCl 1%), previamente esterilizados (Figura 1), mantidos a 4°C por uma hora. Após esse período, um ml da solução foi inoculado em meio de cultura em aparelho de fluxo laminar como descrito abaixo. As outras 20 escovas foram submetidas ao método de descontaminação e, após duas horas, inseridas em solução salina também por uma hora, para posterior avaliação quanto à presença de microrganismos.

Figura 1 - Escovas dentais em solução salina de NaCl1% acondicionadas em fluxo laminar.



Fonte: Dos próprios autores

2.1 Análise de Contaminação Microbiana

Um ml de cada solução salina na qual foram imersas as escovas infantis foi inoculado em meio de cultura ágar BHI (Brain Heart Infusion Agar- Liofilchem) estéril. Um ml das soluções que continham as escovas descontaminadas também foi inoculado em ágar BHI, seguindo-se o mesmo procedimento. A inoculação foi realizada em Aparelho de Fluxo Laminar para impedir contaminação externa.

Após inoculação, as placas foram incubadas a 37°C em estufa bacteriológica, por um período de 48 horas para crescimento microbiano. Em seguida, as unidades formadoras de colônias (UFC) foram quantificadas utilizando-se aparelho contador de colônias (figura 2) e, posteriormente, foi efetuada a Coloração de Gram (bactérias) ou azul de metileno (fungos), seguida de observação em microscópio óptico em objetiva de imersão (aumento de 1000X) para identificação das espécies bacterianas ou fúngicas contaminantes das escovas.

Figura 2 - Contagem das Unidades Formadoras de Colônias (UFC) em placas contendo meio de cultura inoculado.



Fonte: Dos próprios autores

2.1 Desinfecção das escovas dentais

Para a desinfecção, as 20 escovas dentais restantes foram borrifadas em *spray* com solução de hipoclorito de sódio a 1% (10 escovas), segundo metodologia proposta por Nelson et al. (2006), e 2%. (10 escovas). Cada escova recebeu seis borrifadas de solução de forma a atingir todas as cerdas (lado direito, lado esquerdo, porção superior, porção inferior e parte de trás da cabeça da escova). O excesso de solução foi removido agitando-se as escovas. Estas foram então armazenadas à temperatura ambiente por uma hora e, em seguida, inseridas na solução salina por duas horas, sendo posteriormente analisadas quanto à contaminação microbiana pelo mesmo método descrito acima.

2.2 Análise dos Resultados

A contaminação bacteriana foi estimada pela contagem das unidades formadoras de colônias em meio de cultura. Os dados da contaminação em cada placa foram anotados e a porcentagem de placas contaminadas foi estimada por intervalo ou escores de contaminação: 0-10 UFC, 11 a 50 UFC e mais de 100 UFC conforme metodologia descrita no trabalho de Chibinski et al. (2010), sendo os dados tabulados.

3 RESULTADO E DISCUSSÃO

A escovação dental é o método mais eficaz e popular para o controle do biofilme, evitando e prevenindo doenças bucais. Em contrapartida, existem microrganismos que são capazes de sobreviver entre as cerdas das escovas dentais e tais objetos se tornam um reservatório de microrganismos. Estudos indicam que a forma de acondicionamento das escovas e estado de suas cerdas tem relação direta com a formação da placa bacteriana (DIAS et al., 2010; SILVEIRA, et al., 2002), podendo aumentar a disseminação e a incidência de cáries, ao invés de proporcionar proteção. Em ambientes escolares, o compartilhamento de escovas e secreções agrava ainda mais o problema, aumentando a contaminação cruzada (LONG et al., 2000; SATO et al., 2004).

Observou-se contaminação em 31 das 35 placas inoculadas com amostras das escovas dentais das crianças, ou seja, contaminação em aproximadamente 89% das escovas analisadas. A contagem das colônias mostrou presença de 01 a 10 UFC em 60% das amostras, 11 a 50 UFC em 11,4% das amostras, de 51 a 100 UFC em 5,7% das amostras e mais de 100 UFC em 11,4% amostras (Tabela 1). Apenas 4 placas foram isentas de contaminação, representando 11,4% das amostras (Figura 3).

Tabela 1 - Escores ou intervalos de Unidades Formadoras de Colônias obtidas por placas inoculadas com amostras das escovas dentais de crianças de uma creche Municipal.

