

Avaliação microbiológica da efetividade de uma escova antibacteriana: um estudo *in vivo*

Microbiological evaluation of the effectiveness of an antibacterial toothbrush - in vivo study

Roberta Araujo CAMARGO^a, Sasha Cristina SCHIMIM^a,
Fabiana Bucholdz Teixeira ALVES^b, Ana Cláudia Rodrigues CHIBINSKI^b

^aGraduandas, Curso de Odontologia, UEPG – Universidade Estadual de Ponta Grossa,
84030-900 Ponta Grossa - PR, Brasil

^bDepartamento de Odontologia, UEPG – Universidade Estadual de Ponta Grossa,
84030-900 Ponta Grossa - PR, Brasil

Resumo

Objetivo: Este trabalho consistiu em um estudo *in vivo* para avaliar microbiologicamente a efetividade de uma escova antibacteriana comparada à de uma escova convencional. **Metodologia:** Trinta crianças de dez a 12 anos utilizaram escovas dentais convencionais e antibacterianas por dois períodos experimentais de cinco dias, com duas escovações diárias supervisionadas, sem dentífrico. O desenho do estudo foi cruzado com *wash-out* de nove dias entre as diferentes escovas. Ao término de cada período, as escovas foram imediatamente imersas em solução salina estéril e agitadas; o caldo produzido foi semeado em ágar BHI, nas concentrações de 10^{-2} e 10^{-3} . Após um período de incubação de 24 horas a 37 °C em aerobiose, foi realizada a contagem das unidades formadoras de colônias (UFC/mL) por meio de um software específico. **Resultado:** No grupo de escovas convencionais, a mediana e intervalos interquartis foi de 105 (27-564,5); já para o grupo de escovas antibacterianas, foi de 53 (4,5-333,5). Após análise dos dados, observou-se ausência de diferenças estatísticas entre os grupos ($p = 0,145$). **Conclusão:** Concluiu-se que as escovas de dentes antibacterianas exibiram contaminação bacteriana semelhante à das escovas de dentes convencionais.

Descritores: Escovação dentária; contaminação; viabilidade microbiana.

Abstract

Objective: This *in vivo* study aimed to evaluate the effectiveness of antibacterial toothbrushes compared to conventional toothbrushes in reducing microorganisms contamination. **Methodology:** Thirty children, 10 to 12 years-old, brushed their teeth with conventional and antibacterial toothbrushes two times a day without toothpaste, during two experimental periods of 5 days. The research was designed as a cross-over study with a wash-out period of nine days between the different toothbrushes. After each trial period, the brushes were immediately immersed in individual flasks containing sterile saline solution. After agitation, the solution was seeded on plates containing the culture medium of Brain Heart Infusion, at concentrations of 10^{-2} and 10^{-3} , to obtain total viable microorganisms. The plates were incubated for 24 hours at 37 °C under aerobiosis and colony-forming units were counted by means of a specific software. **Result:** In conventional toothbrushes group, median and interquartile values were 105 (27-564.5), while for the group of antibacterial toothbrushes were 53 (4.5-333.5). After analyzing the data, we observed no statistical differences between groups ($p = 0.145$). **Conclusion:** It was concluded that the antibacterial toothbrushes exhibited bacterial contamination similar to conventional toothbrushes.

Descriptors: Toothbrushing; contamination; microbial viability.

INTRODUÇÃO

A cavidade bucal é um portal para inoculação de microrganismos em virtude da alimentação e da fala, e do contato com objetos, além de abrigar uma grande quantidade de microrganismos, alguns dos quais, em certo momento, podem se tornar potencialmente patogênicos¹. A higienização da cavidade bucal evita a ocorrência de patologias, como a cárie e a doença

periodontal, sendo de grande importância na manutenção da saúde e do bem-estar do indivíduo. Assim, a utilização da escova dental para a remoção mecânica da placa é fundamental para preservar a integridade dos dentes e demais tecidos orais.

Após um único uso, as escovas de dentes podem ser contaminadas por grande quantidade de bactérias, vírus e fungos².

Estudos, como o desenvolvido por Sato et al.³, comprovam que, nas escovas dentais, podem ser encontrados, com frequência, microrganismos, como: *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Corynebacterium*, *Pseudomonas* e também coliformes fecais.

