

ANÁLISE MICROBIOLÓGICA EM ESCOVAS DENTAIS NOVAS, SEM USO: AVALIAÇÃO DE CINCO MODELOS DO MERCADO NACIONAL

Data de aceite: 01/03/2024

Luciane Manenti

Faculdade São Leopoldo Mandic, Curso de Odontologia, Programa de Pós-Graduação em Periodontia Campinas, SP, Brasil

Sílvio Antônio dos Santos-Pereira

Grupo de Pesquisa em Medicina Periodontal, Departamento de Periodontologia, Centro de pesquisas Odontológicas São Leopoldo Mandic, Campinas, São Paulo, Brasil

Eduardo Saba-Chujfi

Grupo de Pesquisa em Medicina Periodontal, Departamento de Periodontologia, Centro de pesquisas Odontológicas São Leopoldo Mandic, Campinas, São Paulo, Brasil

quatro Estados brasileiros: Amapá, Rio de Janeiro, São Paulo e Santa Catarina. Foi utilizada uma amostragem de 60 escovas dentais. Levando em conta todas as marcas e modelos analisados, observou-se que 68,5% apresentaram turvação em meio de cultura tipo caldo BHI. Nas culturas em placas foram observados crescimentos de colônias de bactérias Gram-positivas (Ágar BHI), Gram-negativas (Ágar *McConkey*) e de fungos do gênero *Candida* (Ágar *Sabouraud*). Portanto, o presente estudo concluiu que, os cinco modelos de escovas analisadas neste estudo, apresentaram escovas contaminadas por microrganismos o que significa um risco em potencial de disseminação destes para o consumidor que fizer uso dos produtos analisados no presente estudo.

PALAVRAS-CHAVE: Escovas Dentais. Microrganismos. Contaminação.

RESUMO: O objetivo deste estudo foi avaliar, através de análise microbiológica *in vitro*, por meio da técnica de cultura do tipo caldo BHI e por meio da cultura em placas utilizando meio Ágar BHI, *Sabouraud* e *McConkey*, a contaminação das escovas dentais de cinco modelos disponíveis no mercado nacional, expostas à venda em suas embalagens originais e adquiridas em vários estabelecimentos comerciais de

INTRODUÇÃO

As escovas dentais são importantes instrumentos de higiene bucal que podem estar relacionadas a transmissão de patogenias entre os seres humanos por meio de infecções cruzadas^{2,9}. Estudos como os desenvolvidos por Sato et al.¹⁷, comprovam que nas escovas dentais podem ser encontrados, com frequência, microrganismos dos gêneros *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Corynebacterium* e *Pseudomonas*; além de coliformes fecais. Outros trabalhos apontam que as escovas dentais podem ser responsáveis pela transmissão de doenças infecciosas como sífilis, difteria, tuberculose e hepatite²¹.

A contaminação das escovas dentais pode ocorrer por diferentes fontes; diversas pesquisas relacionadas a contaminação das cerdas das escovas dentais após o seu uso e pelo armazenamento inadequado, vem sendo descritas na literatura^{13,8,11,5,16,10}. Em contrapartida, poucos estudos estão sendo realizados no que diz respeito a contaminação de escovas dentais novas, sem uso^{6,20,7,15}; no Brasil, Pereira et al.¹⁵ e Gusmão et al.⁷ veem realizando pesquisas entorno do assunto.

A contaminação de escovas dentais novas sem uso pode ocorrer no processo de fabricação e/ ou embalagem^{6,15,3}. Segundo Chaves et al.³, durante esse processo também pode ocorrer contaminação por microrganismos devido ao fato da não obrigatoriedade de esterilização das escovas, bem como de suas embalagens. Glass & Lare⁶, defenderam que normalmente, os fabricantes em suas propagandas e nas mais variadas especificações escritas nas embalagens, não mencionam nenhum tipo de esterilização, descontaminação ou desinfecção.

Escovas dentais contaminadas por microrganismos podem servir como fômites para transmissão de doenças infecciosas, principalmente em crianças e pacientes imunossuprimidos, devido à baixa imunidade¹⁸.

Diante da escassez de dados em relação ao estudo de contaminação de escovas dentais novas, o objetivo deste estudo foi avaliar a presença de contaminação por microrganismos em escovas dentárias novas, sem uso, através de uma análise microbiológica do produto, em condições assépticas, recém-tiradas de sua embalagem industrial-comercial.