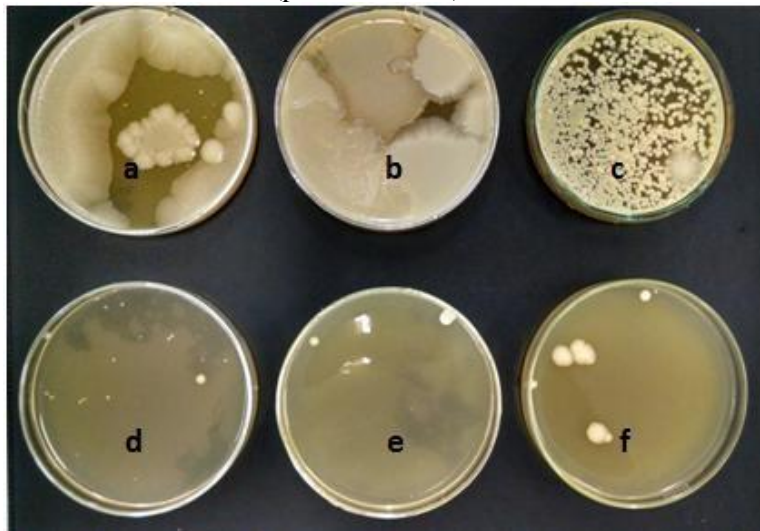
| Número de UFC | Quantidade de placas | Porcentagem |
|---------------|----------------------|-------------|
| 0 | 04 | 11,4 % |
| 01-10 | 21 | 60 % |
| 11 – 50 | 04 | 11,4 % |
| 51-100 | 02 | 5,7% |
| Mais de 100 | 04 | 11,4% |
| Total | 35 | 100% |

Fonte: Dos próprios autores

Esses resultados corroboram o preconizado por outros trabalhos de que a escova dental é reservatório de microrganismos e fonte de contaminação quando não se aplica um método de armazenagem e descontaminação eficaz (GUSMÃO et al., 2005; MOREIRA; CAVALCANTI, 2008). Mesmo nas placas com até 10 UFC, a coloração de Gram revelou a presença de microrganismos patogênicos importantes para a saúde bucal, como descrito adiante.

O armazenamento das escovas dentais na escola era feito de forma coletiva, na qual todas as escovas eram colocadas em um mesmo recipiente com tampa, sobre uma toalha de algodão. Fica óbvio que esse método de armazenagem facilita a contaminação cruzada, além de favorecer a umidade, propiciando multiplicação da microbiota nas cerdas da escova. No entanto, a presença de escovas dentais isentas de contaminação (11,4%) pode demonstrar que os hábitos das crianças podem ser um fator importante na contaminação e não apenas o armazenamento. Entre esses hábitos, podemos citar o compartilhamento de escovas, o modo de escovação e de enxágue da escova dental, o consumo de sacarose, entre outros, podendo haver mais fatores envolvidos na retenção de microrganismos pela escova.

Figura 3 - Análise das placas inoculadas com mostras de escovas dentais de crianças. Observe a presença de alta contaminação por fungos e bactérias (Placas A e B), presença de mais de 100 UFC (placa C) e presença de até 1 a 10 UFC (placas D, E e F).