Durante a escovação, torna-se impossível evitar a transmissão desses microrganismos para as cerdas da escova dental⁴, incluindo-se desde bactérias cariogênicas e periodontopatogênicas até microrganismos causadores de patologias sistêmicas, como hepatite C, difteria, tuberculose, sífilis e AIDS⁵⁻⁷.

Não somente a cavidade bucal é responsável pela contaminação das escovas dentais. Cuidados na limpeza, na manutenção e no armazenamento são fatores essenciais para evitar ou diminuir a contaminação das escovas dentais⁸. Quando contaminadas, as escovas dentais tornam-se um reservatório para transmissão direta de microrganismos, bem como uma fonte para a inoculação ou a reintrodução de microrganismos em um indivíduo, que podem resultar em enfermidades simples ou mais complexas^{1,9}.

Embora o primeiro estudo acerca da contaminação de uma escova dental date de 1920¹⁰, apenas recentemente há uma preocupação maior em tentar solucionar esse problema. Muito tem sido questionado sobre os métodos de descontaminação ou sanitização das escovas dentais. A evidência científica demonstra que o uso de agentes químicos é considerado um método eficiente e de baixo custo, que favorece o controle de infecções¹¹. Vários produtos já foram pesquisados, como clorexidina^{9,12,13}, álcool 77%¹⁴, peróxido de hidrogênio¹¹ e cloreto de cetilperidíneo³, entre outros. Todavia, a utilização de produtos descontaminantes gera a necessidade de uma etapa a mais durante a higienização bucal, sendo necessário incluir tal procedimento no hábito popular.

Atualmente, a escovação dental é o método mais comum e universalmente aceito para controle do biofilme dental¹³, e as escovas dentais se tornaram objetos altamente comercializados. Com isso, o mercado está inundado por diferentes marcas de escovas dentais, cada uma reivindicando ser melhor do que a outra⁵; é, nesse contexto, que surge uma escova dental antibacteriana. A escova de dente antibacteriana apresenta na composição de suas cerdas os íons de prata, conhecidos biocidas inorgânicos que agem na parede celular¹⁵. Conseqüentemente, a escova antibacteriana apresentaria um mecanismo extra de defesa, que impediria o crescimento de germes e bactérias por até noventa dias, segundo informação do fabricante. Uma escova dental que, por si só, impossibilite ou minimize a contaminação microbiana traria grandes benefícios, considerando que essa medida não exige mudanças nos hábitos dos pacientes e está ao alcance da população.

A partir do exposto, o objetivo deste estudo é avaliar *in vivo* a efetividade de uma escova dental antibacteriana, comparando-a a uma escova convencional, em inibir ou reduzir o crescimento de microrganismos em suas cerdas após utilização.

MATERIAL E MÉTODO

O presente estudo foi submetido à avaliação da Comissão de Ética em Pesquisa da Universidade Estadual de Ponta Grossa e

sua execução foi aprovada sob o protocolo nº 6782/12. Todos os participantes da pesquisa possuem o TCLE assinado pelos pais ou pelos responsáveis legais. Não ocorreu nenhuma desistência durante o estudo.

A amostragem foi aleatoriamente composta por 30 crianças, na faixa etária de dez a 12 anos, regularmente matriculadas no CAIC Reitor Álvaro Augusto Cunha Rocha, Escola de Ensino Fundamental em Ponta Grossa, Estado do Paraná. Foram excluídos da amostra pacientes então em terapia com antibiótico ou no mês anterior à pesquisa; com lesões de cárie; comprometimento endodôntico ou em tratamento ortodôntico durante o período da investigação, e pacientes especiais ou com deficiências cognitivas e/ou motoras. Os pacientes utilizaram escovas dentais Dentalclean® de cerdas macias e suaves com cabeça 35 e escovas dentais Oral-B® Pró-Saúde Antibacteriana de cerdas macias e suaves com cabeça 35.

As escovas foram numeradas de acordo com cada criança, em ordem alfabética. O desenho do estudo foi cruzado (Figura 1), com dois períodos de escovação de cinco dias cada e com *wash-out* de nove dias entre os períodos testados.

A técnica usual de escovação dos participantes não foi modificada, porém as escovações foram efetuadas sem o uso de dentífrício, para não ocorrerem interferências no estudo. Foram realizadas duas escovações diárias e todas foram supervisionadas pelas pesquisadoras. Após cada escovação, a escova era lavada em água corrente e o excesso de água, removido com papel absorvente descartável. As escovas ficavam acomodadas em um recipiente arejado com nichos identificados e individuais, de modo que não houvesse contato entre as escovas e nem acúmulo de umidade. Esse recipiente foi armazenado em um ambiente ventilado, sem as possíveis contaminações comuns em banheiros, como aerossóis provenientes de descargas ou respingos de água.

