



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO MICROBIANA
DAS CERDAS DE ESCOVAS DENTÁRIAS
EM FUNÇÃO DO SEU PERFIL DE ACONDICIONAMENTO**

Trabalho submetido por
Ana Lúcia Frazão Malta
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

setembro de 2018



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**AVALIAÇÃO DA CONTAMINAÇÃO MICROBIANA
DAS CERDAS DE ESCOVAS DENTÁRIAS
EM FUNÇÃO DO SEU PERFIL DE ACONDICIONAMENTO**

Trabalho submetido por
Ana Lúcia Frazão Malta
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof. Doutora Maria Helena de Sousa Barroso

e coorientado por
Mestre Joana Patrícia Serrano Carvalho

setembro de 2018

DEDICATÓRIA

Para as duas estrelinhas que olham por mim no céu.

“The future belongs to those who believe in the beauty of their dreams.”

- Eleanor Roosevelt

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Prof. Doutora Helena Barroso, por toda a dedicação, simpatia, disponibilidade, orientação e apoio imprescindível transmitido ao longo deste trabalho.

À minha coorientadora, Professora Joana Carvalho, pelo empenho, paciência, auxílio e determinação incansável neste projeto, e por me acompanhar desde o início do meu percurso académico.

Ao Prof. Doutor Luís Proença, pelo seu tempo e conhecimentos transmitidos acerca da análise estatística deste trabalho.

Ao Instituto Universitário Egas Moniz, à Clínica Dentária Egas Moniz, ao Laboratório de Microbiologia Aplicada Egas Moniz, e a todos os professores e funcionários que a nível pessoal e profissional contribuíram para a minha formação e crescimento.

Aos participantes e à Colgate-Palmolive, sem os quais este estudo não teria sido possível.

Aos meus pais, Leonor e António Gil, e aos meus irmãos Laura e João Gil, que me dão força todos os dias para continuar e a quem devo aquilo que hoje sou.

Aos meus avós, Cesaltina, Conceição, Joaquim e João, que a saudade e distância não afastam do coração. A toda a minha família, aos meus padrinhos e à Isabel. Apenas com o vosso amor foi possível chegar até aqui.

A todos os meus amigos do Serrado, do Ribatejo, do Alentejo, e aos espalhados por Portugal e pelo mundo, em especial à Raquel pelo apoio incondicional, à Renata que fez esta caminhada de “mãos-dadas” comigo, e à Ana Margarida pelas memórias que ainda estão por vir e por aquelas que nunca irei esquecer.

A todos os colegas que se cruzaram comigo ao longo destes 5 anos, em especial ao meu colega de box Diogo, pela sua amizade, e pela incrível equipa que formámos em todo este percurso.

Por último, gostaria de agradecer do fundo do coração ao Ricardo, por todo o carinho e alegria que traz à minha vida, e por sempre acreditar no concretizar deste sonho, e de todos os sonhos vindouros.

A todos, os meus enormes e sinceros agradecimentos.

RESUMO

Objetivos: Identificar os microrganismos presentes na cavidade oral e nas cerdas de escovas dentárias de estudantes do Mestrado Integrado em Medicina Dentária, e verificar se o perfil de acondicionamento das escovas dentárias tem influência no crescimento microbiano. Caracterizar também os hábitos de higiene oral dos estudantes através de um questionário.

Materiais e Métodos: Os participantes foram divididos em três grupos, segundo o perfil de acondicionamento das escovas: em armário fechado, local aberto sem tampa e local aberto com tampa. Foram entregues a cada participante (n=75) duas escovas dentárias, em que uma era utilizada na higiene oral diária, e a outra permaneceria no mesmo local como controlo, sem ser utilizada, durante as três semanas de estudo. Procedeu-se à recolha de amostras da cavidade oral, no início do estudo, e decorridas as três semanas, altura em que as escovas foram recolhidas e analisadas para quantificação de microrganismos. Os resultados foram analisados estatisticamente através do programa SPSS. Todos os participantes preencheram um questionário, de forma a recolher informação sobre os seus hábitos de higiene oral e deram o seu consentimento formal para fazer parte deste estudo.

Resultados: A amostra inicial em estudo foi constituída por 75 estudantes de Medicina Dentária do IUEM com uma idade média de $21,9 \pm 1,7$ anos, e predomínio do género feminino (77%). Verificou-se crescimento microbiano em 97,1% das escovas dentárias utilizadas, tendo sido identificados diversos microrganismos dentro dos géneros *Streptococcus* (61,4%), *Staphylococcus* (64,2%), *Enterococcus* (54,2%), *Candida* (4,2%), e da família *Enterobacteriaceae* (37,1%). Destaca-se o facto de o número de microrganismos anaeróbios totais, ser menor nas escovas sem tampa ($p=0,015$).

Conclusão: As escovas acondicionadas sem tampa apresentaram menor contaminação que os outros grupos em estudo, sugerindo que o perfil de acondicionamento das escovas dentárias pode ter influência no crescimento microbiano.

Palavras-chave: Escovas dentárias, Perfil de Acondicionamento, Contaminação, Microrganismos orais.

ABSTRACT

Purpose: This study aimed to identify the microorganisms present in the oral cavity and toothbrush bristles of Dentistry students, and to verify if different toothbrush storage has an influence on microbial growth. It was also sought to characterize students' oral hygiene habits through a questionnaire.

Methods: The participants were divided into three groups, according to different ways of toothbrush storage: closed compartment, open compartment without a cover and open compartment with a cover. Two toothbrushes were handed to each participant (n=75), where one of the brushes provided was used in daily oral hygiene, and another one would remain in the same place as a control, unused, during the three weeks of the study. Samples from the oral cavity were taken at the beginning of the study, and after three weeks, at which time the toothbrushes were collected and analysed for microorganisms quantification. The results were statistically analyzed through the SPSS program. All participants completed a questionnaire in order to gather information about their oral hygiene habits and gave their formal consent to be part of this study.

Results: This study initial sample consisted of 75 IUEM Dentistry students with a mean age of 21.9 ± 1.7 years, and a predominance of the female gender (77%). Microbial growth was verified in 97.1% of the used toothbrushes, and different microorganisms were identified, such as *Streptococcus* (61.4%), *Staphylococcus* (64.2%), *Enterococcus* (54.2%), *Candida* (4.2%), and *Enterobacteriaceae* (37.1%). It should be noted that the number of anaerobic microorganisms was lower in toothbrushes without a cover (p=0.015).

Conclusion: The toothbrushes stored in an open place without a cover had less contamination than the other groups in this study, suggesting that different toothbrush storage has an influence on microbial growth.

Key-words: Toothbrushes, Types of Storage, Contamination, Oral Microorganisms.

ÍNDICE GERAL

1. INTRODUÇÃO	13
1.1. PREVENÇÃO E SAÚDE ORAL.....	14
1.1.1. Escova Dentária: Dos primórdios à atualidade	15
1.2. MICROBIOLOGIA NA CAVIDADE ORAL	18
1.2.1. <i>Streptococcus spp.</i>	19
1.2.2. <i>Staphylococcus spp.</i>	21
1.2.3. <i>Enterococcus spp.</i>	22
1.2.4. <i>Candida spp.</i>	22
1.2.5. <i>Enterobacteriaceae</i>	24
1.2.6. Biofilme Dentário	25
1.3. CONTAMINAÇÃO DAS CERDAS DE ESCOVAS DENTÁRIAS	28
1.3.1. Fatores que influenciam o crescimento microbiano	29
2. MATERIAIS E MÉTODOS	35
2.1. Considerações éticas.....	35
2.2. Tipo de estudo	35
2.3. Objetivos.....	35
2.3.1. Hipóteses de Estudo.....	35
2.4. Local do estudo.....	36
2.5. Amostra e critérios de inclusão e exclusão.....	36
2.6. Elaboração do questionário	37
2.7. Procedimento	37
2.8. Identificação dos microrganismos presentes	40
2.9. Análise estatística	41
3. RESULTADOS	43
3.1. Caracterização da amostra	43
3.1.1. Caracterização da amostra quanto aos hábitos tabágicos	43

3.1.2. Caracterização da amostra quanto aos hábitos alimentares	44
3.1.3. Caracterização da amostra quanto aos hábitos de higiene oral e acondicionamento das escovas dentárias.....	44
3.2. Análise das cerdas das escovas dentárias e amostras da cavidade oral	47
3.2.1. Análise Estatística.....	55
4. DISCUSSÃO.....	59
5. CONCLUSÕES.....	67
6. BIBLIOGRAFIA.....	69

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Evolução da escova dentária desde (A) Babilónia, 3500 a.C., (B) China, 1600 a.C., e (C) Inglaterra, 1780, até aos dias de hoje (D). (Adaptado de https://paulgriffindds.com/the-toothbrush-brushing-up-on-history/)	16
Figura 2 - Demonstração da Técnica de Bass modificada. (Adaptado de http://tube.medchrome.com/2013/04/brushing-technique-bass-and-modified.html).....	18
Figura 3 - Imagem tridimensional gerada em computador, representativa de microrganismos do género <i>Streptococcus</i> , baseada em microscopia eletrónica de varredura. (Adaptado de https://phil.cdc.gov/).....	20
Figura 4 - Imagem tridimensional gerada em computador, representativa de microrganismos do género <i>Staphylococcus</i> , baseada em microscopia eletrónica de varredura. (Adaptado de https://phil.cdc.gov/).....	21
Figura 5 - Imagem tridimensional gerada em computador, representativa do fungo <i>Candida</i> , baseada em microscopia eletrónica de varredura. (Adaptado de https://phil.cdc.gov/).....	23
Figura 6 - Fases de formação do biofilme desde a (A) formação de película adquirida, (B) adesão inicial, (C) maturação, e a (D) dispersão. (Adaptado de Jenkinson & Lamont, 2010).....	26
Figura 7 - Distribuição dos participantes nas amostras iniciais e finais.....	36
Figura 8 - Procedimento laboratorial para identificação dos microrganismos presentes nas cerdas das escovas dentárias e na cavidade oral dos participantes.	39
Figura 9 - Exemplo de escova dentária fornecida aos participantes do estudo.....	40
Figura 10 - Distribuição da amostra por género (n=75).....	43
Figura 11 - Caracterização do perfil de acondicionamento das escovas dentárias.....	46
Figura 12 - Distribuição da amostra segundo o perfil de acondicionamento da escova: em armário fechado, local aberto sem tampa e local aberto com tampa.	46
Figura 13 - Crescimento microbiano (%) nas cerdas de escovas dentárias (n=70) utilizadas na higiene oral diária pelos estudantes.....	47
Figura 14 - Crescimento microbiano (%) nas cerdas de escovas dentárias utilizadas na higiene oral, em função do seu perfil de acondicionamento.	48
Figura 15 - Crescimento microbiano exemplificativo em vários meios de cultura. (A) - Gelose MacConkey; (B) - Sabouraud; (C) - Mitis Salivarius Agar; (D) - Trypticase Soy Agar; (E) - Agar Manitol Sal; (F) - Gelose de Sangue.....	52

Figura 16 - Crescimento microbiano (UFC/Escova) de <i>Streptococcus spp.</i> nas cerdas de escovas dentárias utilizadas na higiene oral, em função do seu perfil de acondicionamento.....	53
Figura 17 - Crescimento microbiano (UFC/Escova) de <i>Staphylococcus spp.</i> nas cerdas de escovas dentárias utilizadas na higiene oral, em função do seu perfil de acondicionamento.....	53
Figura 18 - Crescimento microbiano (UFC/Escova) de <i>Enterococcus spp.</i> nas cerdas de escovas dentárias utilizadas na higiene oral, em função do seu perfil de acondicionamento.....	54
Figura 19 - Crescimento microbiano (UFC/Escova) de <i>Candida spp.</i> nas cerdas de escovas dentárias utilizadas na higiene oral, em função do seu perfil de acondicionamento.....	54
Figura 20 - Crescimento microbiano (UFC/Escova) de <i>Enterobacteriaceae</i> nas cerdas de escovas dentárias utilizadas na higiene oral, em função do seu perfil de acondicionamento.....	54

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Espécies de <i>Streptococcus</i> presentes na cavidade oral. (Adaptado de Marsh & Martin, 2009; Samaranayke, 2012)	20
Tabela 2 - Espécies fúngicas presentes na cavidade oral. (Adaptado de Marsh & Martin, 2009).....	23
Tabela 3 – Principais bactérias da família <i>Enterobacteriaceae</i> causadoras de doença. (Adaptado de Samaranayke, 2012).....	25
Tabela 4 - Meios de cultura utilizados rotineiramente em microbiologia. (Adaptado de Samaranayke, 2012)	40
Tabela 5 - Caracterização da amostra quanto aos hábitos tabágicos.....	44
Tabela 6 - Caracterização da amostra quanto ao consumo de alimentos ou bebidas açucaradas.....	44
Tabela 7 - Caracterização da amostra quanto à frequência de refeições diárias.	44
Tabela 8 - Caracterização da amostra quanto à frequência de escovagem diária.....	45
Tabela 9 - Frequência de substituição das escovas dentárias.	45
Tabela 10 - Hábitos de limpeza das escovas dentárias após a escovagem.	45
Tabela 11 - Frequência de amostras com crescimento microbiano nas cerdas de escovas dentárias (n=70) utilizadas na higiene oral, em função do seu perfil de acondicionamento.	48
Tabela 12 - Frequência de amostras com crescimento microbiano nas cerdas de escovas dentárias (n=70) de controlo.....	49
Tabela 13 - Frequência de amostras com crescimento microbiano nas cerdas de escovas dentárias (n=25) em armário fechado.....	49
Tabela 14 - Frequência de amostras com crescimento microbiano nas cerdas de escovas dentárias (n=24) sem tampa.....	50
Tabela 15 - Frequência de amostras com crescimento microbiano nas cerdas de escovas dentárias (n=21) com tampa.	50
Tabela 16 - Frequência de amostras com crescimento microbiano nas cerdas de escovas dentárias (n=70) de controlo, em função do seu perfil de acondicionamento.....	51
Tabela 17 - Crescimento microbiano (UFC/Escova) nas cerdas de escovas dentárias utilizadas na higiene oral, em função do seu perfil de acondicionamento.	52

Tabela 18 – Avaliação da presença/ausência de crescimento bacteriano verificado nas escovas dentárias utilizadas na higiene oral e nas respectivas escovas dentárias de controlo, em função do perfil de acondicionamento.....	55
Tabela 19 – Indicadores descritivos da quantidade total de microrganismos anaeróbios presente, para os vários perfis de acondicionamento.	56
Tabela 20 – Análise inferencial comparativa dos valores médios de microrganismos anaeróbios presentes, em função do perfil de acondicionamento.	57
Tabela 21 - Comparação entre vários microrganismos presentes nas cerdas das escovas dentárias no grupo com tampa, e as respetivas amostras da cavidade oral.	57
Tabela 22 - Comparação entre vários microrganismos presentes nas cerdas das escovas dentárias no grupo sem tampa, e as respetivas amostras da cavidade oral.....	58
Tabela 23 - Comparação entre vários microrganismos presentes nas cerdas das escovas dentárias no grupo em armário fechado, e as respetivas amostras da cavidade oral.	58

ÍNDICE DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ADA	<i>American Dental Association</i>
CDC	<i>Centers for Disease Control and Prevention</i>
DGS	Direção-Geral da Saúde
IUEM	Instituto Universitário Egas Moniz
LMAEM	Laboratório de Microbiologia Aplicada Egas Moniz
OMS	Organização Mundial da Saúde
RPM	Rotações por minuto
SPSS	<i>Statistical Package for the Social Sciences</i>
UFC	Unidades formadoras de colónias

1. INTRODUÇÃO

A cavidade oral é um ecossistema dinâmico e complexo, sendo colonizada por uma flora microbiana que se caracteriza pela sua elevada quantidade e heterogeneidade. O ecossistema oral é também caracterizado por transições constantes ao longo do tempo, que são influenciadas por vários fatores, desde interações entre o hospedeiro e os microrganismos, aos hábitos de higiene oral de cada indivíduo, que podem favorecer o crescimento, a colonização e a proliferação dos microrganismos nas superfícies orais (Nascimento, Trinca, Pita, & Pedrazzi, 2015).

Estes microrganismos podem organizar-se em comunidades de microrganismos altamente complexas, denominadas de biofilme, e podem favorecer a transição entre saúde e doença, alterando o equilíbrio do ecossistema (Marsh & Martin, 2009; Jenkinson & Lamont, 2005).

A escova dentária é considerada o instrumento mais eficaz para a remoção de biofilme, fator etiológico no desenvolvimento de cárie dentária e doença periodontal (Queiroz et al., 2013).