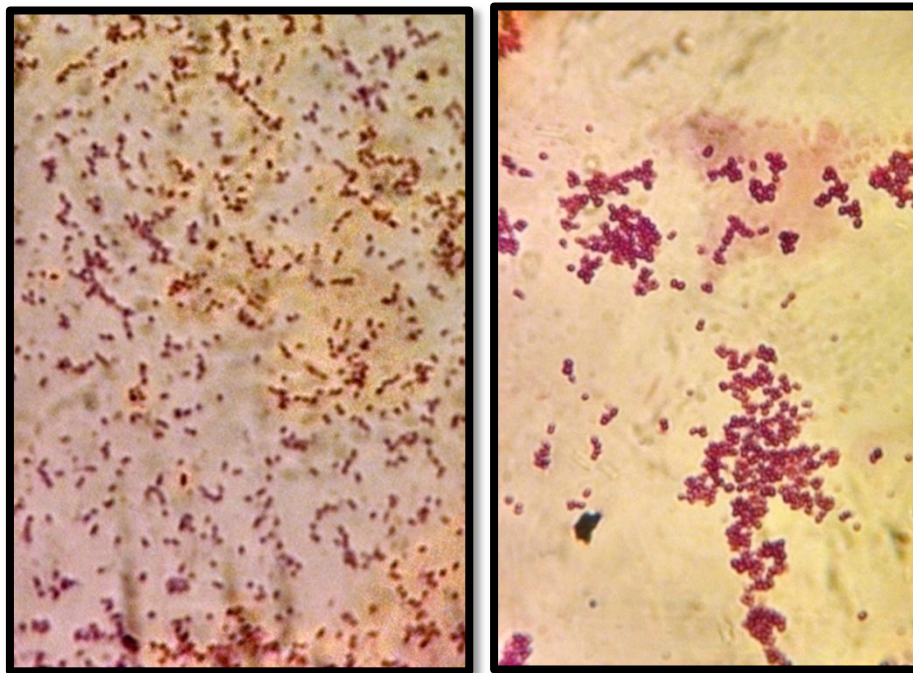


Fonte: Dos próprios autores

Algumas colônias foram selecionadas aleatoriamente e identificadas com coloração de Gram. Observaram-se cocos gram-positivos semelhantes a estreptococos orais, além de bacilos gram-negativos (figura 4 e 5). No grupo dos estreptococos que colonizam a cavidade oral e a superfícies dos dentes, encontram-se espécies como *Streptococcus mutans* e

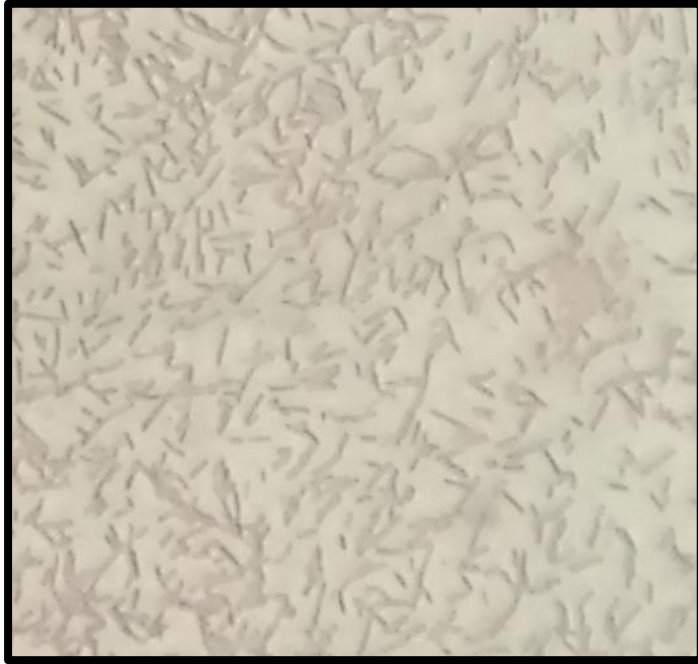
S. orallis, frequentemente associados à cárie. Na forma de bacilos, estão as bactérias causadoras de doenças periodontais e endodônticas, como *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia* e *Porphyromonas gingivalis* (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 1994), cuja colonização em período precoce pode ser fator de risco a periodontites agressivas. Dessa forma, as bactérias presentes nas escovas dentais podem estar entre as espécies citadas acima e representar um risco à saúde bucal da criança.

Figura 4 - Coloração de Gram evidenciando a presença de Cocos Gram positivos semelhantes aos estreptococos orais.



Fonte: Dos próprios autores

Figura 5 - Coloração de Gram evidenciando a presença de bacilos Gram negativos.



Fonte: Dos próprios autores

Em relação às colônias de fungos, observou-se contaminação por *Candida albicans* em oito amostras (aproximadamente 23%). Foi possível a identificação desse fungo, pois formam colônias dimórficas em meio cultura, com formação de pequenas hifas associadas ao formato leveduriforme. A *Candida albicans* habita a mucosa oral como levedura saprófita, constituindo a microbiota normal (TOMMASI, 1997). Porém, essas leveduras podem aumentar em número em situações de maior contaminação ou queda imunológica, podendo ocasionar lesões na mucosa.