Ao término de cada período de pesquisa, as escovas foram recolhidas e imediatamente imersas em tubos de ensaio codificados, contendo 1 mL de solução salina estéril. Após agitação por um minuto para desprender os agregados microbianos, foram realizadas diluições da solução obtida nas frações de 1:100 e 1:1.000 e, em triplicata, 100 µL de cada diluição foram semeados

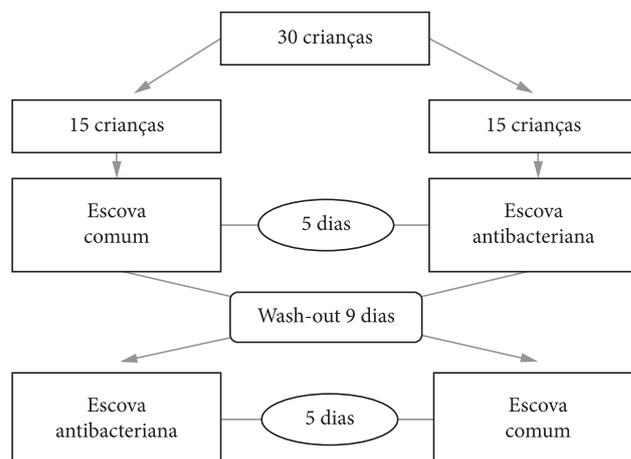


Figura 1. Desenho do estudo.

em ágar Brain Heart Infusion (BHI), para análise do total de microrganismos viáveis.

As placas foram encubadas por 24 horas a 37 °C, em aerobiose. Após esse período, fotografias digitais padronizadas das placas foram obtidas e o total de unidades formadoras de colônias (UFC/mL) foi contado por meio do software Image-Pro Plus 4.5 (Media Cybernetics, Silver Spring, MD, EUA).

A análise estatística dos dados mostrou uma distribuição não normal em ambos os grupos de estudo (teste de Shapiro-Wilk). Assim, a comparação do número total de microrganismos encontrados nas escovas antibacterianas e convencionais foi realizada por meio do teste não paramétrico de soma dos postos de Mann-Whitney, com nível de significância de 0,05 e utilizando-se o software SigmaPlot para Windows, versão 12.0 (Dundas Software Ltda., Alemanha).

RESULTADO

No grupo de escovas convencionais, a mediana e intervalos interquartis foi de 105 (27 – 564,5); para o grupo de escovas antibacterianas, foi de 53 (4,5 – 333,5). Após análise dos dados, observou-se ausência de diferenças estatísticas entre os grupos ($p = 0,145$). Os dados estão dispostos na Figura 2.

DISCUSSÃO

A escova antibacteriana teve desempenho similar ao das escovas convencionais no que diz respeito à redução na contaminação das suas cerdas, após o uso por crianças. No entanto, observou-se uma tendência da escova antibacteriana de desenvolver menos contaminação.

O risco de contaminação cruzada ou recontaminação de pessoas em função da presença de microrganismos em escovas dentais torna relevante a procura por métodos que inibam ou diminuam a contaminação desses utensílios⁹. Vários estudos têm sido realizados na tentativa de inibir ou diminuir a carga microbiana das escovas^{16,17}, como o uso de soluções sanitizantes, como a clorexidina⁹, o cloreto de cetilperidínio³ e o hipoclorito

de sódio¹⁸. Dentifrícios contendo agentes antibacterianos também têm demonstrado serem eficazes na redução das cargas bacterianas em escovas¹⁹. A incorporação de agentes antimicrobianos aos dentifrícios, tal como o triclosan, exerce um efeito positivo na diminuição de bactérias das cerdas das escovas, quando utilizados para a higienização bucal²⁰.

Outro meio sugerido de se reduzir a carga microbiana das escovas dentais é a incorporação de agentes antimicrobianos nos filamentos das escovas. Escovas com cerdas recobertas por triclosan não apresentaram qualquer descontaminação adicional em relação às escovas convencionais²¹. Escovas com filamentos recobertos por clorexidina apresentaram menores quantidades de bactérias do que as escovas convencionais²², mas sem diferença estatisticamente significativa, o que indica que pesquisas adicionais são necessárias para fundamentar a eficácia do revestimento de clorexidina²³. Os resultados pouco promissores dessas pesquisas conduziram à necessidade de se realizarem mais estudos com diferentes materiais, que se apresentem realmente eficazes.