Vários estudos na literatura afirmam que as cerdas das escovas dentárias funcionam como reservatório de microrganismos, tendo um papel importante na transmissão de agentes patogénicos, sendo uma fonte de infeção e reinfeção oral (Hayasaki et al., 2014; Nascimento et al., 2015; Peker, Akarşlan, Basman, & Haciosmanoglu, 2015; Raiyani et al., 2015).

O nível de contaminação das cerdas das escovas dentárias pode ser influenciado pelo meio ambiente envolvente, como as condições de acondicionamento e os compartimentos onde são armazenadas as escovas, contacto com outras escovas e os aerossóis a que são expostas, e ainda fatores inerentes à cavidade oral. (Basman et al., 2016; Peker et al., 2015).

A contaminação das cerdas das escovas dentárias pode afetar tanto a saúde oral como sistémica, pelo que é de extrema importância manter uma boa higiene oral, utilizando uma escova dentária limpa e descontaminada diariamente. Face a este facto, a *American Dental Association* (ADA) e o *Centers for Disease Control and Prevention* (CDC)

emitiram várias recomendações e cuidados a ter com as escovas dentárias, sublinhando a importância de um correto acondicionamento das mesmas (Basman et al., 2016).

Apesar dos milhares de escovas que são vendidas todos os anos por todo o mundo, continua a existir desconhecimento por parte da população em geral em relação aos cuidados a ter com as escovas e o seu armazenamento (Naik, Mujib, Telagi, Anil, & Spoorthi, 2015).

É imensa a informação sobre higiene oral disponível para a população, e são vários os programas de educação para a saúde focados no controlo da cárie dentária e da doença periodontal, no entanto, é dada pouca ênfase ao armazenamento e higienização das escovas, devendo esse assunto estar inserido no contexto da prevenção (Mialhe, Silva & Possobon, 2007).

1.1. PREVENÇÃO E SAÚDE ORAL

“(...) the question "What is oral health" can be reduced to "What is health?"”
(Slade, 1997)

A Organização Mundial da Saúde (OMS) afirma que a saúde oral faz parte da saúde e do bem-estar geral do indivíduo, sendo considerada essencial para uma boa qualidade de vida. O Plano Nacional de Saúde para 2020 passa por criar uma visão para os cuidados de saúde e prevenção de doenças, e valoriza que a saúde começa em casa, na família, na comunidade e na sociedade (Direção-Geral da Saúde, 2015).

Cuenca (2005) diz-nos que “no sentido amplo, prevenção é qualquer medida que permita reduzir a probabilidade do aparecimento de doença, a bem de interromper ou diminuir a sua progressão” (p. 1). Parece ser, portanto, evidente a importância de desenvolver ações e estratégias neste sentido em Portugal, e uma continuação dos esforços para que sejam atingidas as metas europeias. No entanto, há ainda muito a ser desenvolvido e implementado no que concerne a esta área, à qual nem sempre é dado o devido valor (Ordem dos Médicos Dentistas, 2010).

As doenças mais comuns da cavidade oral, a cárie dentária e a doença periodontal, têm como um dos seus fatores etiológicos principais os microrganismos presentes no biofilme dentário (Mialhe et al., 2007; Passos et al., 2006).

A cárie dentária é uma doença multifatorial e de natureza infeto-contagiosa, cujos agentes primários são *Streptococcus mutans*, e é caracterizada pela desmineralização da superfície do dente, decorrente da ação dos produtos bacterianos, a partir do metabolismo dos açúcares. A doença periodontal afeta a gengiva e o osso de suporte dentário e é provocada por microrganismos anaeróbios como *Porphyromonas gingivalis* e *Tannerella forsythia* (Jenkinson & Lamont, 2005; Passos et al., 2006).

Segundo a ADA (2011), a escova dentária tem como principal objetivo a promoção da higiene dos dentes e da cavidade oral. No entanto, para um controlo de placa bacteriana adequado, deve ser utilizada não só a escova dentária como método de higienização mecânica, mas também outros auxiliares de limpeza, como o escovilhão e o fio dentário, bem como um controlo químico de placa através do uso de pasta dentífrica fluoretada e colutórios (Cuenca, 2005).

1.1.1. Escova Dentária: Dos primórdios à atualidade

O controlo mecânico da placa bacteriana é tão antigo quanto o Homem. Os primeiros instrumentos de higiene dentária surgiram na Babilónia, feitos de pedaços de ramos de árvores, e datam de 3500 a.C. (Wu, Darout, & Skaug, 2001).

Foram descobertos palitos para mascar em túmulos egípcios, e também encontradas referências aos mesmos, na literatura antiga grega e romana. Por volta de 1600 a.C. foi criada na China a primeira escova dentária rudimentar com cerdas, feita através de ossos de animais, bambu e pelos de porco (Ankola et al., 2009; Ferreira et al., 2012).

Séculos mais tarde, as cerdas dentárias migraram para a Europa, sem criar grande impacto, pois a higiene oral não fazia parte da rotina da sociedade da época, que não tinha conhecimentos acerca da importância da mesma. William Addis of Clerckenwald, em 1780, na Inglaterra, inventou a primeira escova de dentes que viria posteriormente a produzir em massa. Durante o tempo que esteve na prisão, fez pequenas perfurações num osso animal por onde passou e colou pelos de porcos selvagens (Halawany, 2012).

Em 1938, o *nylon* foi criado nos laboratórios Du Pont por Wallace H. Carothers. Esta invenção mudou para sempre a história da escova dentária. Mesmo com este avanço, apenas com a Segunda Guerra Mundial houve um desenvolvimento na sua modernização e uso corrente (Halawany, 2012; Penick, 2004).

Muitos países em desenvolvimento continuam a utilizar nos dias de hoje, métodos mais tradicionais de higiene oral, por questões de custo, disponibilidade, costumes e razões religiosas. Um exemplo é o uso do *Miswak*, um galho da árvore *Salvadora persica*, que tem sido alvo de estudo, muito comumente utilizado nos continentes africano e asiático. É necessária uma avaliação mais profunda da eficácia destes instrumentos, conforme foi estabelecido no Relatório de Consenso de Higiene Oral da OMS em 2000 (Halawany, 2012; Khatak et al., 2010; Penick, 2004; Wu et al., 2001).

Atualmente, as escovas dentárias manuais encontram-se disponíveis por todo o mundo, com uma enorme variedade no mercado, diferenciando-se pela cor, tamanho, dureza, número, altura, distribuição, diâmetro, comprimento e angulação das cerdas e a forma da cabeça e do cabo (Penick, 2004).

As escovas dentárias elétricas foram desenvolvidas a partir da década de 1960 e são agora amplamente utilizadas em países desenvolvidos, nomeadamente por pacientes com pouca coordenação motora (Hayasaki et al., 2014).

Deu-se assim uma grande evolução dos primórdios da escova dentária até à atualidade (Figura 1). Com o avanço da tecnologia, as escovas dentárias *smart* foram introduzidas no mercado, permitindo ao utilizador inúmeras interações através de aplicações móveis, como o monitorizar da frequência, tempo e técnica de escovagem em cada sessão (Quinlan, 2017).

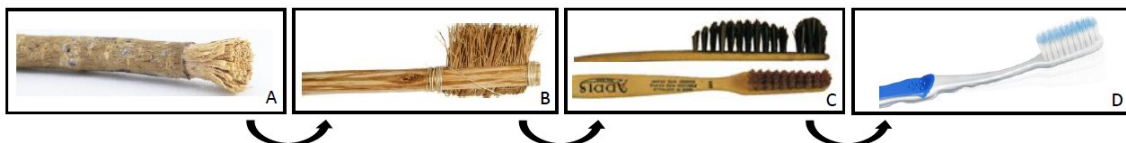


Figura 1 - Evolução da escova dentária desde (A) Babilónia, 3500 a.C., (B) China, 1600 a.C., e (C) Inglaterra, 1780, até aos dias de hoje (D). (Adaptado de <https://paulgriffindds.com/the-toothbrush-brushing-up-on-history/>)

As cerdas têm como função a remoção de restos alimentares. A cabeça da escova transmite às cerdas a força aplicada pelo punho do utilizador, e serve como base para fixar as cerdas, sendo um elemento plano rígido. A pega permite segurar a escova de dentes e transmitir a força à cabeça. Os filamentos das cerdas são organizados de forma a facilitar a remoção de placa bacteriana em zonas de mais difícil acesso, particularmente da área interproximal, e devem estar de acordo com as normas da *International Organization for Standardization* (Grover et al., 2012; Hayasaki et al., 2014).

Segundo as normas, o diâmetro das cerdas é de 0.2 mm para cerdas suaves, 0.3 mm para médias e 0.4 mm para duras, com duas a quatro filas de cerdas, com cinco a doze tufo de cerdas por fila, que são usualmente perpendiculares à cabeça da escova (Grover et al., 2012).

Quando se trata do uso, as cerdas mais suaves e macias são preferidas principalmente pelos pacientes com dentes ou gengivas sensíveis. Por outro lado, cerdas mais duras e firmes, são eleitas por muitos pacientes que acreditam que assim conseguem realizar uma higiene oral mais eficaz. No entanto, alguns autores referem que uma higiene oral traumática com uso de força excessiva, pode induzir juntamente com outros fatores, a presença de recessão gengival, bem como piorar as condições das cerdas mais rapidamente, o que pode levar ao comprometimento de uma escovagem eficaz (Mythri et al., 2015; Toker & Ozdemir, 2009).

Cada indivíduo pode preferir um tipo de cerdas, cor ou design relativamente a outro, baseando-se muitas vezes pelo gosto pessoal, o que pode traduzir-se beneficemente, em mais tempo despendido na higiene oral com uma escova da sua preferência (Limeback, 2012). Independentemente dos novos tipos de cerdas que continuarão a surgir no mercado, para uma boa higiene oral é mais importante a forma como cada utilizador a realiza, do que a escova em si. O melhor método de escovagem será aquele que melhor se adequa às necessidades e destreza do indivíduo. Os vários métodos podem ser classificados, consoante o movimento e posição da escova, dentro de um destes tipos: Método Horizontal; Método Vertical (Técnica de Leonard); Método Circular (Técnica de Fones); Método Vibratório (Técnica de Stillman); Método Rotatório (Técnica de Stillman modificada); Método de Charters; Método Sulcular de Bass; e Método de Bass modificado; (Grover et al., 2012; Poyato-Ferrera et al., 2003).

A técnica mais recomendada atualmente é a técnica de Bass modificada, demonstrada na Figura 2, que consiste em movimentos sucessivos, com os filamentos numa angulação de 45° em relação ao longo eixo do dente (Grover et al., 2012; Patil et al., 2014; Poyato-Ferrera et al., 2003).

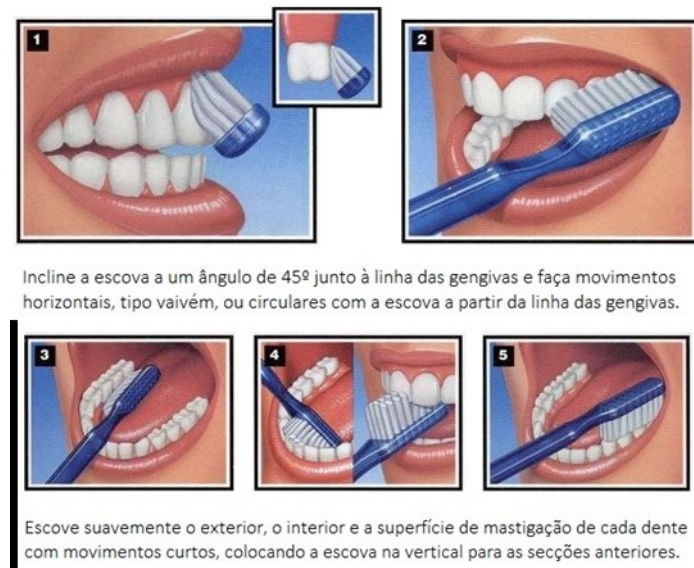


Figura 2 - Demonstração da Técnica de Bass modificada. (Adaptado de <http://tube.medchrome.com/2013/04/brushing-technique-bass-and-modified.html>)

1.2. MICROBIOLOGIA NA CAVIDADE ORAL

A cavidade oral é o espelho do corpo, e representa um dos sítios mais complexos e importantes biologicamente. Uma doença localizada noutra local do corpo, pode refletir-se na boca, e como resultado, a saliva tem-se tornado muito relevante em termos de diagnóstico. Mais ainda, a boca é a interface-chave entre o corpo e o meio ambiente externo, atuando como um dos locais de entrada de microrganismos patogénicos (Marsh & Martin, 2009).

As propriedades da cavidade oral como um habitat de microrganismos são dinâmicas, e variam ao longo da vida de cada indivíduo. A cavidade oral não possui microrganismos durante o período intrauterino, uma vez que o desenvolvimento do feto ocorre em condições estéreis. Durante os primeiros momentos de vida, em que a boca consiste apenas em superfícies mucosas, surgem as primeiras colónias (Marsh & Martin, 2009; Samaranayake, 2012).

A microbiota oral vai sofrendo alterações, após a erupção do primeiro dente, em que surge uma superfície que permite uma maior colonização, e vai evoluindo ao longo da

vida, com variações do fluxo salivar e dieta, extrações ou uso de próteses dentárias, tornando-se única em cada indivíduo (Lamont & Jenkinson, 2010; Nelson, Macari, Faria, Assed, & Ito, 2000; Raiyani et al., 2015).

As bactérias presentes na cavidade oral foram dos primeiros microrganismos a serem descritos e mais tarde isolados, em meados do século XVII. Quase 400 anos após as primeiras observações de Antonie van Leeuwenhoek dos “animálculos” presentes na placa bacteriana, novas espécies de microrganismos são descobertas e documentadas. Apesar de estarem reconhecidas mais de 750 espécies de microrganismos orais, como bactérias, fungos e protozoários, estima-se que aproximadamente 50% da microbiota oral ainda não tenha sido isolada em laboratório (Huang, Li, & Gregory, 2011; Jenkinson & Lamont, 2005; Marsh & Martin, 2009).

As bactérias podem ser classificadas de acordo com a coloração de Gram, que divide as bactérias em Gram-positivo ou Gram-negativo, e segundo as suas necessidades de oxigênio, podem ser classificadas como aeróbias estritas, anaeróbias facultativas ou anaeróbias estritas, podendo ser encontradas sob a forma de cocos ou bacilos (Samaranayke, 2012).

Optou-se no presente trabalho por, de entre as diversas espécies de microrganismos presentes na cavidade oral, pesquisar e quantificar apenas espécies dentro dos gêneros *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Candida*, e da família *Enterobacteriaceae*, tal como realizado em anteriores estudos do gênero (Ferreira et al., 2012; Raiyani et al., 2015; Rodrigues et al., 2012; Naik et al., 2015). Estas espécies transmitem-nos informação sobre o estado da saúde oral e sistêmica de cada indivíduo, sendo que muitas possuem potencial patogénico, razão pela qual são contínuo alvo de estudo.

1.2.1. *Streptococcus spp.*

Os microrganismos do gênero *Streptococcus* compreendem um diverso grupo de cocos esféricos Gram-positivo, anaeróbios aerotolerantes, organizados em pares ou cadeias (Figura 3). Não produzem esporos, na sua maioria alfa-hemolíticos, são imóveis e catalase e oxidase negativas (Barroso et al., 2014; Samaranayke, 2012).

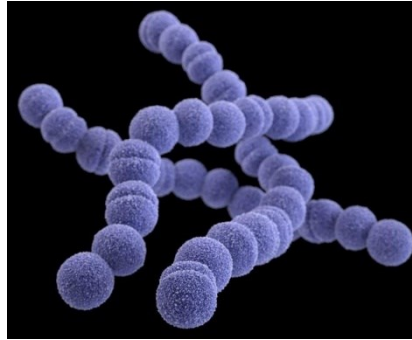


Figura 3 - Imagem tridimensional gerada em computador, representativa de microrganismos do género *Streptococcus*, baseada em microscopia eletrónica de varredura. (Adaptado de <https://phil.cdc.gov/>)

Foram os primeiros microrganismos a ser isolados da cavidade oral, constituindo uma grande parte da população da microflora residente cultivável, que continua a ser constante alvo de estudo (Lamont & Jenkinson, 2010).