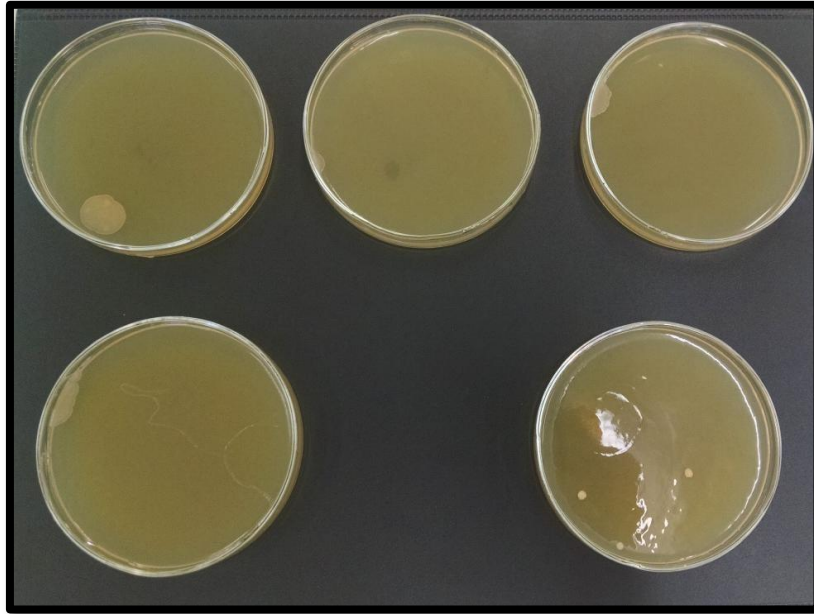
Com base nesses resultados, ficou clara a necessidade de aplicação de um método de descontaminação que fosse facilmente executado no ambiente escolar de forma rotineira, com um descontaminante de fácil aquisição e baixo custo.

Alguns estudos comprovam a eficácia da descontaminação com soluções microbianas aplicadas em escovas dentais. Entre essas soluções, está a de hipoclorito de sódio, com metodologia de borrifamento proposta por Nelson et al. (2006).

Foi aplicada essa metodologia nas escovas dentais com duas concentrações de hipoclorito de sódio: 1% e 2% (Figura 5 e 6). A solução de 2% foi utilizada para verificar se a maior concentração do agente descontaminante apresentaria melhores resultados. No entanto, a concentração de 1% de hipoclorito foi a que apresentou melhores resultados, com redução ou eliminação completa das UFC.

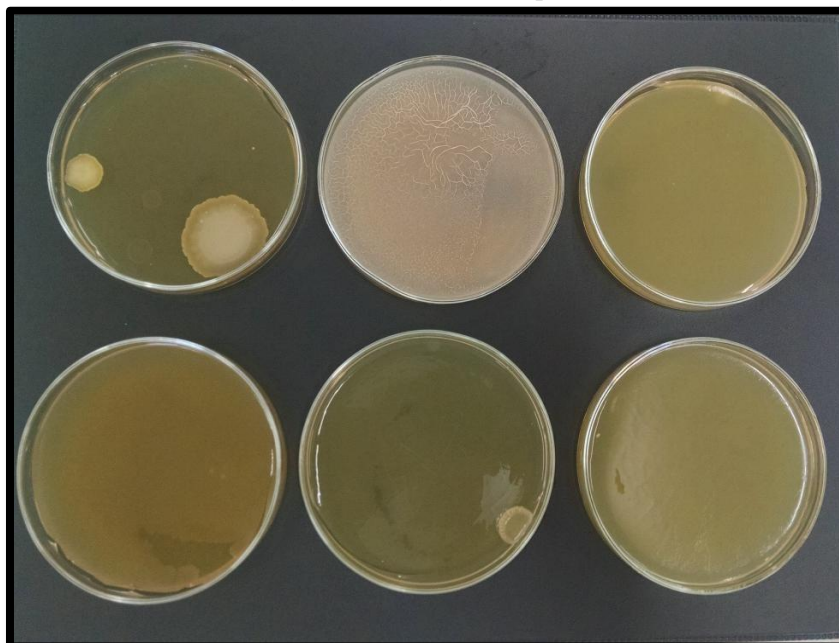
Das 10 escovas que foram submetidas à descontaminação com 1% de hipoclorito, 5 placas não apresentaram crescimento bacteriano, 4 placas apresentaram presença de apenas 1 UFC e 1 placa apresentou 3 UFC. Houve eliminação completa das colônias de fungos (Tabela 2).

Figura 5 - Placas inoculadas com amostras das escovas dentais após descontaminação com 1% de hipoclorito de sódio. Notar a redução ou eliminação total nas UFCs.