Este estudo in vivo avaliou a atividade antibacteriana da escova Oral-B® Pró-Saúde Antibacteriana, com filamentos recobertos por íons prata, durante um período de cinco dias, com duas escovações diárias, sem utilizar dentifrício.

A prata tem sido utilizada pelo homem há milhares de anos e, dentre suas muitas aplicações, a mais importante é aquela que explora suas propriedades desinfetantes para usos higiênicos e médicos²⁴.

O modo de ação antibacteriana da prata ocorre por diversos mecanismos, os quais dependem da concentração de íons livres de prata (Ag^{+2}). Em baixas concentrações, há o rompimento reversível da membrana – efeito bacteriostático – e, em altas concentrações, ocorre o rompimento irreversível da membrana – o efeito bactericida. Os íons de prata são utilizados para controlar o crescimento bacteriano em uma série de aplicações médicas e odontológicas^{25,26}. Observando-se os resultados deste estudo, pode-se aventar a hipótese de que, na escova antibacteriana testada, o nível de íons prata livres não alcançou a concentração bactericida, já que não houve redução do número total de microrganismos viáveis.

Microrganismos patogênicos presentes na cavidade bucal contaminam escovas dentais e, dependendo das condições de higiene e armazenamento, há possibilidade de contaminação cruzada. Assim, até mesmo patógenos relacionados a infecções respiratórias, intestinais e outras enfermidades podem ser transferidos¹⁶.

O ato de passar os dedos nas cerdas da escova de dentes no momento do enxágue pode contaminá-las com microrganismos do tipo *Staphylococcus*, sendo que outros tipos de microrganismos podem também ser encontrados nas escovas dentais em decorrência do seu enxágue com água contaminada ou mesmo provenientes do aerossol microbiano que se forma no ambiente do banheiro após o acionamento da descarga¹⁷.

Escovas armazenadas sobre a pia do banheiro, em suporte coletivo, são mais suscetíveis ao crescimento bacteriano, em

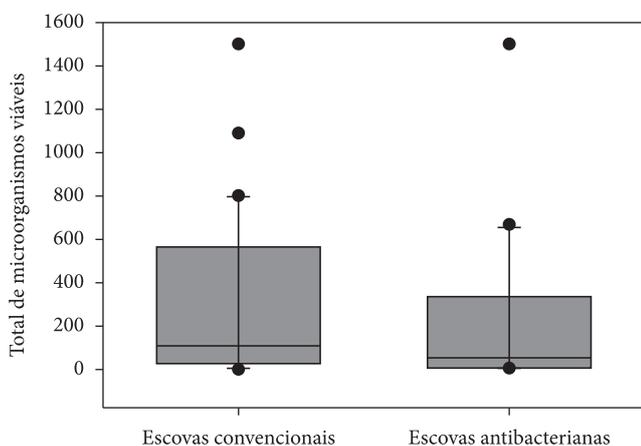


Figura 2. Medianas e interquartis do total de microrganismos viáveis em escovas convencionais e antibacterianas utilizadas por escolares ($p = 0,145$ – teste de Mann-Whitney).

razão da umidade característica deste local e da ocorrência de contaminação cruzada¹⁶. Assim, a forma de armazenamento utilizada neste trabalho visou a minimizar o risco de contaminação cruzada. O desenho cruzado do presente estudo reduziu a possibilidade de variações individuais que poderiam influenciar os resultados, assim como os critérios de exclusão previamente definidos. Portadores de necessidades especiais geralmente apresentam higiene bucal precária quando comparados à população em geral¹³; portanto, os participantes da pesquisa eram crianças com boa capacidade motora e cognitiva, e sem doença sistêmica. Tais medidas foram tomadas no presente trabalho para reduzir/eliminar a existência de viéses.

A contagem do total de unidades formadoras de colônias foi realizada por meio de *software*, o que diminui o risco de erro. Este parâmetro pode ser considerado como o principal marcador da atividade antibacteriana, já que se tal número for reduzido, a efetividade do agente é comprovada. A contagem do total de microrganismos viáveis é uma metodologia amplamente utilizada e exibe elevada sensibilidade, detectando baixos números de células e permitindo também a contagem de diferentes tipos de microrganismos. O meio de enriquecimento utilizado BHI (*brain heart infusion*) é um meio de cultura utilizado para cultivo de estreptococos, pneumococos, meningococos, enterobactérias, leveduras e fungos²⁷.