Existem cerca de 100 espécies e algumas subespécies, comensais e com potencial patogénico, que podem ser divididos em quatro grupos principais, enumerados na Tabela 1:

Tabela 1 - Espécies de *Streptococcus* presentes na cavidade oral. (Adaptado de Marsh & Martin, 2009; Samaranayake, 2012)

Grupo	Espécie
Grupo Mutans	<i>S. mutans</i> , serotipo c, e, f, k
	<i>S. sobrinus</i> , serotipo d, g
	<i>S. cricetus</i> , serotipo a
	<i>S. rattus</i> , serotipo b
Grupo Salivarius	<i>S. salivarius</i>
	<i>S. vestibularis</i>
Grupo Anginosus	<i>S. constellatus</i>
	<i>S. intermedius</i>
	<i>S. anginosus</i>
Grupo Mitis	<i>S. sanguin</i>
	<i>S. gordonii</i>
	<i>S. parasanguinis</i>
	<i>S. oralis</i>
	<i>S. mitis</i>
	<i>S. cristatus</i>
	<i>S. oligofermentans</i>
	<i>S. sinensis</i>
	<i>S. australis</i>
	<i>S. peroris</i>
<i>S. infantis</i>	

Há um grande interesse no estudo de *Streptococcus mutans*, devido ao seu papel como agente principal na cárie dentária, e na presença de fatores predisponentes. *S. mutans* coloniza exclusivamente o esmalte dentário logo após a erupção dos primeiros dentes. Possui a característica de produzir grandes quantidades de polissacáridos extracelulares, na presença de hidratos de carbono provenientes da dieta. *Streptococcus* como *S. mutans* são também agentes importantes na endocardite bacteriana, sendo que em pacientes de risco, como aqueles que possuem próteses valvulares cardíacas, é importante a profilaxia antibiótica antes de um procedimento dentário (Huang et al., 2011; Naik et al., 2015; Peker et al., 2014).

Colonizadores pioneiros da mucosa oral em inícios de vida, *S. mitis* e *S. oralis* estão envolvidos no desenvolvimento de biofilme e têm sido considerados agentes causais de septicemias em pacientes imunodeprimidos (Barroso et al., 2014; Marsh & Martin, 2009). *S. salivarius* encontra-se sobretudo no dorso da língua e na saliva, e não é um agente patogénico major, contrariamente a *S. constellatus* que está associado a infeções dento-alveolares (Samaranayake, 2012).

1.2.2. *Staphylococcus* spp.

Os microrganismos *Staphylococcus* são cocos Gram-positivo e catalase positiva, anaeróbios facultativos, não-móveis, não-encapsulados e sem esporos, constituintes da flora natural da pele e mucosas em seres humanos. Os microrganismos deste género formam agrupamentos em cacho (Figura 4), que lhes atribuiu o nome: *staphylé*, de cacho de uvas, e *kokkos*, de grânulo, em grego (Barroso et al., 2014).



Figura 4 - Imagem tridimensional gerada em computador, representativa de microrganismos do género *Staphylococcus*, baseada em microscopia eletrónica de varredura. (Adaptado de <https://phil.cdc.gov/>)

Existem 41 espécies no género *Staphylococcus* e 24 subespécies. De entre estas, as bactérias mais frequentemente associadas a infeções em humanos são *S. aureus*, *S. saprophyticus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. lugdunensis*. Associada a uma maior taxa de mortalidade e morbidade, *S. aureus*, presente na pele e fossas nasais, foi a primeira espécie a ser reconhecida como agente patogénico humano. Causa comumente infeções como endocardite, pneumonia, osteomielite, síndrome do choque tóxico, entre outras. Elevadas concentrações de *S. aureus* são frequentemente encontradas em ambientes hospitalares e em profissionais de saúde (Barroso et al., 2014; Peker et al., 2014; Samaranayke, 2012).

1.2.3. *Enterococcus spp.*

Os microrganismos do género *Enterococcus* são bactérias que se podem apresentar como cocos isolados, ou aos pares, anaeróbios aerotolerantes, Gram-positivo e catalase negativa, presentes no colón, trato geniturinário feminino e na cavidade oral (Samaranayke, 2012). Os membros deste género estiveram durante muito tempo classificados como *Streptococcus*, até ter sido demonstrado que uma classificação separada e a criação de um novo género seria apropriado, devido ao facto de estarem pouco relacionados geneticamente (Barroso et al., 2014).

Importantes agentes nosocomiais, estes microrganismos ganharam notoriedade nas últimas décadas, devido ao aparecimento de microrganismos com resistência intrínseca ou adquirida à maioria dos antibióticos utilizados na prática clínica, como a vancomicina e a ampicilina (Barroso et al., 2014; Lamont & Jenkinson, 2010). As espécies mais prevalentes são *Enterococcus faecalis* e *Enterococcus faecium*, frequentemente associadas a várias infeções como endocardite bacteriana, peri-implantites e infeções endodônticas (Lamont & Jenkinson, 2010; Marsh & Martin, 2009).

1.2.4. *Candida spp.*

Os fungos com maior relevância em medicina dentária são sem dúvida os do género *Candida*, normalmente encontrado no trato gastrointestinal e geniturinário. Comensal da cavidade oral em cerca de 35 a 55% da população, é geralmente inócuo em indivíduos saudáveis, sendo *Candida albicans* a espécie mais prevalente, a qual pode apresentar-se

na forma leveduriforme, de pseudo-hifa ou hifa verdadeira (Figura 5) (Lamont & Jenkinson, 2010; Marsh & Martin, 2009).

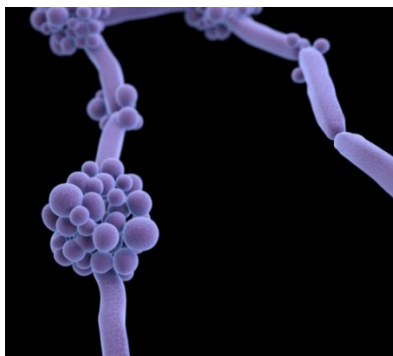


Figura 5 - Imagem tridimensional gerada em computador, representativa do fungo *Candida*, baseada em microscopia eletrônica de varredura. (Adaptado de <https://phil.cdc.gov/>)

Várias espécies fúngicas são constituintes da microbiota oral (Tabela 2), mas estima-se que *Candida albicans* represente cerca de 80% dos fungos isolados da cavidade oral (Marsh & Martin, 2009).

Tabela 2 - Espécies fúngicas presentes na cavidade oral. (Adaptado de Marsh & Martin, 2009)

Espécie de <i>Candida</i>	Outras espécies fúngicas
<i>Candida albicans</i>	<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>
<i>Candida glabrata</i>	<i>Aspergillus spp.</i>
<i>Candida tropicalis</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
<i>Candida krusei</i>	<i>Mucor spp.</i>
<i>Candida lusitaniae</i>	<i>Sacharomyces spp.</i>
<i>Candida dubliensis</i>	<i>Geotrichum spp.</i>
<i>Candida kefyr</i>	<i>Rhizopus spp.</i>
<i>Candida guilliermondii</i>	
<i>Candida parapsilopsis</i>	

Sendo um microrganismo oportunista, a existência de fatores que favoreçam a sua proliferação, como má higiene oral ou a presença de próteses dentárias, pode levar ao aparecimento de micoses, especialmente em pacientes com disfunção do sistema imunológico, como é o caso de pacientes idosos em longos períodos de hospitalização, transplantados ou infetados com o vírus da Imunodeficiência Humana (VIH), em que é frequente o aparecimento de estomatites protéticas associadas à candidíase (Nascimento et al., 2015; Samaranayke, 2012).

1.2.5. Enterobacteriaceae

Grande parte dos microrganismos comensais Gram-negativo que habitam o trato gastrointestinal, por vezes causadores de doença, pertencem à família *Enterobacteriaceae*. Estão descritos 44 géneros, em que 11 são mais importantes sob o ponto de vista clínico (Tabela 3). São anaeróbios facultativos, móveis ou não móveis, de oxidase negativa e catalase positiva, não formam esporos e apresentam a capacidade de fermentação da glucose e alguns da lactose (Samaranayke, 2012).

A capacidade de fermentação da lactose permite agrupar diferentes géneros, as denominadas coliformes que fermentam a lactose: *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, *Citrobacter spp.*, e as que não fermentam a lactose: *Salmonella spp.*, *Shigella spp.*, e *Proteus spp.* (Barroso et al., 2014).

Cerca de 15% da população pode conter *Enterobacteriaceae* na sua cavidade oral, como flora comensal e transitória, concentração que pode aumentar com a idade ou com a diminuição do fluxo salivar. As bactérias da família *Enterobacteriaceae* possuem potencial patogénico, relativamente às quais os pacientes imunodeprimidos são especialmente suscetíveis a infeção. A bactéria *Escherichia coli* é a mais comum e importante, sendo um comensal endógeno do trato intestinal humano, cuja transmissão é feita por via endógena ou exógena. É responsável por infeções na comunidade e no meio hospitalar tais como gastroenterite, meningites, septicémia e infeções no trato urinário (Peker et al., 2014; Raiyani et al., 2015; Samaranayke, 2012).

Tabela 3 – Principais bactérias da família *Enterobacteriaceae* causadoras de doença. (Adaptado de Samaranayke, 2012)

Género	Espécies representativas (nº de espécies)
<i>Escherichia</i>	<i>E. coli</i> (5 espécies)
<i>Shigella</i>	<i>S. dysenteriae</i>
	<i>S. flexneri</i>
	<i>S. boydii</i>
	<i>S. sonnei</i>
<i>Salmonella</i>	<i>S. typhi</i>
	<i>S. typhimurium</i> (7 subgrupos)
<i>Klebsiella</i>	<i>K. pneumoniae</i> (7 espécies)
<i>Morganella</i>	<i>M. morganii</i> (2 espécies)
<i>Proteus</i>	<i>P. mirabilis</i> (4 espécies)
<i>Providencia</i>	<i>P. stuartii</i> (5 espécies)
<i>Yersinia</i>	<i>Y. pestis</i> (11 espécies)
<i>Citrobacter</i>	<i>C. freundii</i> (4 espécies)
<i>Enterobacter</i>	<i>E. cloacae</i> (13 espécies)
<i>Serratia</i>	<i>S. marcescens</i> (10 espécies)

1.2.6. Biofilme Dentário

Os microrganismos encontram-se muitas vezes integrados em comunidades mistas que aderem a superfícies ou interfaces, envolvidas por uma densa matriz exopolissacarídica. Estas comunidades complexas e dinâmicas designam-se por biofilmes. A matriz que os envolve funciona como um reservatório de sustento e como cimento, unindo os organismos entre si e às superfícies (Huang, Li, & Gregory, 2011; Samaranayke, 2012).

Os microrganismos constituintes do biofilme são metabólica e morfológicamente diferentes de bactérias em suspensão, possuindo normalmente maior resistência aos antibióticos e desinfetantes. Cerca de 65% das infeções humanas de etiologia bacteriana poderão envolver biofilmes (Nascimento & Taveira, 2001).

O biofilme trata-se, portanto de uma comunidade microbiana constituída por uma flora complexa, responsável pela placa dentária, que passa por várias fases de formação (Figura 6):



Figura 6 - Fases de formação do biofilme desde a (A) formação de película adquirida, (B) adesão inicial, (C) maturação, e a (D) dispersão. (Adaptado de Jenkinson & Lamont, 2010)

(A) **Formação da película adquirida:** O primeiro passo da formação do biofilme oral é a fixação da película adquirida, que consiste na deposição de uma fina camada de proteínas, derivada das glicoproteínas salivares, à superfície do dente. As proteínas são assim adsorvidas e reorganizadas, preparando a nova película para a adesão das bactérias pioneiras (Jenkinson & Lamont, 2010).

(B) **Adesão inicial:** Neste segundo passo da formação do biofilme, há adesão bacteriana à película, feita por bactérias pioneiras, principalmente *Actinomyces spp.*, *Streptococcus spp.*, *Haemophilus spp.*, *Capnocytophaga spp.*, *Veillonella spp.*, e *Neisseria* (Huang et al., 2011; Marsh & Martin, 2009).

(C) **Maturação:** Após a adesão das bactérias pioneiras, estas fornecem sítios de ligação específicos que diretamente, ou através de glicoproteínas salivares, promovem mais colonização bacteriana, e subsequentemente o desenvolvimento do biofilme (Jenkinson & Lamont, 2010). Uma vez que as bactérias tenham aderido às superfícies existentes, o desenvolvimento e maturação ocorre através da acumulação de organismos adicionais. Ao ocorrer a maturação do biofilme, temos não só um aumento de volume como o aparecimento de outras bactérias tais como *Fusobacterium nucleatum*, *Treponema spp.*, *Tannerella forsythensis*, *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, entre outras (Huang et al., 2011; Marsh & Martin, 2009).

(D) **Dispersão:** Posteriormente à maturação do biofilme, as bactérias dispersam como células separadas ou em aglomerados (Huang et al., 2011; Jenkinson & Lamont, 2010). Esta última fase de formação do biofilme, surge possivelmente devido a duas razões. Em primeiro lugar pela limitação de nutrientes no local, o que leva a uma procura de um novo local com mais nutrientes que permitam o continuar do crescimento bacteriano. A segunda razão prende-se com a resposta imunitária do hospedeiro, que tenta limitar o desenvolvimento do biofilme (Huang et al., 2011).

A placa dentária é o termo geral dado à estrutura microbiana complexa, de cor amarelada, que se desenvolve nas superfícies dos dentes, embebida numa matriz de polímeros de origem salivar e bacteriana. A diversidade microbiana da placa aumenta ao longo do tempo, devido a ondas sucessivas de sucessão microbiana e crescimento subsequente. A placa que se torna calcificada é referida como cálculo dentário ou tártaro. Contrariamente à matéria alba, constituída por restos de alimentos e microrganismos não aderidos, a placa dentária não é facilmente removida por jato de água (Jenkinson & Lamont, 2010).

A composição microbiana, a rapidez e a frequência de formação dos biofilmes pode variar inter e intra-individualmente, dependendo por exemplo do dente em questão. A presença de placa bacteriana é maior na ausência de higiene oral e em áreas anatomicamente protegidas das defesas do hospedeiro, como as fissuras oclusais ou os espaços interproximais (Samaranayake, 2012).

A flora comensal da cavidade oral encontra-se em homeostase não só com diversos fatores ambientais, mas também com as defesas do hospedeiro. Quando este equilíbrio é perturbado, decorre uma sequência patogénica, ativando a resposta imunitária do hospedeiro e inflamatória dos tecidos, podendo conduzir a várias doenças da cavidade oral como a cárie e a doença periodontal, entre outras (Kumar, 2013; Marsh & Martin, 2009).

Devem assim ser estudadas estratégias para travar o seu aparecimento. Jenkinson e Lamont (2005), referem que uma vez que a maturação da placa parece precisar de sinais bacterianos específicos, seria vantajoso parar o desenvolvimento do biofilme no seu estado comensal, bloqueando a comunicação bacteriana.

1.3. CONTAMINAÇÃO DAS CERDAS DE ESCOVAS DENTÁRIAS

O termo contaminação deriva do latim *contaminatione*, que significa transmissão de uma doença, contágio ou infecção (Dicionário de Língua Portuguesa Infopedia, 2018).

Segundo Frazelle e Munro (2012), contaminação é a retenção e sobrevivência de organismos infecciosos, que pode ocorrer em entes animados ou inanimados.

Em 1920, Cobb e Mass foram os primeiros a referir o potencial das escovas dentárias como reservatórios de microrganismos potencialmente patogénicos, expressando a importância da temática da contaminação das cerdas das escovas dentárias. Cobb (1920) referiu que após instruir um paciente a mergulhar as cerdas da sua escova em álcool, antes e após o seu uso, este recuperou de uma infecção oral.

As escovas dentárias podem então ter um papel muito importante na transmissão de doenças, estabelecendo-se uma conexão entre a presença de doenças sistémicas e da cavidade oral, e os microrganismos presentes nas cerdas. Existe uma relação significativa entre o uso da escova dentária como instrumento de higiene oral e a retenção de microrganismos nas cerdas dentárias, sendo que a contaminação surge logo após a primeira utilização e aumenta com o uso sucessivo (Ferreira et al., 2012; Frazelle & Munro, 2012; Peker et al., 2014).

Glass e Lare referiram em 1986 o potencial de contaminação das cerdas de escovas dentárias e defenderam que mesmo após uma única utilização, estas poderiam ser contaminadas com distintas espécies de microrganismos que permaneceriam viáveis entre 24 horas a uma semana após a escovagem, algo que foi reforçado mais tarde por vários estudos (Basman et al., 2016; Frazelle & Munro, 2012; Mialhe et al., 2007; Nelson-Filho et al., 2000; Peker et al., 2014).

É comum que os indivíduos se traumatizem ao usar a escova dentária, por má técnica de higiene oral ou por inflamação das gengivas. Este trauma pode ser uma porta de entrada sistémica para microrganismos (Ankola et al., 2009). As escovas dentárias podem ser contaminadas por microrganismos como *Streptococcus*, *Staphylococcus*, enterobactérias, fungos e vírus (Naik et al., 2015; Nascimento et al., 2015).

Glass (1986) encontrou o vírus do herpes tipo 1 (HSV-1) numa escova dentária seca, mantendo-se viável e transmissível durante pelo menos 48 horas. A transmissão de inúmeras doenças infetocontagiosas como a sífilis, difteria, tuberculose, hepatite e a Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (SIDA) é, portanto, possível através da contaminação das cerdas de escovas dentárias (Ankola et al., 2009; Gonçalo & Mialhe, 2009).