METODOLOGIA

Amostragem

As análises microbiológicas foram realizadas com 60 escovas dentárias distribuídas entre cinco modelos de cinco marcas diferentes sendo três modelos nacionais: Ultra Clean® macia suave (modelo A)¹; Classic Clean® macia suave (modelo B)² e Classic® macia

1 Johnson & Johnson do Brasil. Indústria e Comércio de Produtos para Saúde LTDA.

2 Colgate & Palmolive Brasil LTDA.

(modelo C)³; um modelo importado: Curaprox Ultra Soft 5460[®] macia (modelo D)⁴ e um modelo próprio do estabelecimento da companhia brasileira de distribuição Extra[®] (modelo E)⁵, adquiridas nas redes de supermercados e farmácias de quatro Estados brasileiros: Amapá, Rio de Janeiro, São Paulo e Santa Catarina, com exceção do modelo E que foi encontrado no supermercado de mesmo nome e do modelo D que no período de aquisição não era vendido no estado do Amapá. Para título de equidade na análise microbiológica, para cada modelo analisado, foram compradas 12 escovas dentárias com tipo de cerdas macias e todas as características citadas acima.

Avaliação microbiológica

A manipulação das escovas dentárias para análise microbiológica foi realizada em câmara de fluxo laminar (Filtracom Sistemas e Componentes para Filtração LTDA, Valinhos, SP). Após a remoção da embalagem comercial com tesoura esterilizada e flambada em bico de Bunsen, cada escova dentária foi introduzida com pinça estéril em um tubo de ensaio previamente esterilizado e hermeticamente fechado, com rosca contendo 10 ml de caldo BHI (*Brain Heart Infusion Broth* / HiMedia Laboratories Pvt. Ltd, **Índia**) permanecendo submerso apenas a parte ativa da escova dental. Um tubo contendo apenas caldo BHI foi utilizado como grupo controle.

Todos os tubos de ensaio foram indicados com etiquetas por letras e números, identificando a marca e a procedência, como possibilidade de manter a idoneidade da pesquisa e sua veracidade.

Todos os tubos foram acondicionados em uma estante própria, levados a estufa bacteriológica modelo ECB-1.2 (Odontobrás Comércio de Equipamentos Médico-Odontológicos LTDA, Ribeirão Preto/SP) e mantidos em posição vertical, por até 72 horas, a uma temperatura de 37°C para verificação de crescimento bacteriano nos tubos com caldo BHI. Os tubos foram monitorados a cada 24 horas, para verificação de indícios de crescimento bacteriano, que se caracteriza macroscopicamente pelo turvamento do caldo.

Foram coletadas de cada amostra com suspeita de contaminação, alíquotas de 10 µl de caldo com turvamento contido no tubo. As alíquotas de caldo foram plaqueadas em Ágar BHI (Acumedia, Michigan, USA) para certificação do crescimento microbiano.

Para identificar e selecionar os tipos de microrganismos crescidos no caldo BHI foram plaqueadas alíquotas de 10 µl em Ágar *Sabouraud* (SAB / Acumedia, Michigan, USA) e Ágar *McConkey* (McC / Acumedia, Michigan, USA), sendo estes, os dois meios seletivos diferenciais para crescimento de fungos do gênero *Candida* e bactérias Gram-negativas respectivamente e incubação a 37°C por 24 horas em condições de aerobiose.

3 Procter & Gamble do Brasil LTDA.

4 Curaprox Brasil LTDA.

5 Dental Prev Indústria e Comércio LTDA.

A metodologia empregada para o manuseio do material seguiu os padrões microbiológicos e de biossegurança para que nenhum fator externo pudesse interferir nos resultados da pesquisa, e assim mantivesse dados fidedignos.

As observações e fotomicrografias de lâminas coradas pelo método de Gram foram realizadas em microscópios de luz *Zeiss Axiophot* usando objetivas *Plan Neuflo* de 20 e 40X com abertura numérica de 1,4 (Oberköchen, Alemanha) equipados com câmara *Plan Achromatic*, 1,4 NA, onde foram identificados os microrganismos presentes.

Análise estatística

Os dados relativos ao turvamento dos meios de cultura foram submetidos a testes Q de Cochran, aplicados para avaliar se houve aumento do número de meios turvos ao longo do tempo de incubação, para cada escova dental analisada. Testes G foram empregados para verificar se havia diferença significativa entre as escovas dentais, em cada tempo de incubação. O nível de significância adotado foi de 5%, tendo sido os cálculos estatísticos conduzidos no programa BioEstat 5.0 (Fundação Mamirauá, PA, Brasil).