Fonte: Dos próprios autores

Figura 6 - Placas inoculadas com amostras das escovas dentais após descontaminação com solução de hipoclorito de sódio a 2%.



Fonte: Dos próprios autores

Tabela 2 - Unidades Formadoras de Colônias obtidas por placas inoculadas com amostras das escovas dentais submetidas a descontaminação com 1% de hipoclorito de sódio.

| Número de UFC | Quantidade de placas | Porcentagem |
|----------------------|-----------------------------|--------------------|
| 0 | 5 | 50% |
| 01 | 4 | 40% |
| 03 | 1 | 10% |
| Total | 10 | 100% |

Fonte: Dos próprios autores

Dessa forma, não houve eliminação total das colônias em 50% das amostras, mas o método de descontaminação apresentou-se eficaz na redução das UFC e, portanto, na redução da contaminação e poderá ser empregado na escola rotineiramente.

A opção de borrifar agentes descontaminantes apresenta várias vantagens em relação ao método de imersão: a aplicação é rápida e fácil, utiliza-se uma quantidade reduzida do agente descontaminante e a solução estará sempre limpa, evitando-se a troca contínua (BALAPPANAVAR et al., 2009; NEAL, RIPPIN, 2003). Além disso, dados da literatura mostram que a opção de borrifar é tão eficaz quanto a imersão para o processo de descontaminação (AYSEGUL et al., 2007).

Um ponto ainda precisa ser discutido é que a contaminação expressiva de microrganismos presentes na amostra anterior à desinfecção indica problemas na higiene oral dessas crianças e na armazenagem das escovas dentais. Para correção desses problemas, foram realizadas intervenções na escola pelos pesquisadores com os professores da educação infantil, realizando palestras e atividades lúdicas com o objetivo de melhorar o método de escovação, além de indicar formas melhores de armazenagem.

Foi feito o aconselhamento para armazenagem individual, em tecido com compartimentos verticais para as escovas, de forma que as cerdas ficassem para fora. Como as cerdas precisam de proteção, esse suporte tem uma parte superior que encobre as cerdas, protegendo-as dos microrganismos.

4 CONCLUSÃO

Houve contaminação por bactérias e/ou fungos em 89% das escovas utilizadas pelas crianças da escola de educação infantil, sendo que em 17% foram observadas mais de 50 unidades formadoras de colônias, evidenciando contaminação maciça. Isso tornou necessária a aplicação de métodos de descontaminação das escovas e alteração na forma de armazenagem destas.

O método de descontaminação por borrifamento com solução de hipoclorito de sódio a 1% mostrou-se eficaz na eliminação total das colônias e fungos e na maioria das espécies de bactérias, podendo ser aplicado rotineiramente na escola.

MICROBIOLOGICAL ANALYSIS AND DECONTAMINATION OF TOOTHBRUSHES USED BY CHILDREN AT SCHOOL IN SANTA FÉ DO SUL

ABSTRACT

Brushing is the most effective and popular method for the control of the dental biofilm, which aims to avoid and prevent cavities and periodontal diseases. In contrast, there are microorganisms that are able to survive among the bristles of the toothbrush. In schools, there is another aggravating factor which is the contact with the saliva, arising from sharing the toothbrush. The purpose for this project was to rate the microbiological contamination on toothbrushes used by the children at the municipal daycare in Santa Fé do Sul/SP and establish a convention of efficient decontamination and easy implementation. Fifty five toothbrush samples were distributed to the children at the municipal school which were used in a period of 30 days. Thirty five of them were collected and immersed in test tubes which contained salt solution and NaCl 1% and 20. The other 20 of them were referred to a decontamination method by spraying it with sodium hypochlorite solution at 1% and 2%. One ml of each solution was inoculated at half agar BHI, hatched at a temperature of 37°C in a period of 48 hours. It was observed contamination in approximately 89% of the toothbrushes with the presence of *diplococcus gram-positive* similar to the oral streptococcus, also bacillus gram-negatives, whose early coloration is a risk factor to aggressive periodontitis. The fungus *Candida albicans* was presented in 23% of the samples. The decontamination by spraying showed better results in the concentration of 1% of hypochlorite. It was not possible to eliminate totally all of the microorganisms, however the significant reduction and the ease of decontamination method justifies the use of methodology in the school of early childhood education.

Keywords: Toothbrush. Microbiological analysis. Decontamination. Municipal School.