Esta contaminação pode surgir através da cavidade oral em si, ou do meio ambiente envolvente, pelos compartimentos onde estão armazenadas, as mãos do seu utilizador, contacto com outras escovas, favorecendo a contaminação cruzada, e os aerossóis a que são expostas. As escovas dentárias são regularmente armazenadas na casa de banho, perto da sanita e do lavatório, o que propicia o crescimento microbiano, pois mesmo pequenas gotículas da descarga da sanita libertam milhões de bactérias para o ambiente envolvente (Basman et al., 2016; Peker et al., 2014; Taji & Rogers, 1998).

1.3.1. Fatores que influenciam o crescimento microbiano

A variedade de microrganismos na escova dentária será em parte o espelho dos microrganismos presentes na cavidade oral do seu utilizador, bem como do meio ambiente envolvente e do local de acondicionamento (Ankola, Hebbal, & Eshwar, 2009; Peker et al., 2015).

Segundo a literatura, existe alguma controvérsia em relação ao perfil de acondicionamento das escovas dentárias, sendo fundamental que seja perceptível qual o que diminui a taxa de sobrevivência dos microrganismos nas mesmas (Frazelle & Munro, 2012; Mialhe et al., 2007).

Dayoub, Rusilko e Gross (1977) referiram que escovas dentárias armazenadas em compartimentos fechados, como o armário da casa de banho, possuíam carga microbiana mais elevada do que escovas dentárias colocadas em cima do lavatório.

Vários autores sugerem que o armário não é o local mais adequado para o armazenamento das escovas dentárias, e aconselham a não utilizar as tampas protetoras de cerdas, pelo facto de estes compartimentos fechados favorecerem um ambiente húmido

e quente, podendo beneficiar o crescimento microbiano (Ferreira et al., 2012; Queiroz et al., 2013; Peker et al., 2014).

Frazelle e Munro (2012) corroboram estas sugestões, e referem que escovas dentárias armazenadas em condições mais arejadas possuem uma quantidade de microrganismos mais baixa do que aquelas acondicionadas em espaços fechados.

Outros autores, como Mialhe e os seus colaboradores (2007), defendem por outro lado, que o armário permite evitar a contaminação das cerdas por bactérias provenientes de aerossóis da descarga da sanita, sendo que o lavatório é um local por si só mais sujeito a contaminação.

A ADA (2011) preconiza várias recomendações e conselhos em relação aos cuidados a ter com as escovas dentárias:

- Substituir as escovas dentárias a cada 3 ou 4 meses de utilização, ou antes se as cerdas se encontrarem gastas devido ao uso;
- Não partilhar escovas dentárias, para que seja evitada a transmissão de microrganismos;
- Lavar cuidadosamente a escova com água, incluindo o cabo, após a escovagem para remover qualquer pasta dentífrica e detritos remanescentes;
- Remover o excesso de água, evitando o uso de toalhas para a secagem;
- Guardar as escovas numa posição vertical e num local limpo, seco e arejado, sendo que recipientes fechados e húmidos são desaconselhados;
- Se mais de uma escova for armazenada no mesmo suporte ou área, estas devem estar separadas por forma a evitar a contaminação cruzada.

As recomendações da ADA são corroboradas por vários autores, que também referem que, em caso de doença, o indivíduo deve substituir a sua escova dentária pelo menos uma vez por mês, e que deve existir uma preocupação especial em grupos de alto risco e em indivíduos com sistema imunológico comprometido (Contreras et al., 2010; Glass & Lare, 1986). Nestes casos, a ADA sugere a submersão das escovas dentárias em soluções antissépticas e a trocar de escova dentária mais frequentemente (Basman et al., 2016).

Vários autores referem que não só a escova dentária deve ser armazenada longe da sanita, como a descarga do autoclismo deve ser feita com a tampa da sanita para baixo. A disseminação de aerossóis que contenham matéria fecal pode contaminar as cerdas das

escovas dentárias, incluindo a matéria fecal de pessoas que não as utilizadoras da escova em causa (Ankola et al., 2009; Limeback, 2012; Yadav & Road, 2015).

Outro aspeto de grande preocupação é a prática comum de troca de escovas entre parceiros e membros de família (Ferreira et al., 2012). O CDC alerta também para o grande risco de contaminação cruzada em ambientes escolares, o que acontece muitas vezes devido a um grau elevado de troca e mau armazenamento das escovas (Basman et al., 2016).

Yadav e Road (2015) afirmam que a lavagem das mãos é um passo muito importante, bem como evitar a passagem das mãos pelas cerdas da escova, e deve ser removido o excesso de água da escova por meio de batidas na borda da pia, após a passagem por água corrente. A escova dentária deve assim secar entre escovagens, de forma a não encorajar o crescimento microbiano, e deve ser tomado em atenção o uso da mesma pasta dentífrica por vários indivíduos, sendo também um fator que potencia a contaminação cruzada (Peker et al., 2015; Yadav & Road, 2015).

Wetzel e os seus colaboradores (2005) referem que o arranjo dos filamentos de cerdas das escovas dentárias é um fator importante relativamente à contaminação microbiana dos mesmos, sendo que um agrupamento individual dos filamentos pode diminuir a carga microbiana desses filamentos.

Apesar da lavagem reduzir o grau de contaminação das cerdas, microrganismos patogénicos residuais e outros detritos ainda permanecem nas cerdas dentárias. Nascimento e os seus colaboradores (2015) afirmam que os restos alimentares que ficam por vezes nas cerdas das escovas podem servir como nutriente e facilitar o crescimento microbiano. Desta forma, para mantê-las livres de contaminação, o processo de desinfeção deveria ser iniciado logo após a primeira utilização e mantida uma rotina diária de aplicação de antissépticos para prevenir a formação de biofilme bacteriano sobre as mesmas (Glass & Lare, 1986; Mialhe et al., 2007).

Vários agentes químicos têm sido descritos na literatura para controlo químico da placa bacteriana, e como métodos auxiliares na desinfeção de escovas dentárias. Entre estes, podem citar-se a clorhexidina a 0,12%, hipoclorito de sódio a 1%, peróxido de hidrogénio, cloreto de cetilperidínio e óleos essenciais, entre outros (Basman et al., 2016; Queiroz et al., 2013).

Para além dos métodos químicos, os métodos físicos para descontaminação das escovas dentárias apresentam-se também como rápidos e eficazes (Peker et al., 2014). Dentro destes temos a radiação micro-ondas e a descontaminação com luz ultravioleta, com emissão de um raio de luz ultravioleta e calor seco de forma constante (Ankola et al., 2009).

Vários autores sugerem que devem ser desenvolvidos mecanismos de fácil aplicabilidade para uso doméstico, que permitam a desinfeção das escovas dentárias, bem como uso de escovas descartáveis (Frazelle & Munro, 2012; Ferreira et al., 2012).

No entanto, Nelson-Filho e os seus colaboradores (2000) afirmam que muitos pacientes referem barreiras psicológicas, económicas e preocupações ambientais em substituir as escovas mais frequentemente, ou a usar escovas descartáveis, pelo que é importante o estabelecer de um protocolo de desinfeção das escovas dentárias que não necessite de um excessivo tempo extra na rotina de higiene oral diária.

Novos conceitos e ideias de escovas dentárias surgiram nos últimos tempos, em que o design da escova era modificado, ou como por exemplo, uma escova com cerdas revestidas por clorexidina (Ankola et al., 2009).

Queiroz e seus colaboradores (2013), referem que a população por eles estudada é unânime em afirmar que a escova poderá ser um instrumento para a disseminação de doenças, mas que a maioria constata não saber como é feita essa transmissão.

Peker e os seus colaboradores (2014) acreditam que a maior parte dos profissionais de saúde oral ainda considera as escovas dentárias apenas como instrumentos de controlo de placa dentária e diminuição do risco de cárie e doença periodontal, algo corroborado por Nelson-Filho e os seus colaboradores (2000), que verificaram que mais de metade dos médicos dentistas não orienta os seus pacientes sobre os cuidados a ter com as escovas dentárias.

Face ao exposto, é necessário dar ênfase à temática da contaminação microbiana das escovas dentárias, em programas preventivos e de educação para a saúde, tanto junto dos médicos dentistas como dos estudantes do curso de Mestrado Integrado em Medicina Dentária. Estes futuros profissionais vão influenciar diretamente as práticas dos seus pacientes, sendo responsáveis pela educação e instrução da população nessa matéria, tornando-se importante conhecer os seus hábitos durante o seu percurso universitário. É

assim evidente a necessidade de informar e orientar a população acerca de medidas acessíveis que combatam a contaminação das cerdas das escovas dentárias (Mialhe et al., 2007; Queiroz et al., 2013; Passos et al., 2006).

Um dos deveres de um médico dentista é o de motivar e educar os seus pacientes acerca dos seus comportamentos e hábitos de higiene oral, integrando com uma medicina dentária preventiva. Os médicos dentistas devem ser modelos para os seus pacientes, e ter conhecimento adequado acerca das práticas de higiene oral (Peker et al., 2015).

Devem, portanto, ser desenvolvidas estratégias a fim de informar, motivar e educar os estudantes universitários para que se tornem conscientes sobre a problemática da contaminação das cerdas das escovas dentárias, para que haja uma mudança para hábitos mais saudáveis (Mialhe et al., 2007; Zão, Silva & Alves, 2011).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Considerações éticas

Este estudo foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética da Cooperativa de Ensino Superior Egas Moniz (Anexo 1). Todos os participantes do estudo assinaram o Consentimento Informado (Anexo 2), após terem sido devidamente esclarecidos acerca do mesmo. A informação recolhida destinou-se unicamente a tratamento estatístico e/ou publicação, garantindo o anonimato e a confidencialidade dos participantes.

2.2. Tipo de estudo

Estudo Analítico, Experimental, Longitudinal e Prospetivo.

2.3. Objetivos

- Identificar microrganismos presentes na cavidade oral e nas cerdas das escovas dentárias de estudantes do curso de Mestrado Integrado em Medicina Dentária do IUEM;
- Verificar se o perfil de acondicionamento das escovas dentárias tem influência no crescimento microbiano;
- Caracterizar os hábitos de higiene oral dos estudantes do curso de Mestrado Integrado em Medicina Dentária do IUEM através de um questionário.

2.3.1. Hipóteses de Estudo:

H0 – O perfil de acondicionamento não tem influência no crescimento microbiano.

H1 – O perfil de acondicionamento tem influência no crescimento microbiano.

2.4. Local do estudo

O estudo decorreu nos espaços da Clínica Dentária Universitária Egas Moniz e do Laboratório de Microbiologia Aplicada Egas Moniz (LMAEM).

2.5. Amostra e critérios de inclusão e exclusão

A população alvo do presente trabalho de investigação, é composta por estudantes do 3º, 4º e 5º ano do curso de Mestrado Integrado em Medicina Dentária do IUEM, numa amostra total de 75 indivíduos.

Foram instituídos e, portanto, respeitados critérios de inclusão e exclusão, no decorrer deste estudo:

Crítérios de inclusão: Ser estudante do 3º, 4º ou 5º ano do curso de Mestrado Integrado em Medicina Dentária no IUEM, possuir destreza manual para a realização da técnica de higiene oral, ter lido e assinado o consentimento informado;

Crítérios de exclusão: Encontrar-se sob o efeito de antibióticos, antifúngicos e o inadequado cumprimento do protocolo proposto;

Na Figura 7 encontra-se exemplificada a distribuição das amostras iniciais e finais, segundo os critérios aplicados:

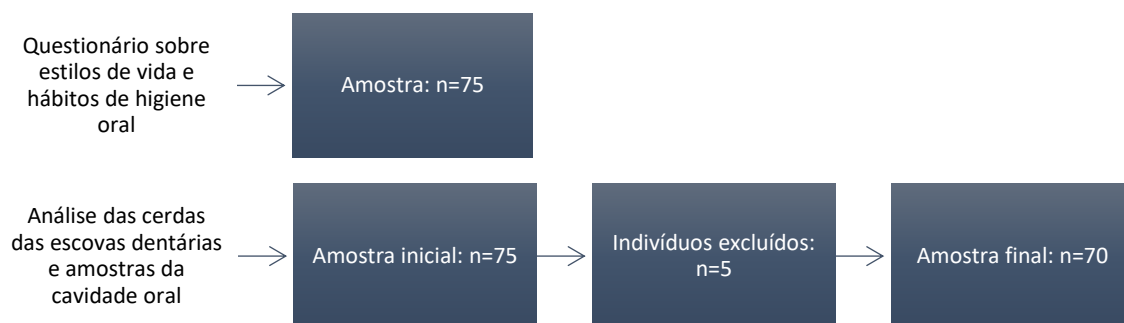


Figura 7 - Distribuição dos participantes nas amostras iniciais e finais.

Da amostra inicial (n=75) foram excluídos 5 participantes por incumprimento do protocolo proposto. Assim, a amostra final foi constituída por 70 participantes, dos quais foram analisadas as cerdas das escovas dentárias e retiradas amostras da cavidade oral.

2.6. Elaboração do questionário

Todos os participantes (n=75) preencheram um questionário (Anexo 3), de forma a recolher informação sobre o quotidiano da população alvo e hábitos de higiene oral, sendo constituído por catorze perguntas de resposta curta e fechada. Este questionário foi adaptado da versão portuguesa do *Hiroshima University Dental Behavioural Inventory*, questionário de referência em estudos do género (Albuquerque et al., 2011).

2.7. Procedimento

Foi seguido um protocolo para recolha e processamento das amostras, que se encontra exemplificado na Figura 8, e descrito em seguida:

Fase inicial

Foram entregues a cada participante duas escovas dentárias Colgate® *Slim Soft* (Figura 9), embaladas e idênticas, juntamente com o consentimento informado, o questionário e as instruções a seguir ao longo do estudo (Anexo 4), durante um período de três semanas (A).

Uma das duas escovas fornecidas é uma escova de controlo, que permanecerá sem ser utilizada, durante o período de estudo, no mesmo local que a segunda escova fornecida, utilizada na higiene oral diária de cada participante, está (B).

Para análise dos dados, os participantes foram divididos por amostragem aleatória simples, em três grupos, segundo o local de armazenamento da escova: (1) em armário fechado, (2) local aberto junto ao lavatório sem tampa, e (3) local aberto junto ao lavatório com tampa.

Todos os participantes seguiram os mesmos padrões da técnica de higiene oral recomendada, a técnica de Bass modificada, que se encontrava explicada nas instruções entregues, bem como as recomendações após cada utilização, sobre a lavagem da escova com água corrente, removendo o excesso de água da escova, e evitando a utilização de toalhas para a secagem. Recomendou-se que todos os participantes do estudo seguissem estas normas, e que não fizessem uso de elixires ou colutórios ao longo do estudo.

Foram também recolhidas amostras da cavidade oral de cada um dos participantes, no início do estudo, e decorridas as três semanas, com recurso a material básico não invasivo de observação. Foi feita a recolha através de esfregação da mucosa, utilizando uma zaragatoa estéril (C). As amostras foram colocadas em 2 ml de água peptonada tamponada estéril, de forma a assegurar a viabilidade dos microrganismos presentes, sendo de seguida transportadas para o LMAEM, e posteriormente agitadas durante 20 minutos a 120 rotações por minuto (RPM).

Foram depois realizadas diluições decimais de 10^{-2} e 10^{-3} (D). Foram inoculados 100µl de cada diluição nos meios de cultura *Trypticase Soy Agar*, *Mitis Salivarius Agar* e Gelose de Sangue (E). Deste modo, foram inoculados 100µl da diluição de 10^{-2} num meio de cultura, e 100µl da diluição de 10^{-3} noutra placa de agar com o mesmo meio de cultura.

Nos meios de cultura Agar Manitol Sal, Agar Sabouraud e Gelose MacConkey, foram inoculados 100µl da amostra pura sem diluições, proveniente diretamente dos tubos com 2 ml de água peptonada tamponada estéril, onde foram previamente colocadas as amostras.

Todos os meios de cultura foram incubados a 37°C durante 24h ou 48h. Os meios Gelose Sangue e *Mitis Salivarius Agar* foram incubados em atmosfera de anaerobiose.

Fase final

Decorridas as 3 semanas do tempo do estudo, foi então feita nova recolha de amostras da cavidade oral e processamento das mesmas, tal como foi descrito acima (F).

As escovas previamente entregues foram enumeradas com um código para identificação do grupo a que pertenciam, recolhidas em sacos esterilizados e processadas de forma a identificar os microrganismos presentes, tendo sido submergidas em 15 ml de água peptonada tamponada estéril, e agitadas durante 20 minutos a 120 RPM (G).