RESULTADOS

A avaliação da contaminação de escovas dentais novas, antes do primeiro uso, através da análise microbiológica, apresentou-se positiva, seja pela turvação do meio de cultura do tipo Caldo BHI de todos os cinco modelos (A, B, C, D e E) até o período de 72 após incubação (Tabela 1), seja pelo crescimento de microrganismos nas placas com meios de cultura específicos para fungos do gênero *Candida* (Ágar SAB) e específico para o crescimento de bactérias Gram-negativas (Ágar McC). O grupo controle não apresentou turvação.

Das 60 escovas dentais analisadas no presente estudo 68,5% (41 escovas) apresentaram-se positivas para turvação em meio de cultura BHI. Todos os cinco modelos utilizados no estudo apresentaram turvação do meio de cultura em tempos de incubação diferenciados (Tabela 1).

Na avaliação de 24 horas foram observadas as seguintes porcentagens de meios de cultura turvados por modelo: para as escovas Modelo E, 92% (11:12) apresentaram turvação positiva; as escovas Modelo D apresentaram turvação positiva de 8% (1:12); para escovas Modelo B foi observada turvação positiva de 17% (2:12) das amostras; o Modelo C apresentou turvação positiva de 58% das amostras (7:12); e para Modelo A, 33% (4:12) de turvação positiva foi observada nas amostras.

Na avaliação de 48 horas, as escovas do Modelo E apresentaram 100% (12:12) de turvação positiva; para as escovas Modelo D foi observado um aumento de 17% (02) de meios de cultura turvos, totalizando 25% (3:12) de turvação positiva. Para as escovas do

Modelo B houve um aumento de 8% (01) na quantidade de meios turvos, totalizando 25% de turvação positiva observadas nas amostras. As escovas do Modelo C apresentaram um aumento de 25% (03) de meios turvos, totalizando 83% (10:12) de turbidez positiva; e quanto as do Modelo A, houve um aumento 42% (04), num total de 75% de meios turvos.

No período de 72 horas, tempo final de incubação das amostras, as escovas dos Modelos D e B alcançaram uma percentagem final de meios com turvação positiva de 33% (4:12). Para as escovas Modelo C, a percentagem final de meios com turvação positiva foi de 92% (11:12) e para as escovas do modelo A um total de 83% (10:12) meios de cultura com turvação positiva foram observados.

Os resultados estatísticos demonstraram que para todas as escovas dentais, o teste G indicou que não houve efeito significativo do tempo de incubação no número de meios de cultura que se tornaram turvos (Tabela 1).

Os testes Q de Cochran (Tabela 1) indicaram que, em relação aos cinco modelos de diferentes marcas testadas, as escovas do Modelo E foi a que revelou o maior índice de contaminação em todos os tempos de incubação, exceto na avaliação de 72 horas, pois neste tempo a taxa de contaminação do Modelo C, que apresentou o segundo maior índice de contaminação, não diferiu significativamente daquela observada para o Modelo A. As escovas do Modelo D, na avaliação de 24 horas apresentaram o menor índice de contaminação em relação aos demais modelos. No entanto, nos demais períodos (48 e 72 horas), o teste Q indicou que foram semelhantes quanto ao índice de contaminação do Modelo B. Apesar de no tempo de 24 horas, as escovas do Modelo A terem revelado contaminação significativamente menor que as do Modelo C, nos demais tempos, entre ambas não houve diferença significativa na taxa de amostras contaminadas, como revelaram os testes Q (Tabela 1).

Nos três meios de cultura utilizados em placas para crescimento microbiano, houve crescimento de colônias em todos os meios. O exame microscópico dos meios de cultura contaminados, através da técnica de esfregaço em lâmina e da coloração de Gram permitiu identificar crescimento tanto de fungos com características do gênero *Candida* em meio SAB quanto de microrganismos característicos de bactérias Gram-positivas crescidas em meio BHI em todos os modelos de analisados. Nas escovas do Modelo E, foi observado também crescimento de bactérias Gram-negativas em meio McC.

DISCUSSÃO

A contaminação de escovas dentais por diferentes microrganismos é um fato relatado em vários estudos^{20,1,14}. As escovas dentais contaminadas podem servir como fonte e/ou veículo para transmissão ou reintrodução de microrganismos na cavidade bucal¹⁸. No entanto, pesquisas voltadas para contaminação de escovas dentais novas, sem uso, são pouco exploradas na literatura^{6,20,7,15}.

No presente estudo observou-se *in vitro*, a presença de microrganismos em escovas dentárias novas, recém removidas de sua embalagem industrial-comercial, com um total controle direto na assepsia, simulando a primeira utilização da peça pelo consumidor.