Por outro lado, ao avaliar somente o total de microrganismos viáveis – e não espécies específicas –, dados interessantes podem ser acobertados, como os encontrados por Al-Ahmad et al.²⁸ (2010), que verificaram níveis significativamente maiores de *S. sanguis* e *C. albicans* em escovas recobertas por íons de prata quando comparadas às escovas convencionais.

De um modo geral, observou-se que os resultados deste estudo são similares a outros relatados na literatura com a utilização de escovas convencionais comparadas a escovas com cerdas recobertas por triclosan^{21,29} ou clorexidina^{22,23}. Portanto, pode-se dizer que o uso de escovas antibacterianas não apresenta vantagens significativas, já que esta tem um custo elevado para os pacientes e não apresentam efetividade superior aos modelos convencionais, quando a contaminação das cerdas é considerada.

CONCLUSÃO

A partir da metodologia utilizada neste estudo, é possível concluir que a escova Oral-B® Pró-Saúde antibacteriana teve desempenho similar às escovas convencionais, no que diz respeito à redução na contaminação das suas cerdas, após o uso por crianças. No entanto, observou-se uma tendência da escova antibacteriana de desenvolver menos contaminação.

REFERÊNCIAS

1. Ankola AV, Hebbal M, Eshwar S. How clean is the toothbrush that cleans your tooth? *Int J Dent Hyg.* 2009;7:237-40. PMID:19832908. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1601-5037.2009.00384.x>
2. Saravia ME, Nelson-Filho P, da Silva RA, Faria G, Rossi MA, Ito IY. Viability of *Streptococcus Mutans* toothbrush bristles. *J Dent Child.* 2008;75:29-32.
3. Sato S, Ito IY, Lara EH, Panzeri H, Albuquerque Junior RF, Pedrazzi V. Bacterial survival rate on toothbrushes and their decontamination with antimicrobial solutions. *J Appl Oral Sci.* 2004;12:99-103. PMID:21365129. <http://dx.doi.org/10.1590/S1678-77572004000200003>
4. Beneduce C, Baxter KA, Bowman J, Haines M, Andreana S. Germicidal activity of antimicrobials and violet light personal travel toothbrush sanitizer: an in vitro study. *J Dent.* 2010;38:621-5. PMID:19781590. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdent.2009.08.011>
5. Balappanavar AY, Nagesh L, Ankola AV, Tangade PS, Kakodkar P, Varun S. Antimicrobial efficacy of various disinfecting solutions in reducing the contamination of the toothbrush – a comparative study. *Oral Health Prev Dent.* 2009;7:137-45. PMID:19583039.
6. Warren DP, Goldschmidt MC, Thompson MB, Adler-Storhiz K, Keene HJ. The effects of toothpastes on the residual microbial contamination of toothbrushes. *J Am Dent Assoc.* 2001;132:1241-5. PMID:11665348.
7. 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;13:571-3. PMID:16907842. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2893.2006.00735.x>
8. Barros OB, Pernambuco RA, Tomita NE. Escovas dentais. *Rev Fac Odontol São José dos Campos.* 2001;4:32-7.
9. Sato S, Pedrazzi V, Guimarães Lara EH, Panzeri H, Ferreira de Albuquerque R Jr, Ito IY. Antimicrobial spray for toothbrush disinfection: An in vivo evaluation. *Quintessence Int.* 2005;36:812-6. PMID:16261797.
10. Cobb CM. Toothbrushes as a cause of repeated infections of the mouth. *Boston Med Search Journal.* 1920;183:263-4 <http://dx.doi.org/10.1056/NEJM192008261830905>
11. Frazelle MR, Munro CL. Toothbrush contamination: a review of the literature. *Nursing Research and Practice.* 2012; 1-6. PMID:22315679. PMID:3270454. <http://dx.doi.org/10.1155/2012/420630>
12. Komiyama EY, Back-Brito GN, Balducci I, Koga-Ito CY. Evaluation of alternative methods for the disinfection of toothbrushes. *Braz Oral Res.* 2010;24:28–33. PMID:20339710. <http://dx.doi.org/10.1590/S1806-83242010000100005>
13. Chibinski AC, Grando K, Fanchin PT, Campagnoli E, Santos FA, Wambier DS. Descontaminação de escovas dentais utilizadas por crianças portadoras de necessidades especiais: análise microbiológica. *RSBO.* 2011;8:145-52.
14. Sanches MH, Peres SHCS, Peres AS, Bastos JRM. Descontaminação de escovas dentárias por imersão em soluções antissépticas. *RGO.* 2001;49:167-71.
15. Eguchi SY. Ativos antimicrobianos utilizados na indústria [citado em 2012 Jul 19]. Disponível em: <http://www.sbcc.com.br/revistas_pdfs/ed%2022/22Antimicrobianos.pdf>