Foram realizadas de seguida diluições decimais de 10^{-1} e 10^{-2} (H). Posteriormente, foram inoculados 100µl de cada diluição nos meios de cultura *Trypticase Soy Agar*, *Mitis Salivarius Agar* e Gelose de Sangue (I). Deste modo, foram inoculados 100µl da diluição de 10^{-1} num meio de cultura, e 100µl da diluição de 10^{-2} noutra placa de agar com o mesmo meio de cultura.

Nos meios de cultura Agar Manitol Sal, Agar Sabouraud e Gelose MacConkey, foram inoculados 100µl da amostra pura sem diluições, proveniente diretamente dos tubos com 15 ml de água peptonada tamponada estéril, onde foram previamente submergidas as escovas para análise.

O meio de cultura *Trypticase Soy Agar* foi incubado a 30°C, de forma permitir o crescimento de microrganismos provenientes do meio ambiente. Os restantes meios de cultura foram incubados a 37°C durante 24h ou 48h. Os meios Gelose Sangue e *Mitis Salivarius Agar* foram incubados em atmosfera de anaerobiose.

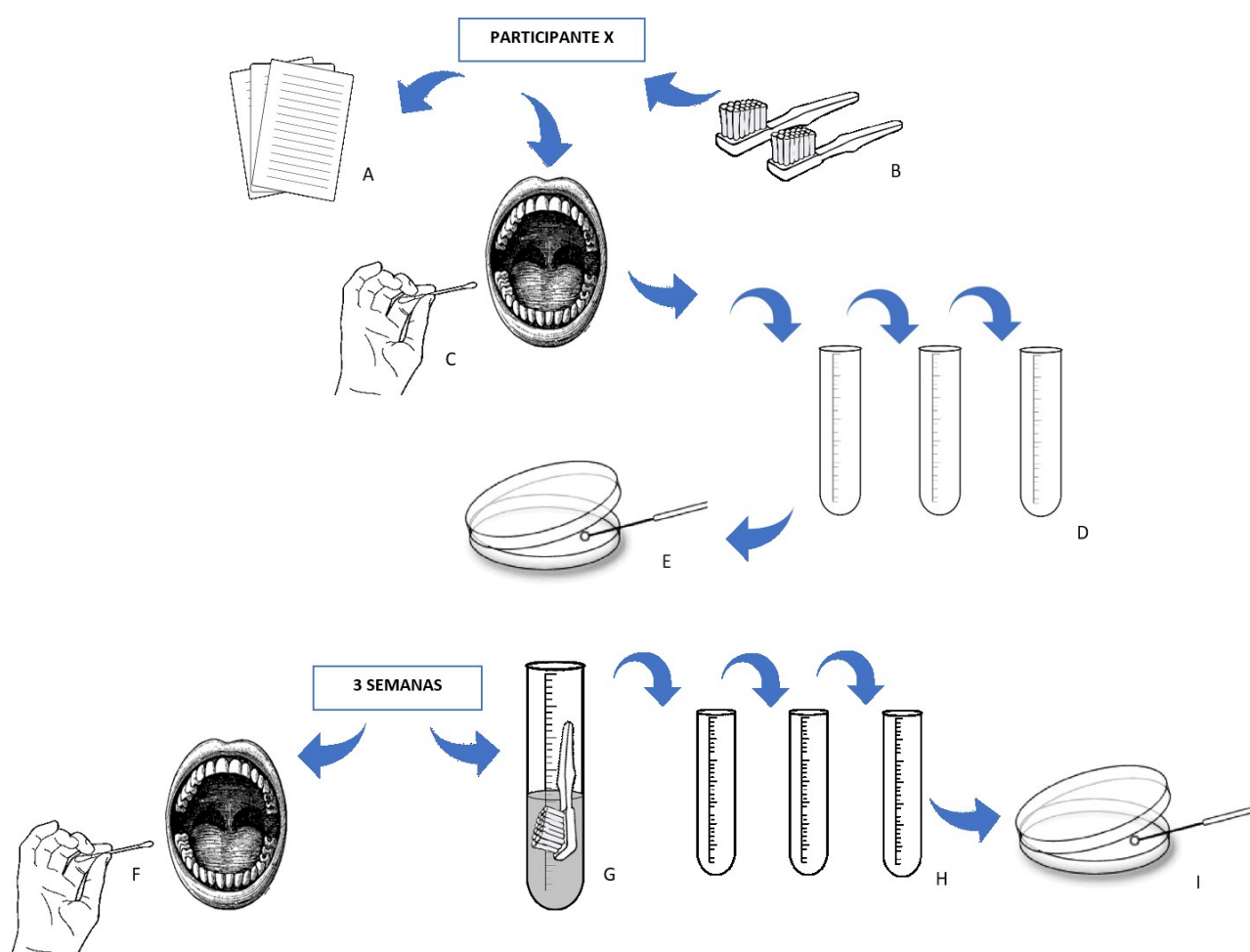


Figura 8 - Procedimento laboratorial para identificação dos microrganismos presentes nas cerdas das escovas dentárias e na cavidade oral dos participantes.



Figura 9 - Exemplo de escova dentária fornecida aos participantes do estudo.

2.8. Identificação dos microrganismos presentes

Após o período de incubação, procedeu-se à contagem das unidades formadoras de colónias (UFC) nos meios de cultura. A identificação presuntiva dos microrganismos foi feita com base no meio de cultura utilizado (Tabela 4), sendo por vezes necessárias inoculações em meios de cultura adicionais.

Tabela 4 - Meios de cultura utilizados rotineiramente em microbiologia. (Adaptado de Samaranayke, 2012)

Meios de Cultura	Microrganismos selecionados	
<i>Trypticase Soy Agar</i>	Meio não seletivo, contagem de grande variedade de microrganismos	
Gelose de Sangue	Microrganismos α hemolíticos (hemólise parcial)	
	Microrganismos β hemolíticos (hemólise total)	
	Microrganismos γ hemolíticos (sem hemólise)	
Meios de Cultura	Microrganismos selecionados	
Gelose MacConkey	Colónias vermelhas (Fermentam lactose)	(Não fermentam lactose)
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella spp.</i>
	<i>Klebsiella spp.</i>	<i>Shigella spp.</i>
Agar Manitol Sal	Colónias grandes e amarelas (Fermentam manitol)	Colónias pequenas e rosa (Não fermentam manitol)
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Sabouraud	Colónias creme	-
	Leveduras	-
<i>Mitis Salivarius Agar</i>	> 2 mm	< 1 mm
	<i>Streptococcus salivarius</i> (Colónias azul-claro com aspeto "gota")	<i>Streptococcus mitis</i> e outros <i>Streptococcus</i> orais
	<i>Streptococcus mutans</i> (Colónias azul-escuro com aspeto irregular)	<i>Enterococcus</i> (Colónias brilhantes azul-escuro ou preto)

Quando o meio de Sabouraud apresentava crescimento de leveduras, procedia-se a uma subcultura, em que as colónias eram inoculadas com uma ansa estéril no meio *CandiSelect*, para que fosse identificada a espécie em causa. Após incubação na estufa a 37° C durante 24h, era feita a sua identificação. Colónias rosas a roxo indicavam a presença de *Candida albicans* (Bio-rad Laboratories, 2008).

Na gelose de MacConkey, quando existia crescimento de colónias fermentadoras de lactose, procedia-se igualmente a uma subcultura com uma ansa estéril, neste caso para caldo triptofano, e incubação a 37°C. Após 24h de incubação, era utilizado o reagente de *Kovacs*, para o comumente chamado teste de indol, cujo objetivo é determinar a capacidade do microrganismo em produzir indol a partir do aminoácido triptofano. O indol reage com reagente de *Kovacs* e gera um complexo vermelho. O microrganismo *Escherichia coli* apresenta resultado positivo para este teste (Macwilliams, 2016).

2.9. Análise estatística

Os dados foram analisados com recurso ao programa IBM SPSS Statistics v.24, com base em metodologias de análise estatística descritiva e inferencial. Nesta última fixou-se um nível de significância de 5%.

3. RESULTADOS

3.1. Caracterização da amostra

A amostra inicial foi constituída por 75 estudantes do 3º, 4º e 5º ano do curso de Mestrado Integrado em Medicina Dentária do IUEM, com idades compreendidas entre os 20 e 36 anos, e uma idade média de $21,9 \pm 1,7$ anos. Conforme indicado na Figura 10, existe um predomínio do género feminino (77%).

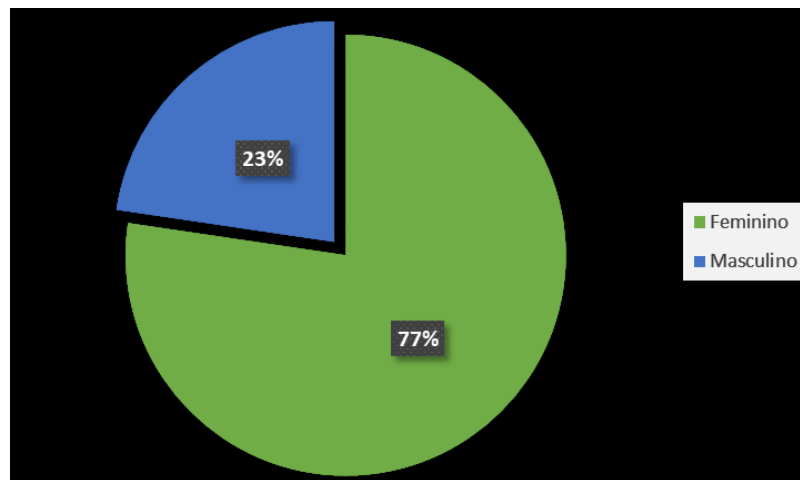


Figura 10 - Distribuição da amostra por género (n=75).

Em relação a doenças sistémicas, apenas 4 (5,3%) dos participantes mencionou a presença de patologias, sendo referidas Diabetes *Mellitus* tipo 1, Síndrome de Ehlers-Danlos e Anemia Ferropénica em 2 dos participantes.

3.1.1. Caracterização da amostra quanto aos hábitos tabágicos

Quanto aos hábitos tabágicos (Tabela 5), verificou-se que a maioria dos estudantes (73,3%) não eram fumadores. Constatou-se também que os ex-fumadores tinham deixado o hábito em média há 1,75 anos, e que os fumadores fumavam em média 4,64 cigarros por dia.

Tabela 5 - Caracterização da amostra quanto aos hábitos tabágicos.

Hábitos Tabágicos	(n=75)	(%)
Não Fumador	55	73,3
Ex-Fumador	6	8
Fumador	14	18,6

3.1.2. Caracterização da amostra quanto aos hábitos alimentares

No que concerne à ingestão de alimentos ou bebidas açucaradas, tal como evidenciado na Tabela 6, a maioria da amostra (42,6%) consumia “às vezes”, sendo que somente uma minoria (1,3%) “nunca” consumia. Relativamente à frequência de refeições diárias, 60% afirmaram realizar entre “três a quatro” refeições (Tabela 7).

Tabela 6 - Caracterização da amostra quanto ao consumo de alimentos ou bebidas açucaradas.

Frequência de consumo	(n=75)	(%)
Todos os dias	24	32
Às vezes	32	42,6
Raramente	18	24
Nunca	1	1,3

Tabela 7 - Caracterização da amostra quanto à frequência de refeições diárias.

Refeições/Dia	(n=75)	(%)
< Duas	1	1,3
Duas a Três	17	22,6
Três a Quatro	45	60
> Cinco	12	16

3.1.3. Caracterização da amostra quanto aos hábitos de higiene oral e acondicionamento das escovas dentárias

Quanto aos hábitos de higiene oral, foi avaliada a frequência de escovagem, em que 72% referiram escovar os dentes “duas vezes” por dia, e nenhuma percentagem da amostra relatou efetuar a escovagem menos que uma vez por dia (Tabela 8).

Tabela 8 - Caracterização da amostra quanto à frequência de escovagem diária.

Frequência de escovagem	(n=75)	(%)
< 1 Vez	0	0
1 Vez	1	1,3
2 Vezes	54	72
3 Vezes ou mais	20	26,6

Relativamente ao método utilizado na escovagem, concluiu-se que 55% executavam movimentos horizontais, utilizando a Técnica de Bass Modificada. É também de salientar que a maioria da amostra (69%) não possui o hábito de bochechar com elixir ou colutório.

No que respeita à frequência de substituição da escova dentária, 53,3% efetuavam a troca “*de 3 em 3 meses*”, tal como se pode observar na Tabela 9:

Tabela 9 - Frequência de substituição das escovas dentárias.

Frequência de substituição	(n=75)	(%)
Todos os meses	3	4
De 3 em 3 meses	40	53,3
De 6 em 6 meses	21	28
De ano a ano	2	2,6
Mais do que 1 ano	0	0
Só quando as cerdas começam a ficar gastas	9	12

Na Tabela 10, podemos verificar os hábitos e cuidados com a limpeza das escovas dentárias, após a sua utilização na higiene oral diária, em que grande parte da amostra (84%) “*lava a cabeça da escova com água corrente*”.

Tabela 10 - Hábitos de limpeza das escovas dentárias após a escovagem.

Após a escovagem	(n=75)	(%)
Não lava as cerdas dentárias ou cabeça da escova	1	1,3
Lava a cabeça da escova com água corrente	63	84
Bate na pia para remover o excesso de água	5	6,6
Enxuga a escova numa toalha de pano	6	8
Enxuga a escova numa toalha de papel	0	0

Em relação à forma de acondicionamento das escovas dentárias, constatou-se que 65% opta por colocar a escova num copo em cima do lavatório, sem tampa (Figura 11).

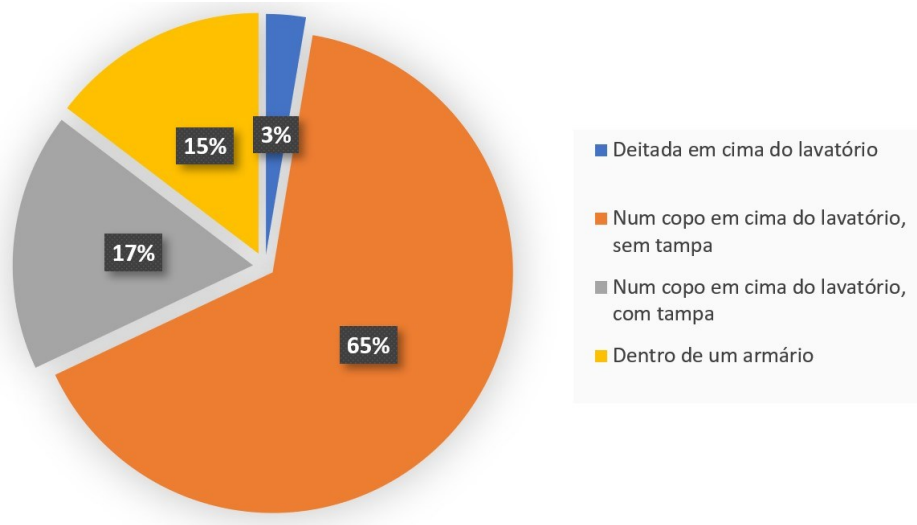


Figura 11 - Caracterização do perfil de acondicionamento das escovas dentárias.

Após a divisão dos participantes em três grupos de 25 participantes cada um, segundo o perfil de acondicionamento da escova, foram distribuídas 150 escovas dentárias, duas por participante. Da amostra inicial total (n=75) foram excluídos 5 participantes por incumprimento do protocolo proposto. Ao todo foram analisadas 140 escovas dentárias, 70 de controlo e 70 de uso na higiene oral diária. Como tal foi obtida uma amostra final total de n=70, cuja distribuição está exemplificada na Figura 12:

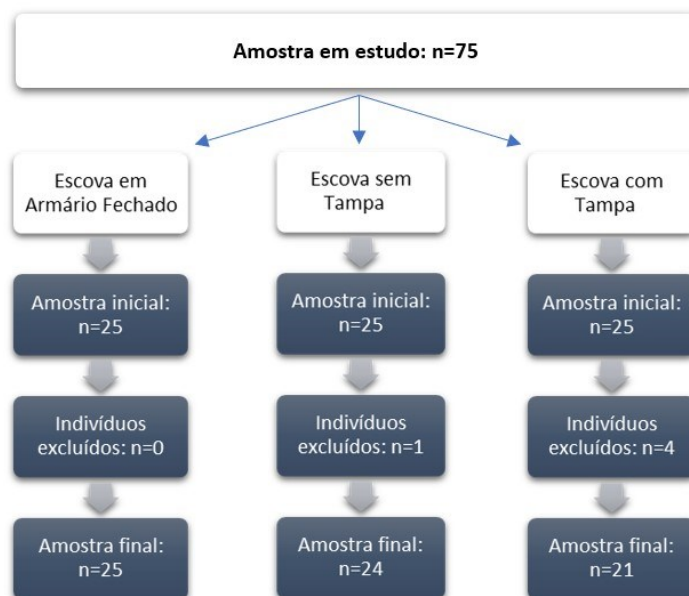


Figura 12 - Distribuição da amostra segundo o perfil de acondicionamento da escova: em armário fechado, local aberto sem tampa e local aberto com tampa.