A análise microbiológica das escovas foi realizada em condições de aerobiose, nos períodos de 24, 48 e 72 horas. Depois de inoculadas, das 60 escovas 41 (68,5%) promoveram contaminação no meio de cultura, tornando-o turvo em várias intensidades. Estes resultados corroboram com Glass e Lare⁶, Gusmão et al.⁷ e Pereira et al.¹⁵, quando comprovaram que escovas do mesmo modelo de diferentes marcas, apresentaram-se contaminadas e não contaminadas. O número de escovas dentais novas contaminadas observadas neste estudo apresentaram superiores aos descritos por Glass e Lare⁶, que verificaram em seu estudo que 4 de 10 escovas dentais novas analisadas (40%) apresentaram contaminação por microrganismos. Dados superiores foram relatados por Gusmão et al.⁷, que verificaram que 12 das 20 escovas novas analisadas (60%) promoveram contaminação dos meios de cultura; Pereira et al.¹⁵ observaram que de 42 escovas novas avaliadas 33 (78,6%) estavam contaminadas.

O exame microscópico dos meios de cultura contaminados de todos os modelos de escovas estudados revelou contaminação por bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e fungos do gênero *Candida*. Dados de Gusmão et al.⁷, indicam contaminação por bactérias Gram-positivas em escovas dentárias novas sendo observadas em 12 de 20 escovas. Estudos de Taji; Rogers²⁰, evidenciaram contaminação de *Staphylococcus* em uma de três escovas novas analisadas; e nos achados de Glass e Lare⁶, foi observado contaminação por *Staphylococcus* em quatro das dez escovas dentais novas analisadas.

Segundo Sato et al.¹⁷, o predomínio de microrganismos Gram positivos, Gram negativos e fungos do gênero *Candida*, viáveis nas cerdas das escovas dentais, são potenciais fontes de doenças periodontais para seus usuários.

Estudos de Neal; Rippin¹² mostram que, além de bactérias e fungos, a escova de dente também é um instrumento importante na difusão de todas as doenças virais presentes na boca e disperso pela saliva; isto inclui tosse e resfriados e outras infecções por herpes, hepatite e AIDS.

A presença de três diferentes tipos de microrganismos (bactérias Gram positivas, Gram negativas e *Candida*) observados no presente estudo, confirma a hipótese de que a escova dental mesmo nova, antes do primeiro uso, pode ser uma fonte de contaminação, contribuindo para a disseminação de microrganismos no interior da cavidade bucal de um mesmo indivíduo ou entre indivíduos diferentes.

Esses achados demonstram a necessidade de se utilizar um método de descontaminação mesmo em escovas dentais novas, antes do seu primeiro uso. Para Neal; Rippin¹², a redução da contaminação das escovas de dente é importante no controle de uma ampla gama de doenças orais. Uma solução poderia ser o uso único de escovas, ou, pelo menos, renovando as escovas regularmente, ou ainda a descontaminação por produtos químicos.

De acordo com Devine et al.⁴, existe uma necessidade de métodos de desinfecção que são rapidamente eficazes, tem baixo custo, não são tóxicos e que podem ser facilmente implementados no uso diário da escovação. Diversas pesquisa já reportam o uso das substâncias antibacterianas como método de descontaminação de escovas dentais, como a imersão de escovas em digluconato de clorexidina a 0,12%¹⁴, Cepacol®, Listerine® e Plax®¹⁹, ou em álcool 77%V/V (Sanches et al. 2001) ou ainda, o borrifamento utilizando hipoclorito de sódio a 1%³.

Mediante os dados do presente estudo e as descrições disponíveis na literatura, percebeu-se que há necessidade de maiores cuidados de assepsia na embalagem e manufatura das escovas dentais com objetivo de mantê-las livres de contaminação até o primeiro uso pelo consumidor.

CONCLUSÃO

Foram observados que os cinco modelos de diferentes marcas de escovas dentais novas e sem uso analisadas neste estudo, estavam contaminadas por fungos do gênero *Candida*, bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, o que significa um risco em potencial de disseminação de microrganismos para o consumidor que fizer uso destes produtos.

Escovas dentais	Tempo de incubação			Testes Q de Cochran
	24 horas	48 horas	72 horas	
Modelo E	11	12	12	1,0000
Modelo D	1	3	4	0,7788
Modelo B	2	3	4	0,7788
Modelo C	7	10	11	0,0784
Modelo A	4	9	10	0,2725
Testes G	< 0,0001	< 0,0001	< 0,0001	$\frac{3}{4}$

Tabela 1 - Número cumulativo de meios de cultura turvos segundo a escova dental e o tempo de incubação e resultados dos testes estatísticos.

REFERÊNCIAS

Batista ES, França-Botelho AC. Contaminação parasitológica de escovas dentais. Rev Saúde. 2011; 5 (3): 11-14.