REFERÊNCIAS

ANKOLA, A. V. et al. How clean is the toothbrush that cleans your tooth? **Int. J. Dent. Hyg.**, v.7, n.4, p.237-40, 2009.

ARAÚJO, M. S. et al. Descontaminação de escovas dentais: desenvolvimento e padronização de método para uso doméstico. **Jornal brasileiro de clínica odontológica integrada e saúde bucal coletiva**. v.10, n.32, p.71-9, 2009.

AYSEGUL, O. et al. The efficacy of chlorhexidine spray vs mouthwash in the microbial contamination of child toothbrushes. **J. Dent. Child.**, v.74, n.3, p.177-81, 2007.

BALAPPANAVAR, A.Y. et al. Antimicrobial efficacy of various disinfecting solutions in reducing the contamination of the toothbrush – a comparative study. **Oral health prev. dent.**, v.7, n.2, p.621-5, 2009.

DIAS, J. A. et al, Assessment of plaque index and its relationship with physical fitness and conditioning of toothbrushes. **Odontol. Clín.-Cient. (Online)**, v.9, n.3, 2010.

CHAVES, R. A. C. et al. Avaliação de soluções antibacterianas na descontaminação das escovas dentais de pré-escolares. **Revista de Odontologia da UNESP**, v.36, n.1, p.29-33, 2007.

CHIBINSKI, A. C. R. et al. Descontaminação de escovas dentais utilizadas por crianças de necessidades especiais: análise microbiológica. **Revista Sul-brasileira de odontologia**, v.8, n.2, p.145-52, 2011.

GUSMÃO, E. S. et al. Contaminação de escovas dentárias novas, sem uso. **Revista Internacional de Periodontia Clínica**. v.2, n.6, p.100-6, 2005.

KOMIYAMA, E. Y. **Avaliação de diferentes agentes químicos na desinfecção de escovas dentais**. Disponível em: <http://www.colgateprofissional.com.br/LeadershipBR/NewsArticles/NewsMedia/1PremioColgateProfissional_3.pdf>. Acesso em 08 ago. 2016.

Long, S. R. et al. Avaliação da contaminação de escovas dentais por enterobactérias. **Rev Odontol Univ Santo Amaro**. v. 5, n.1, p.21-5, 2000.

MOREIRA, A. C. S; CAVALCANTI, G. M. Influência da higienização na contaminação de escovas dentais. **Arquivo de Ciência da Saúde de Unipar**, Umuarama, v.12, n.1, p. 99-103, 2008.

NEAL, P. R; RIPPIN, J. W. The efficacy of toothbrush disinfectant spray – an in vitro study. **J. Dent**. v. 21, n.2, p.153-7, 2003.

NELSON, P. F. et al. Evaluation of the contamination and disinfection methods of toothbrushes used by 24 – to 48 month old children. **J. Dent. Child.**, v.73, n.3, p.152-8, 2006.

SARAVIA, M. E. et al. Viability streptococcus mutans tooth brush bristles. **J. Dent. Child.**, v.75, n.1, p.29-32, 2008.

SATO, S. et al. Bacterial survival rate on toothbrushes and their decontamination with antimicrobial solutions. **J. Appl. Oral. Sci.**, v.12, n.2, p.99-103, 2004.

SILVEIRA, C. S. et al. Avaliação da eficiência do porta-escovas na prevenção da contaminação de escovas dentais por coliformes fecais e parasitas intestinais. **Rev CROMG**. v.8, n.1, p.65-8, 2002.

TEITELBAUM, A. P. et al. Contaminação de escovas dentais usadas em crianças com autismo. **Revista do Instituto de Ciência da Saúde**, v.26, n.1, p.111-4, 2008.

TOMMASI, A. F. **Diagnóstico em patologia bucal**. Curitiba: Pancast, 1997.

ZÃO, E. J. R. et al. Desinfecção e armazenamento de escovas dentais: Avaliação da prática realizada por acadêmicos do curso de odontologia da universidade Severino Sombra – Vassouras/Rj. **Revista Pró-univerSUS**, Vassouras, v.2, n.1, p.53-64, 2011.

SOCRANSKY, S. S.; HAFFAJEE, A. D. Evidence of bacterial etiology: a historical perspective. **Periodontol.** **2000.** v. 5, p. 7-25, 1994.

Recebido em 02 de dezembro de 2015.

Aceito em 16 de maio de 2016.