3.2. Análise das cerdas das escovas dentárias e amostras da cavidade oral

Análise qualitativa

Verificou-se crescimento microbiano em 97,1% das cerdas de escovas dentárias utilizadas pelos participantes na sua higiene oral diária (n=70). Microrganismos do género *Staphylococcus*, *Streptococcus* e *Enterococcus*, estiveram presentes em mais de metade das amostras, em 64,2%, 61,4% e 54,2% nomeadamente. Identificaram-se também bactérias da família *Enterobacteriaceae* (37,1%), e fungos do género *Candida* em 4,2% das 70 escovas dentárias em estudo, sendo o microrganismo menos presente (Figura 13).

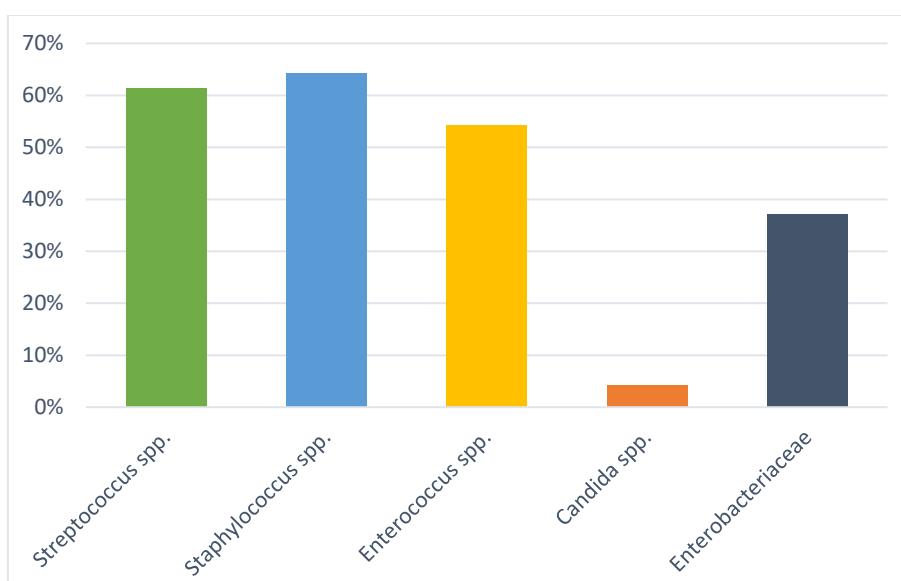


Figura 13 - Crescimento microbiano (%) nas cerdas de escovas dentárias (n=70) utilizadas na higiene oral diária pelos estudantes.

Na Figura 14 é possível observar a contaminação microbiana das escovas dentárias utilizada na higiene oral dos participantes, em função do seu perfil de acondicionamento, em armário fechado, local aberto sem tampa e local aberto com tampa, em que *Streptococcus* são os microrganismos mais prevalentes nas cerdas de escovas armazenadas em armário fechado (72%) e *Staphylococcus* nas escovas sem tampa (70,8%) e com tampa (66,6%). As escovas armazenadas num local aberto sem tampa apresentaram uma maior concentração de *Enterococcus* (62,5%) que os outros grupos, e foi observada contaminação por *Enterobacteriaceae* em percentagens semelhantes nos três grupos. Apenas uma escova de cada grupo apresentava contaminação por *Candida*.

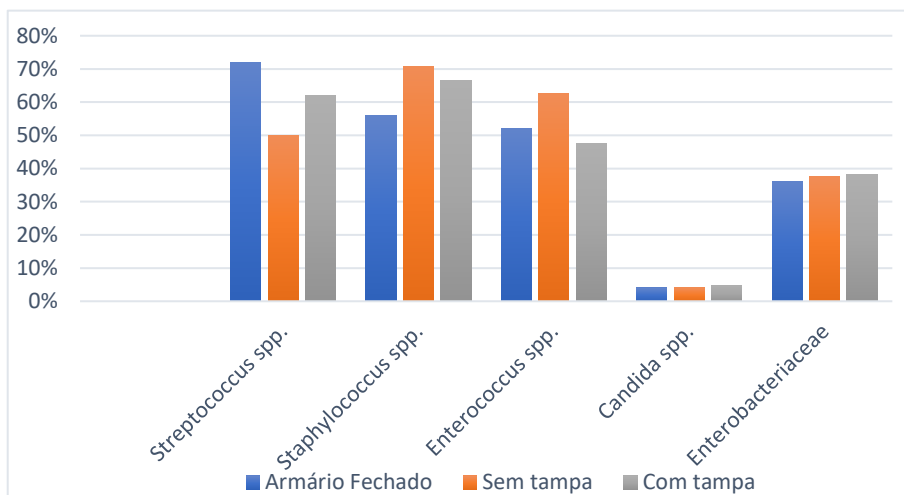


Figura 14 - Crescimento microbiano (%) nas cerdas de escovas dentárias utilizadas na higiene oral, em função do seu perfil de acondicionamento.

Pode ser observada com mais detalhe a contaminação microbiana das cerdas das escovas na Tabela 11, na qual se encontram enumerados todos os microrganismos identificados neste estudo:

Tabela 11 - Frequência de amostras com crescimento microbiano nas cerdas de escovas dentárias (n=70) utilizadas na higiene oral, em função do seu perfil de acondicionamento.

	Escova em Armário Fechado		Escova sem Tampa		Escova com Tampa	
	Frequência	(%)	Frequência	(%)	Frequência	(%)
Microrganismos anaeróbios totais	23	92	21	87,5	16	76,1
Microrganismos α hemolíticos	15	60	5	20,8	5	23,8
Microrganismos β hemolíticos	3	12	0	0	0	0
Microrganismos γ hemolíticos	12	48	23	95,8	12	57,1
Microrganismos aeróbios viáveis	25	100	23	95,8	20	95,2
<i>Staphylococcus aureus</i>	13	52	13	54,1	12	57,1
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	6	24	11	45,8	10	47,6
<i>Enterobacteriaceae</i>	9	36	9	37,5	8	38
<i>E. coli</i>	3	12	2	8,3	5	23,8
Bolores e Leveduras	7	28	1	4,1	3	14,2
<i>Candida albicans</i>	1	4	1	4,1	1	4,7
<i>Enterococcus</i>	13	52	15	62,5	10	47,6
<i>Streptococcus</i> Orais	18	72	12	50	13	61,9
<i>Streptococcus mitis</i>	12	48	8	33,3	11	52,3
<i>Streptococcus salivarius</i>	7	28	4	16,6	5	23,8
<i>Streptococcus constellatus</i>	2	8	2	8,3	2	9,5
<i>Streptococcus mutans</i>	7	28	6	25	7	33,3

Relativamente às escovas dentárias de controlo, que permaneceram no mesmo local durante as três semanas do estudo, sem serem utilizadas, foram encontradas frequências de contaminação inferiores, embora similares, relativamente às cerdas das escovas dentárias utilizadas na higiene oral. No entanto, as cerdas das escovas dentárias de controlo apresentavam menores quantidades de UFC. Nestas amostras, *Staphylococcus* foram os microrganismos mais presentes (40%), e não foi encontrado qualquer indício de contaminação por *Candida* em nenhuma das escovas.

Tabela 12 - Frequência de amostras com crescimento microbiano nas cerdas de escovas dentárias (n=70) de controlo.

Microrganismos	Frequência	(%)
<i>Streptococcus spp.</i>	18	25,7
<i>Staphylococcus spp.</i>	28	40
<i>Enterococcus spp.</i>	17	24,2
<i>Candida spp.</i>	0	0
<i>Enterobacteriaceae</i>	13	18,5

Nas Tabelas 13, 14 e 15, é possível observar a frequência de amostras com crescimento microbiano nas escovas dentárias utilizadas na higiene oral comparativamente com as escovas dentárias de controlo, nos vários perfis de acondicionamento.

Tabela 13 - Frequência de amostras com crescimento microbiano nas cerdas de escovas dentárias (n=25) em armário fechado.

Microrganismos	Escova utilizada		Escova de Controlo	
	Frequência	(%)	Frequência	(%)
<i>Streptococcus spp.</i>	18	72	13	52
<i>Staphylococcus spp.</i>	14	56	7	28
<i>Enterococcus spp.</i>	13	52	6	24
<i>Candida spp.</i>	1	4	0	0
<i>Enterobacteriaceae</i>	9	36	4	16

Tabela 14 - Frequência de amostras com crescimento microbiano nas cerdas de escovas dentárias (n=24) sem tampa.

Microrganismos	Escova utilizada		Escova de Controle	
	Frequência	(%)	Frequência	(%)
<i>Streptococcus spp.</i>	12	50	3	12,5
<i>Staphylococcus spp.</i>	17	70,8	7	29,1
<i>Enterococcus spp.</i>	15	62,5	5	20,8
<i>Candida spp.</i>	1	4,1	0	0
<i>Enterobacteriaceae</i>	9	37,5	5	20,8

Tabela 15 - Frequência de amostras com crescimento microbiano nas cerdas de escovas dentárias (n=21) com tampa.

Microrganismos	Escova utilizada		Escova de Controle	
	Frequência	(%)	Frequência	(%)
<i>Streptococcus spp.</i>	13	61,9	2	9,5
<i>Staphylococcus spp.</i>	14	66,6	14	66,6
<i>Enterococcus spp.</i>	10	47,6	6	28,5
<i>Candida spp.</i>	1	4,7	0	0
<i>Enterobacteriaceae</i>	8	38	4	19

Na Tabela 16 é possível verificar com mais detalhe a contaminação pelos microrganismos em estudo nas cerdas das escovas de controle, em função do local onde permaneceram durante o estudo.

Foram encontradas percentagens semelhantes de *Enterobacteriaceae* nos três tipos de perfil de acondicionamento, 16% em escovas no armário fechado, 20,8% para escovas sem tampa e 19% para escovas com tampa. No entanto, a contaminação por *Streptococcus* orais foi bastante superior nas escovas em armário fechado (52%), em relação às escovas sem tampa (12,5%) e com tampa (9,5%).

Tabela 16 - Frequência de amostras com crescimento microbiano nas cerdas de escovas dentárias (n=70) de controlo, em função do seu perfil de acondicionamento.

	Escova em Armário Fechado		Escova sem Tampa		Escova com Tampa	
	Frequência	(%)	Frequência	(%)	Frequência	(%)
Microrganismos anaeróbios totais	21	84	16	66,6	12	57,1
Microrganismos α hemolíticos	6	24	6	25	6	28,5
Microrganismos β hemolíticos	1	4	1	4,1	0	0
Microrganismos γ hemolíticos	20	80	12	50	10	47,6
Microrganismos aeróbios viáveis	17	68	15	62,5	17	80,9
<i>Staphylococcus aureus</i>	5	20	2	8,3	9	42,8
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2	8	5	20,8	5	23,8
<i>Enterobacteriaceae</i>	4	16	5	20,8	4	19
<i>E. coli</i>	2	8	2	8,3	0	0
Bolores e Leveduras	2	8	0	0	0	0
<i>Candida albicans</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Enterococcus</i>	6	24	5	20,8	6	28,5
<i>Streptococcus Orais</i>	13	52	3	12,5	2	9,5
<i>Streptococcus mitis</i>	6	24	1	4,1	2	9,5
<i>Streptococcus salivarius</i>	5	20	1	4,1	0	0
<i>Streptococcus constellatus</i>	1	4	0	0	0	0
<i>Streptococcus mutans</i>	3	12	1	4,1	0	0

Análise quantitativa

Aquando da quantificação do número de microrganismos isolados nos meios de cultura, verificou-se que o nível de contaminação das cerdas das escovas dentárias utilizadas na higiene oral diária pelos estudantes variou bastante (Figura 15). Assim, foram estabelecidos intervalos de concentração de UFC/escova, adaptados dos estudos de Rodrigues, Motter, Pergoraro, Menoli & Menolli (2012) e Young (2016):

- $X < 300$ UFC/escova;
- $300 \leq X < 3000$ UFC/escova;
- $3000 \leq X < 30\ 000$ UFC/escova;
- $X \geq 30\ 000$ UFC/escova.

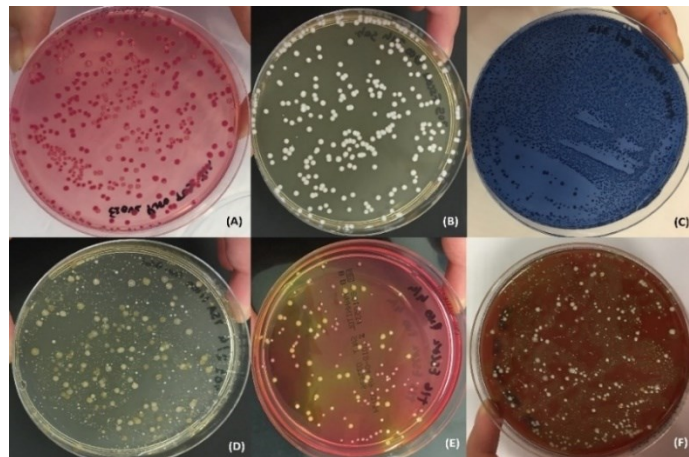


Figura 15 - Crescimento microbiano exemplificativo em vários meios de cultura. (A) - Gelose MacConkey; (B) - Sabouraud; (C) - Mitis Salivarius Agar; (D) - Trypticase Soy Agar; (E) - Agar Manitol Sal; (F) - Gelose de Sangue.

Na Tabela 17 é possível observar a variação dos intervalos de concentração UFC/escova:

Tabela 17 - Crescimento microbiano (UFC/Escova) nas cerdas de escovas dentárias utilizadas na higiene oral, em função do seu perfil de acondicionamento.

Microorganismos	UFC/Escova								Escova em Armário Fechado
	X < 300		300 ≤ X < 3000		3000 ≤ X < 30 000		X ≥ 30 000		
	Frequência	(%)	Frequência	(%)	Frequência	(%)	Frequência	(%)	
<i>Streptococcus spp.</i>	0	0	2	11,1	5	27,7	11	61,1	Escova em Armário Fechado
<i>Staphylococcus spp.</i>	6	42,8	4	28,5	3	21,4	1	7,1	
<i>Enterococcus spp.</i>	0	0	6	46,1	4	30,7	3	23	
<i>Candida spp.</i>	0	0	1	100	0	0	0	0	
<i>Enterobacteriaceae</i>	1	11,1	4	44,4	1	11,1	3	33,3	
Microorganismos	UFC/Escova								Escova sem Tampa
	X < 300		300 ≤ X < 3000		3000 ≤ X < 30 000		X ≥ 30 000		
	Frequência	(%)	Frequência	(%)	Frequência	(%)	Frequência	(%)	
<i>Streptococcus spp.</i>	0	0	5	41,6	1	8,3	6	50	Escova sem Tampa
<i>Staphylococcus spp.</i>	1	5,8	8	47	7	41,1	1	5,8	
<i>Enterococcus spp.</i>	2	13,3	4	26,6	8	53,3	1	6,6	
<i>Candida spp.</i>	0	0	1	100	0	0	0	0	
<i>Enterobacteriaceae</i>	0	0	0	0	3	33,3	6	66,6	
Microorganismos	UFC/Escova								Escova com Tampa
	X < 300		300 ≤ X < 3000		3000 ≤ X < 30 000		X ≥ 30 000		
	Frequência	(%)	Frequência	(%)	Frequência	(%)	Frequência	(%)	
<i>Streptococcus spp.</i>	0	0	5	38,4	1	7,6	7	53,8	Escova com Tampa
<i>Staphylococcus spp.</i>	3	21,4	4	28,5	4	28,5	3	21,4	
<i>Enterococcus spp.</i>	0	0	2	20	2	20	6	60	
<i>Candida spp.</i>	0	0	1	100	0	0	0	0	
<i>Enterobacteriaceae</i>	1	12,5	1	12,5	3	37,5	3	37,5	

Em todos os grupos, mais de metade das contagens de *Streptococcus* encontram-se dentro do último intervalo: $X \geq 30\,000$ UFC/escova (Figura 16). Obtiveram-se concentrações de *Staphylococcus* na ordem de $300 \leq X < 3000$ UFC/escova em 47,05% das escovas sem tampa, abaixo de 300 UFC/escova em 42,85% das escovas em armário fechado e dentro dos intervalos dois e três para a maioria das escovas dentárias com tampa (Figura 17). Nos microrganismos do género *Enterococcus* ocorreu um maior crescimento de UFC/escova no grupo de escovas dentárias com tampa, em que 60% das contagens se situam no último intervalo de valores, com mais de 30 000 UFC/escova, contrastando com o grupo de escovas sem tampa (6,6%) e em armário fechado (23,07%) (Figura 18). Todas as cerdas de escovas dentárias contaminadas por *Candida* apresentavam valores na ordem dos $300 \leq X < 3000$ UFC/escova (Figura 19). Ocorreu contaminação por *Enterobacteriaceae* superior a 30 000 UFC/escova na maioria (66,66%) das escovas sem tampa (Figura 20).