Busato CA, Cavazzola AS, Ortega AOL, Guaré RO, Saleh Neto A. Utilização do hipoclorito de sódio na descontaminação de escovas dentais: estudo in vitro. Rev Odontol UNESP. 2015. doi: <http://dx.doi.org/10.1590/1807-2577.04214>

Chaves RAC, Ribeiro DML, Zaia JE, Alves EG, Souza MGM, Martins CHG. Avaliação da eficácia de soluções antibacterianas na descontaminação de escovas de dentais de pré-escolares. Rev Odontol UNESP 2007; 36(1): 29-33.

Devine DA, Percival RS, Wood DJ, Tuthill TJ, Kite P, Killington RA et al. Inhibition of biofilms associated with dentures and toothbrushes by tetrasodium EDTA. J Appl Microbiol. 2007 Dec; 103(6): 2516-24.

Ferreira GTS, Freixinho ABS, Machado SJ, Miasato JM. Verificação da contaminação e forma de armazenamento de escovas dentais em um grupo de adolescentes de uma escola da rede privada de ensino. *Rev. Odontol. Univ. Cid. São Paulo* 2013; 25(1): 6-10.

Glass RT, Lare MM. Toothbrush contamination: a potential health risk? *Quintessence Int.* 1986;17 (1): 39-42.

Gusmão ES, Santos RL, Albino DV, Lapa ACF, Albuquerque NAS, Silva ID et al. Contaminação de escovas dentárias novas, sem uso. *Rev Int Periodon Clin* 2005; 2(6/7): 100-6.

Lima MV, Watanabe W, Faria G, Nascimento AP, Verri, MP, Ito IY. Biofilme: Avaliação do nível de contaminação de escovas dentais Monobloc em função do dentífrico. *Rev Odonto Ciênt* 2007; 22(57): 269-73.

Lock G, Dirscherl M, Obermeier F, Gelbmann CM, Hellerbrand C, Knöll A et al. Hepatitis C - contamination of toothbrushes: myth or reality? *J Viral Hepat.* 2006 Sept; 13(9): 571-3.

Miranda JV, Prado JC, Brandão RS, Gonçalves Júnior AF, Souza SAO, Miranda LCB. Identificação de micro-organismos encontrados em escovas de dentes dos acadêmicos do curso de Farmácia da Faculdade Montes Belos. *Rev FMB.* 2015; 8 (1): 3-9.

Moreira ACS, Cavalcante GM. Influência da higienização na contaminação de escovas dentais. *Arq Ciênc Saúde Unipar.* 2008 maio/ago; 12 (1): 99-103.

Neal PR, Rippin JW. The efficacy of a toothbrush disinfectant spray - an in vitro study. *J Dent.* 2003 Feb; 31(2):153-7.

Nelson Filho P, Faria G, da Silva RA, Rossi MA, Ito IY. Evaluation of the contamination and disinfection methods of toothbrushes used by 24- to 48-month-old children. *J Dent Child (Chic).* 2006 Sept-Dec; 73(3):152-8.

Nelson Filho P, Macari S, Faria G, Assed S, Ito IY. Microbial contamination of toothbrushes and their decontamination. *Pediatr Dent.* 2000 Sept-Oct; 22(5): 381-4.

Pereira RC. Avaliação microbiológica das cerdas das escovas dentárias. *RGO* 2005; 53(2): 131-3.

Queiroz FS, Nóbrega CBV, Costa LED, Reul MA, Abreu RSA, leite MS. Avaliação do perfil de armazenamento e descontaminação das escovas dentais. *Rev Odontol UNESP.* 2013; 42(2): 89-93

Sato S, Ito IY, Lara EHG, Panzeri H, Albuquerque Junior RF, Pedrazzi V. Bacterial survival rate on toothbrushes and their decontamination with antimicrobial solutions. *J Appl Oral Sci.* 2004; 12(2): 99-103.

Siqueira Júnior HM, Reis JRG, Andrade PF, Diniz CG, Salgado IO. Os microorganismos contaminam as escovas dentais? *HU Ver.* 2011; 37(4): 63-4.

Soares PV, Fonseca L, Brandão CF, Juiz P JL. Avaliação da contaminação de escovas dentais por microrganismos e da efetividade de antissépticos na sua descontaminação. *RBPS.* 2010; 12(3): 5-10.

Taji SS, Rogers AH. ADRF Trebitsch Scholarship. The microbial contamination of toothbrushes: a pilot study. *Aust Dent J.* 1998; 43(2): 128-30.

Warren DP. The effects of toothpastes on the residual microbial contamination of toothbrushes. *J Am Dent Assoc.* 2001; 132(9): 1241-5.