16. Coutinho PG, Bittar P, Ditterich RG, Rastelli MC, Romanelli M, Vasconcellos CMO, et al. Análise do acondicionamento e condições de escovas dentais utilizadas por pré-escolares. Rev Odontol UNESP. 2007;22:335-9.
17. Taji SS, Rogers AH. The microbial contamination of toothbrushes. A pilot study. Aust Dent J. 1998;43:128-30. PMID:9612987.
18. 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;36:29-33.
19. Quirynen M, De Soete M, Pauwels M, Gizani S, Van Meerbeek B, van Steenberghe D. Can toothpaste or a toothbrush with antibacterial tufts prevent toothbrush contamination? J Periodontol. 2003;74:312-22. PMID:12710750. <http://dx.doi.org/10.1902/jop.2003.74.3.312>
20. Goldsmith RN, Shey Z, Houpt MI, Fine D, Schreiner H, Greenberg B. Toothbrush bristlewear and bacterial adherence. Pediatr Dent. 2007;29:246-7.
21. Efstratiou M, Papaioannou W, Nakou M, Ktenas E, Vrotsos IA, Panis V. Contamination of a toothbrush with antibacterial properties by oral microorganisms. J Dent. 2007;35:331-7. PMID:17118507. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdent.2006.10.007>
22. Yokosuka N, Tanaka T, Ebisudani K, Iwai T. Studies of bacterial contamination of chlorhexidine coated filaments of the toothbrush. J Jap Assoc Period. 1989;31:960-9.
23. Turner LA, McCombs GB, Hynes WL, Tolle SL. A novel approach to controlling bacterial contamination on toothbrushes: chlorhexidine coating. Int J Dent Hyg. 2009;7:241-5. PMID:19832909. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1601-5037.2008.00352.x>
24. Chen X, Schluesener HJ. Nanosilver: a product in medical application. Toxicology letters. 2008;176:1-12. PMID:18022772. <http://dx.doi.org/10.1016/j.toxlet.2007.10.004>
25. Klueh U, Wagner V, Kelly S, Johnson A, Bryers JD. Efficacy of silver-coated fabric to prevent bacterial colonization and subsequent device-based biofilm formation. J Biomed Mater Res. 2000;53:621-31. [http://dx.doi.org/10.1002/1097-4636\(2000\)53:6<621::AID-JBM2>3.0.CO;2-Q](http://dx.doi.org/10.1002/1097-4636(2000)53:6<621::AID-JBM2>3.0.CO;2-Q)
26. Jung WK, Koo HC, Kim KW, Shin S, Kim SH, Park YH. Antibacterial activity and mechanism of action of the silver ion in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Appl Environ Microbiol. 2008;74:2171-8. PMID:18245232 PMCID:2292600. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.02001-07>
27. Madigan MT, Martinko JM, Parker J. Brock. Biología de los microorganismos. 10a ed. Madrid: Pearson-Prentice Hall; 2003.
28. Al-Ahmad A, Wiedmann-Al-Ahmad M, Deimling D, Jaser C, Pelz K, Wittmer A, Ratka-Krüger P. An antimicrobial effect from silver-coated toothbrush heads. Am J Dent. 2010;5: 251-4.
29. Sammons RL, Kaur D, Neal P. Bacterial survival and biofilm formation on conventional and antibacterial toothbrushes. Biofilms. 2004;1:123-30. <http://dx.doi.org/10.1017/S1479050504001334>

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

AUTOR PARA CORRESPONDÊNCIA

Fabiana Bucholdz Teixeira Alves
Departamento de Odontologia, UEPG – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Av. General Carlos Cavalcanti, 4748,
Campus Uvaranas, 84030-900 Ponta Grossa - PR, Brasil
e-mail: fabi.teixeira@uol.com.br

Recebido: 03/02/2013
Aprovado: 28/02/2013