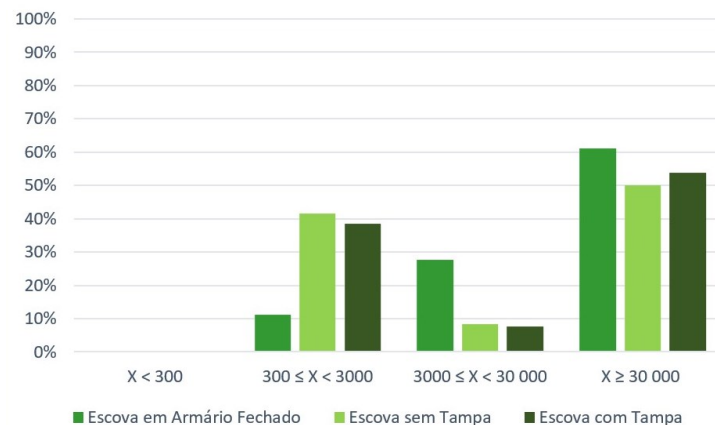


Figura 16 - Crescimento microbiano (UFC/Escova) de *Streptococcus spp.* nas cerdas de escovas dentárias utilizadas na higiene oral, em função do seu perfil de acondicionamento.

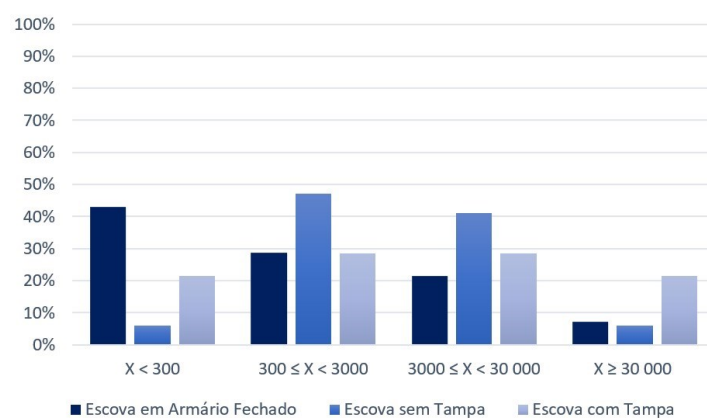


Figura 17 - Crescimento microbiano (UFC/Escova) de *Staphylococcus spp.* nas cerdas de escovas dentárias utilizadas na higiene oral, em função do seu perfil de acondicionamento.

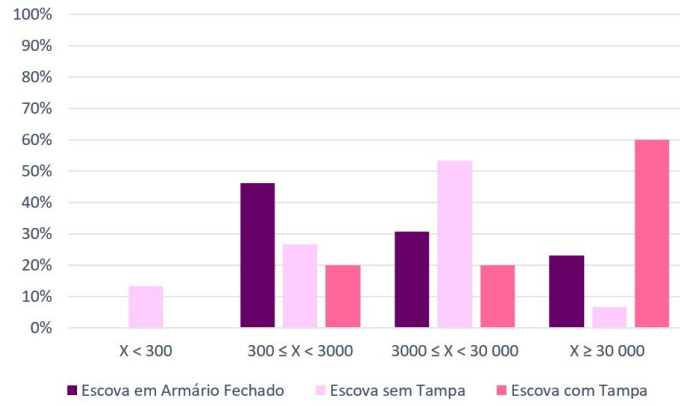


Figura 18 - Crescimento microbiano (UFC/Escova) de *Enterococcus spp.* nas cerdas de escovas dentárias utilizadas na higiene oral, em função do seu perfil de acondicionamento.

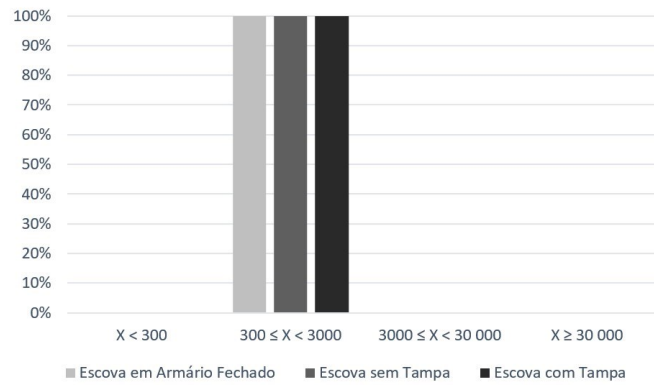


Figura 19 - Crescimento microbiano (UFC/Escova) de *Candida spp.* nas cerdas de escovas dentárias utilizadas na higiene oral, em função do seu perfil de acondicionamento.

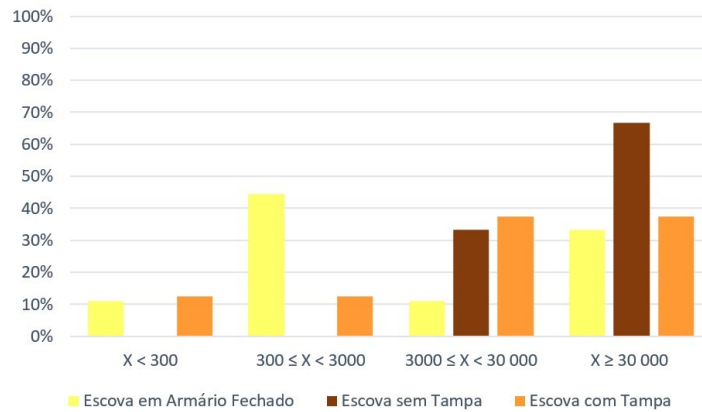


Figura 20 - Crescimento microbiano (UFC/Escova) de *Enterobacteriaceae* nas cerdas de escovas dentárias utilizadas na higiene oral, em função do seu perfil de acondicionamento.

3.2.1. Análise Estatística

Análise qualitativa

Para cada um dos microrganismos e grupos de microrganismos considerados, foi avaliada a existência de crescimento bacteriano nas escovas dentárias utilizadas na higiene oral e respectivas escovas dentárias de controlo. Os resultados das análises encontram-se resumidos na Tabela 18. Os valores destacados a negrito identificam diferenças estatisticamente significativas entre a proporção de crescimento verificada nos dois grupos, em que $p \leq 0,05$.

Tabela 18 – Avaliação da presença/ausência de crescimento bacteriano verificado nas escovas dentárias utilizadas na higiene oral e nas respectivas escovas dentárias de controlo, em função do perfil de acondicionamento.

	Significância estatística (p)		
	Escova em Armário Fechado	Escova sem Tampa	Escova com Tampa
Microrganismos anaeróbios totais	0,667 ^b	0,050^b	NA
Microrganismos α hemolíticos	0,010^a	0,731 ^a	0,726 ^a
Microrganismos β hemolíticos	0,609 ^b	1,000 ^b	NA
Microrganismos γ hemolíticos	0,018^a	0,014^a	0,537 ^a
Microrganismos aeróbios viáveis	0,004^b	0,004^a	0,343 ^b
<i>Staphylococcus aureus</i>	0,018^a	0,001^a	0,355 ^a
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0,247 ^b	0,131 ^a	0,107 ^a
<i>Enterobacteriaceae</i>	0,107 ^a	0,204 ^a	0,172 ^a
<i>E. coli</i>	1,000 ^b	1,000 ^b	0,048^b
Bolores e Leveduras	0,138 ^b	1,000 ^b	0,232 ^b
<i>Candida albicans</i>	1,000 ^b	1,000 ^b	1,000 ^b
<i>Enterococcus</i>	0,041^a	0,003^a	0,204 ^a
<i>Streptococcus orais</i>	0,077 ^a	0,005^a	<0,001^a
<i>Streptococcus mitis</i>	0,077 ^a	0,023^b	0,003^a
<i>Streptococcus salivarius</i>	0,508 ^a	0,348 ^b	0,048^b
<i>Streptococcus constellatus</i>	1,000 ^b	0,489 ^b	0,488 ^b
<i>Streptococcus mutans</i>	0,157 ^a	0,097 ^b	0,009^b

a. Teste do Qui-quadrado

b. Teste Exato de Fisher

Foi também avaliada a existência de crescimento nas escovas dentárias utilizadas na higiene oral, em função dos três grupos de perfis de acondicionamento, tendo-se verificado diferenças estatisticamente significativas na colonização por:

- microrganismos α hemolíticos ($p=0,007$);
- microrganismos β hemolíticos ($p=0,031$);
- *Streptococcus* orais ($p=0,001$).

Análise quantitativa

Os indicadores descritivos da quantidade total de microrganismos anaeróbios presentes, em função dos perfis de acondicionamento está apresentada na Tabela 19. Nesta encontram-se indicadas as frequências, valores mínimos e máximos, médias e desvio padrão de cada grupo.

Tabela 19 – Indicadores descritivos da quantidade total de microrganismos anaeróbios presente, para os vários perfis de acondicionamento.

	Frequência	Média log(UFC)	Desvio Padrão	Mínimo log(UFC)	Máximo log(UFC)
Escova com tampa	16	5,42	1,26	4	7
Escova com tampa (controle)	12	3,46	0,72	2	4
Escova sem tampa	21	5,08	1,11	3	7
Escova sem tampa (controle)	16	3,59	0,89	2	5
Escova em armário fechado	23	5,63	0,65	4	7
Escova em armário fechado (controle)	21	3,51	0,86	2	6

Na Tabela 20 é apresentado o resultado da análise inferencial comparativa dos valores médios de microrganismos anaeróbios presentes, em função dos vários perfis de acondicionamento, sendo possível identificar diferenças estatisticamente significativas (valores destacados a negrito).

Tabela 20 – Análise inferencial comparativa dos valores médios de microrganismos anaeróbios presentes, em função do perfil de acondicionamento.

p (^a)	CT	CTC	ST	STC	AM	AMC
Escova com tampa - CT		<0,001	0,952	0,001	0,990	<0,001
Escova com tampa (controle) - CTC	<0,001		<0,001	0,998	0,001	1,000
Escova sem tampa - ST	0,952	<0,001		0,001	0,385	<0,001
Escova sem tampa (controle) - STC	0,001	0,998	0,001		<0,001	1,000
Escova em armário fechado - AM	0,990	<0,001	0,385	<0,001		<0,001
Escova em armário fechado (controle) - AMC	<0,001	1,000	<0,001	1,000	<0,001	

a. Análise de variância (ANOVA)

No realizar deste estudo, foram recolhidas amostras da cavidade oral através de esfregaço da mucosa, técnica usualmente preferida em estudos do género, sendo a sua recolha inócua e de fácil acesso (Marsh & Martin, 2009). Para efeitos de comparação e análise dos dados, apenas as amostras da cavidade oral finais, retiradas no dia em que os participantes entregaram as escovas, foram consideradas.

Nas Tabelas 21, 22 e 23, apresentadas de seguida, foram analisados inferencialmente apenas os dados relativos a microrganismos dos grupos cuja dimensão foi suficiente para concretizar a análise:

Tabela 21 - Comparação entre vários microrganismos presentes nas cerdas das escovas dentárias no grupo com tampa, e as respetivas amostras da cavidade oral.

Escova com Tampa				
Microrganismos	Frequência	Média log(UFC)	Desvio Padrão	p (^a)
Microrganismos anaeróbios totais (Escova)	16	5,42	1,26	0,115
Microrganismos anaeróbios totais (Cavidade Oral)	16	6,01	0,70	
Microrganismos aeróbios viáveis (Escova)	20	5,87	0,84	0,804
Microrganismos aeróbios viáveis (Cavidade Oral)	20	5,94	0,73	
<i>Streptococcus orais</i> (Escova)	9	4,20	1,09	0,667
<i>Streptococcus orais</i> (Cavidade oral)	9	4,47	1,06	

a. Teste t de Student para amostras emparelhadas

Tabela 22 - Comparação entre vários microrganismos presentes nas cerdas das escovas dentárias no grupo sem tampa, e as respectivas amostras da cavidade oral.

Escova sem Tampa				
Microrganismos	Frequência	Média log(UFC)	Desvio Padrão	p ^(a)
Microrganismos anaeróbios totais (Escova)	20	5,05	1,13	0,015
Microrganismos anaeróbios totais (Cavidade Oral)	20	5,77	0,54	
Microrganismos aeróbios viáveis (Escova)	20	5,19	0,87	0,001
Microrganismos aeróbios viáveis (Cavidade Oral)	20	5,81	0,45	
<i>Enterococcus</i> (Escova)	10	3,34	0,79	0,071
<i>Enterococcus</i> (Cavidade Oral)	10	4,24	1,13	
<i>Streptococcus</i> orais (Escova)	11	4,27	1,03	0,599
<i>Streptococcus</i> orais (Cavidade oral)	11	4,53	1,39	

a. Teste t de Student para amostras emparelhadas

Tabela 23 - Comparação entre vários microrganismos presentes nas cerdas das escovas dentárias no grupo em armário fechado, e as respectivas amostras da cavidade oral.

Escova em Armário Fechado				
Microrganismos	Frequência	Média log(UFC)	Desvio Padrão	p ^(a)
Microrganismos anaeróbios totais (Escova)	19	5,67	0,64	0,239
Microrganismos anaeróbios totais (Cavidade Oral)	19	5,91	0,72	
Microrganismos aeróbios viáveis (Escova)	20	5,43	1,03	0,160
Microrganismos aeróbios viáveis (Cavidade Oral)	20	5,87	0,65	
<i>Streptococcus</i> orais (Escova)	11	4,50	0,73	0,978
<i>Streptococcus</i> orais (Cavidade oral)	11	4,49	1,03	

a. Teste t de Student para amostras emparelhadas

Foi efetuada a comparação entre os valores médios de log(UFC) para vários microrganismos presentes nas cerdas das escovas dentárias, e as respectivas amostras da cavidade oral. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os valores médios de log(UFC) relativos às cerdas das escovas dentárias pertencentes ao grupo com tampa e ao grupo em armário fechado, e as respectivas amostras da cavidade oral. No que diz respeito às escovas acondicionadas sem tampa foram identificadas diferenças estatisticamente significativas entre os valores médios de log(UFC) para a colonização por microrganismos anaeróbios totais e microrganismos aeróbios viáveis.

4. DISCUSSÃO

Caracterização da amostra:

Os participantes selecionados para este trabalho de investigação eram estudantes do curso de Mestrado Integrado em Medicina Dentária, futuros responsáveis pela promoção e educação para a saúde oral, pelo que se torna vital conhecer os comportamentos destes para com a sua própria saúde.

Estudar e caracterizar os conhecimentos acerca da contaminação microbiana das cerdas das escovas dentárias na amostra em estudo, é deste modo importante para melhor se aperfeiçoar a formação académica dos estudantes do curso de Mestrado Integrado em Medicina Dentária, e compreender o caminho a seguir para a consciencialização sobre a contaminação microbiana das cerdas de escovas dentárias (Dias, 2015).

Após avaliação do questionário aplicado, verificou-se que 4 dos participantes possuem doenças sistémicas, nomeadamente Diabetes *Mellitus* tipo 1, Síndrome de *Ehlers-Danlos* e em dois dos participantes Anemia Ferropénica. Esta baixa prevalência de patologias parece ser explicada pela faixa etária jovem em que se inserem (média de $21,9 \pm 1,7$ anos de idade).

Caracterização da amostra quanto aos hábitos tabágicos:

No que diz respeito aos hábitos tabágicos, a maioria (73,3%) dos inquiridos não eram fumadores, resultados semelhantes ao do estudo realizado por Dias (2015), em que não eram fumadores 78,3% dos estudantes do curso de Mestrado Integrado em Medicina Dentária na Universidade Católica Portuguesa, em Viseu.

Está descrita na literatura uma relação negativa entre o nível de qualidade de vida e o aumento do número de cigarros consumidos. O consumo de tabaco, tem efeitos prejudiciais na saúde oral, e é um fator de risco para o desenvolvimento de doenças como a doença periodontal e o cancro oral. É das principais causas de morbilidade e mortalidade no mundo (ADA, 2018). Assim sendo, é bastante positivo que a grande maioria dos estudantes do curso de Mestrado Integrado em Medicina Dentária, participantes neste estudo, não possuam hábitos tabágicos, o que indica a presença de um estilo de vida mais saudável, constituindo um exemplo para os seus pacientes.

Caracterização da amostra quanto aos hábitos alimentares:

A maioria da amostra (42,6%) afirmou consumir alimentos ou bebidas açucaradas “às vezes”, o que se assemelha aos hábitos de 53,7% dos estudantes da Universidade Católica Portuguesa, no estudo conduzido por Dias (2015), que refere que os comportamentos de risco relativos à dieta se estabelecem na juventude. É também de salientar que 32% da amostra consome estes alimentos “*todos os dias*”.

Assim, é importante destacar que para se manter uma boa saúde oral e sistémica, o consumo de bebidas açucaradas e de alimentos ricos em hidratos de carbono, com elevado potencial cariogénico, e consumo de *snacks* entre as refeições, deve ser evitado, e preferida uma dieta variada e equilibrada, rica em vegetais e frutas (Cuenca, 2005; Federação Dentária Internacional, 2017).

Caracterização da amostra quanto aos hábitos de higiene oral e acondicionamento das escovas dentárias:

Em relação aos hábitos de higiene oral, a maioria da amostra referiu escovar os dentes “*duas vezes*” por dia, o que vai de encontro às práticas dos estudantes do curso de Mestrado Integrado em Medicina Dentária do IUEM inquiridos por Young (2016), indicando que a amostra em estudo mantém um bom nível de higiene oral, de acordo com as instruções da Direção-Geral da Saúde (DGS) e da Federação Dentária Internacional (2017) que referem que esta deve ser realizada pelo menos duas vezes ao dia. É importante referir, no entanto, que a maioria da amostra (69%) não possui o hábito de bochechar com elixir ou colutório. Este método químico de higienização oral é importante para combater a doença periodontal. No entanto, deve ser apenas um método complementar a utilizar em conjunto com outros meios de controlo de placa bacteriana (Parashar, 2015).

Quanto à frequência de substituição da escova dentária, 53,3% efetuavam a troca “*de 3 em 3 meses*”, o que se assemelha às práticas da maioria dos estudantes inquiridos por Young (2016), dos estudantes da Universidade Católica Portuguesa, Dias (2015), e às recomendações da ADA (2011), que referem que a substituição deve ser feita a cada 3 ou 4 meses de utilização, ou mais cedo se as cerdas se encontrarem gastas devido ao uso. A sua não substituição contribui para uma higiene oral deficitária e um aumento no grau de contaminação das cerdas de escovas dentárias.

Relativamente aos hábitos e cuidados com a limpeza das escovas dentárias, grande parte da amostra (84%) “lava a cabeça da escova com água corrente”. Este valor é semelhante ao encontrado por Queiroz e os seus colaboradores (2013) (85,8%), cuja amostra era constituída por famílias com crianças em idade pré-escolar, e superior ao verificado num estudo acerca dos conhecimentos e atitudes de estudantes de enfermagem no Brasil (Costa, Carvalho & Carvalho, 2017), em que 49,6% afirmou lavar a escova com água corrente. Assim, é possível observar que os comportamentos e decisões da amostra em estudo são idênticos aos de outras amostras, o que indica que os estudantes do curso de Mestrado Integrado em Medicina Dentária possuem atitudes que se assemelham à população em geral.

Após a lavagem cuidadosa com água corrente, é aconselhada a remoção do excesso de água, evitando o uso de toalhas de pano ou papel para a secagem (ADA, 2011; Zão, Silva & Alves, 2011). Nenhum dos estudantes inquiridos utiliza toalhas de papel para a secagem e apenas 8% enxugam a escova com uma toalha de pano, verificando-se assim que a generalidade da amostra realiza um processo de secagem adequado.

No que concerne ao perfil de acondicionamento das escovas dentárias, constatou-se que 65% optam por colocar a escova num copo em cima da bancada do lavatório, sem tampa, valor similar ao registado por Young (2016) (53%). Assim, mais de metade dos estudantes do curso de Mestrado Integrado em Medicina Dentária do IUEM optam por um local de armazenamento arejado sem tampa, de acordo com a ADA, e autores como Frazelle & Munro (2012) e Queiroz e os seus colaboradores (2013), que aconselham que as escovas não sejam armazenadas em locais fechados como o armário da casa de banho, pois este ambiente húmido e quente, é propício ao crescimento bacteriano. Por outro lado, são vários os estudos que referem o armário fechado como local preferido pela maioria dos participantes, tais como Mialhe e seus colaboradores (2007) (72,3%), Peker e seus colaboradores (2014) (87,1%), e Zão e seus colaboradores (2011) (53,8%), resultados bastante superiores à percentagem encontrada na nossa amostra (15%). Existe ainda controvérsia em relação ao perfil de acondicionamento mais apropriado, sendo importante saber em que condições não é favorável o crescimento microbiano.

Análise das cerdas das escovas dentárias e amostras da cavidade oral:

Tem sido estudado e demonstrado em diversos estudos na literatura o papel das escovas dentárias como veículo de transporte e reservatório de microrganismos (Hayasaki et al., 2014; Nascimento et al., 2015; Peker et al., 2015; Raiyani et al., 2015).

No presente estudo, foi detetado crescimento microbiano em grande parte das escovas dentárias analisadas (97,1%), valores concordantes com os encontrados por Rodrigues e colaboradores (2012) (91%) e Samuel & Ifeanyi (2015) (100%), comprovando que as cerdas de escovas dentárias retêm vários microrganismos.

Foram isolados microrganismos dos géneros *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Candida* e da família *Enterobacteriaceae*, cuja identificação e contagem foi realizada tendo em conta a morfologia e características das colónias presentes. Os meios de cultura selecionados para a quantificação de microrganismos facilitam a observação das características de cada colónia. A repicagem para um segundo meio de cultura pode ser necessária para posterior identificação do microrganismo em causa (Marsh & Martin, 2009).

O crescimento microbiano nas escovas em estudo variou bastante, tendo sido verificadas grandes oscilações de concentrações. Por este motivo, e para uma melhor análise das diferenças de concentração foram assim estabelecidos intervalos de concentração UFC/escova com base nos estudos de Rodrigues et al. (2012) e Young (2016): $X < 300$ UFC/escova; $300 \leq X < 3000$ UFC/escova; $3000 \leq X < 30\ 000$ UFC/escova; $X \geq 30\ 000$ UFC/escova.

São muitas as variáveis intra e interpessoais, que podem contribuir para estas oscilações, como a água, a lavagem da escova (Samuel & Ifeanyi, 2015), as características da casa de banho de cada participante e o meio envolvente, e diferentes agentes antimicrobianos da pasta dentífrica utilizada (Rodrigues et al., 2012).

Nas escovas dentárias analisadas neste estudo verificou-se contaminação por várias espécies de microrganismos. No que concerne à capacidade hemolítica dos microrganismos encontrados, foi possível neste estudo a distinção entre bactérias não hemolíticas (gama-hemólise), bactérias que não possuem a capacidade de lise de glóbulos vermelhos e que raramente causam doença, bactérias alfa-hemolíticas que fazem hemólise parcial em que é visível uma descoloração em volta da colónia, das bactérias

beta-hemolíticas, bactérias que fazem hemólise completa em que há translucidez total (Samaranayke, 2012). Grande parte das cerdas de escovas dentárias sem tampa apresentaram contaminação por microrganismos que não possuem capacidade de hemólise (95,8%), contrastando com os outros grupos. Assim, os microrganismos encontrados nas cerdas de escovas dentárias acondicionadas sem tampa possuem um menor potencial patogénico, contrariamente à maioria dos microrganismos encontrados nas escovas em ambientes fechados, onde os microrganismos com capacidade de hemolítica proliferaram.

Mais de metade das escovas (64,2%), em todos os perfis de acondicionamento, apresentaram contaminação por *Staphylococcus aureus*, à semelhança dos estudos de Bezirtzogou e colaboradores (2008) (56%), Rodrigues e colaboradores (2012) (56,3%) e Samuel & Ifeanyi (2015) (60%). Elevadas percentagens de *Staphylococcus* nas escovas utilizadas pelos estudantes de Medicina Dentária devem ser tomadas em atenção devido ao seu potencial patogénico, fator causal em inúmeras infeções, comuns na pele e fossas nasais de profissionais de saúde (Samaranayke, 2012). A presença de *Staphylococcus* nas cerdas das escovas dentárias analisadas pode advir do próprio manuseamento da escova com as mãos do seu utilizador, o que evidencia a importância da lavagem das mãos prévia à realização da higiene oral (Gonçalo & Mialhe, 2009; Queiroz et al., 2013; Yadav & Road, 2015).

A contaminação por *Streptococcus* foi amplamente verificada (61,4%), à semelhança do estudo de Rodrigues e os seus colaboradores (2012) em que 81,3% das escovas estavam contaminadas por estes microrganismos. Vulgarmente encontrados na cavidade oral e nas escovas dentárias, estavam presentes em concentrações elevadas, superiores a 30 000 UFC/escova em mais de metade das cerdas analisadas em todos os grupos. Microrganismos intimamente relacionados com etiologia da cárie dentária, *Streptococcus mutans* foram isolados em cerca de 28% das escovas, em percentagens similares nos diferentes grupos de acondicionamento. Estes resultados são semelhantes aos encontrados por Samuel & Ifeanyi (2015) (25%) e opõem-se ligeiramente aos dos estudos por Rodrigues e colaboradores (46,9%) e Bezirtzoglou e colaboradores (2008) (44%), que encontraram uma maior contaminação das escovas por estes microrganismos. A presença de *Streptococcus mutans* nas cerdas das escovas dentárias analisadas, embora que não numa percentagem muito elevada, acentua a relevância do seu papel na formação de

biofilmes e demonstra a sua capacidade de colonização das cerdas de escovas dentárias (Rodrigues et al., 2012).

No que respeita a contaminação por *Enterococcus* esta foi superior nas escovas sem tampa (62,5%), quando comparada com os dois outros grupos (52% nas escovas armazenadas em armário fechado e 47,6% nas escovas com tampa). No entanto a maior quantidade de microrganismos/escova foi observado no grupo de escovas dentárias com tampa, com a maior parte dos valores superiores a 30 000 UFC/escova. Estes microrganismos, têm grande capacidade de resistência a antibióticos e estão frequentemente associados a várias infeções (Lamont & Jenkinson, 2010; Marsh & Martin, 2009).

No presente estudo, *Candida* foi um microrganismo isolado em baixas percentagens (4,2%), à semelhança do estudo por Rodrigues e colaboradores (2012) em que ocorreu contaminação por leveduras em apenas 9,4% das escovas dentárias. É um fungo oportunista com potencial patogénico, especialmente em pacientes com disfunção do sistema imunológico (Samaranayake, 2012). A baixa prevalência de *Candida* nas cerdas das escovas dentárias analisadas parece ser explicada tendo em consideração a amostra jovem e maioritariamente saudável deste estudo.

As bactérias da família *Enterobacteriaceae* foram encontradas em percentagens semelhantes nos três grupos, na ordem dos 37,1%, em concentrações UFC/escova mais elevadas nas escovas sem tampa. *E. coli* foi identificada em maior percentagem nas cerdas de escovas dentárias com tampa comparativamente com os outros grupos, em 23,8% das escovas, valores semelhantes aos encontrados por Bezirtzoglou e colaboradores (2008) (20%) e Samuel & Ifeanyi (2015) (20%). Estes resultados opõem-se aos encontrados por Ferreira e colaboradores (2012), que isolaram *E. coli* em 45% das escovas analisadas, e Rodrigues e colaboradores (2012) que encontraram contaminação por *Enterobacteriaceae* em 56,3% das cerdas das escovas dentárias em estudo. Curiosamente, apenas dois participantes apresentaram a presença de *E. coli* tanto na sua escova dentária como na amostra retirada da sua cavidade oral. Os utilizadores das restantes oito escovas contaminadas por este microrganismo não o possuíam. A presença de *E. coli* nas cerdas de escovas dentárias indica contaminação fecal das mesmas, que pode ser proveniente do meio circulante, por dispersão dos aerossóis das descargas do autoclismo, humidade do meio e da água corrente da torneira usada para a limpeza da escova dentária após a sua utilização (Ankola et al., 2009; Samuel & Ifeanyi, 2015; Yadav & Road, 2015).

Quanto às escovas de controlo, ocorreu também contaminação das cerdas em estudo, nas quais foi mais prevalente o crescimento de microrganismos do género *Staphylococcus* nas cerdas analisadas. As escovas com tampa apresentaram maior contaminação por *Staphylococcus aureus* (42,8%) que as escovas sem tampa (8,3%) e em armário fechado (20%), o que pode indicar que ambientes húmidos e fechados e a presença de tampas protetoras propícia ao desenvolvimento destes microrganismos. Estes valores vão de encontro aos estudos de Taji & Rogers (1998) que encontraram colónias de *Staphylococcus* em escovas de controlo, bem como de Glass & Lare (1986), que reportaram contaminação por *S. epidermidis* em escovas novas sem uso. Outros autores como Rodrigues e os seus colaboradores (2012), Nascimento e colaboradores (2015) e Samuel & Ifeanyi (2015) não verificaram qualquer crescimento microbiano em escovas de controlo.

Os valores de contaminação encontrados em escovas que não foram utilizadas na cavidade oral podem sugerir que as escovas dentárias se encontrem contaminadas mesmo dentro da embalagem selada vinda da fábrica, devido ao facto de não ser obrigatória a esterilização das escovas e das suas embalagens (Gonçalo & Mialhe, 2009). Tal como é referido na literatura (Gonçalo & Mialhe, 2009; Queiroz et al., 2013) a contaminação por *Staphylococcus* poderá também ser explicada graças ao simples passar dos dedos pelas cerdas das escovas, que pode ter acontecido mesmo sem os participantes se aperceberem, ao remover a escova da embalagem, para a colocar no local predestinado durante o período de tempo do estudo.

Em relação à quantidade total de microrganismos anaeróbios presente, foi observado neste estudo que todas as escovas dentárias utilizadas na higiene oral diária apresentavam diferenças estatisticamente significativas comparativamente às respetivas escovas de controlo. Entre os diferentes perfis de acondicionamento, as escovas em armário fechado utilizadas na higiene oral diária, possuíam uma quantidade total de UFC de microrganismos anaeróbios superior. Estes resultados sugerem que escovas acondicionadas em ambientes fechados vão favorecer o crescimento destes microrganismos, que proliferam em anaerobiose.

Relativamente aos outros dois grupos, nas escovas armazenadas sem tampa foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as escovas dentárias utilizadas na higiene oral e as escovas dentárias de controlo, entre mais microrganismos, nomeadamente na contaminação por microrganismos anaeróbios totais, microrganismos

Y hemolíticos, microrganismos aeróbios viáveis, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus*, e *Streptococcus* orais como *S. mitis* e *S. mutans*.

É possível verificar que a contaminação microbiana das escovas de controlo é menor do que a das escovas utilizadas na higiene oral diária pelos participantes, o que evidencia o papel preponderante da cavidade oral como veículo de transmissão de microrganismos para as cerdas de escovas dentárias.

A presença de microrganismos em escovas de controlo, que não foram utilizadas na cavidade oral, pode indicar contaminação proveniente do meio envolvente, pelos aerossóis circulantes da descarga da sanita e do lavatório da casa de banho, ou até por contaminação cruzada inadvertida pelo contacto com as mãos do utilizador e de outros utilizadores da casa de banho, outras escovas, embalagens de pasta dentífrica ou outros objetos presentes no mesmo espaço (Basman et al., 2016; Ferreira et al., 2012; Peker et al., 2014).

Foram também realizadas comparações entre os microrganismos presentes nas cerdas da escova dentária utilizada por cada participante e a amostra retirada da sua cavidade oral. Nos grupos em que as escovas dentárias estavam acondicionadas com tampa ou em armário fechado, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas, sendo possível aferir que a quantidade de UFC encontradas nessas escovas seria similar à da cavidade oral de cada participante. Estes resultados sugerem que os ambientes húmidos e fechados, por se assemelharem às condições presentes na cavidade oral, contribuem para a proliferação de microrganismos.

Nas escovas armazenadas sem tampa, foram verificadas diferenças estatisticamente significativas na colonização por microrganismos anaeróbios totais e microrganismos aeróbios viáveis ($p \leq 0,05$). A colonização por estes microrganismos foi superior na cavidade oral do que nas cerdas das escovas dentárias analisadas, o que pode indicar que num local mais seco e arejado, diferente do ambiente da cavidade oral, há menor contaminação microbiana.

Foi assim verificado na amostra em estudo que, por apresentar menor contaminação, será mais apropriado guardar as escovas num local seco e arejado, tal como recomendado pela ADA (2011). É desaconselhado tanto o uso de tampas protetoras de cerdas, como guardar as escovas em armários fechados.

5. CONCLUSÕES

Com este estudo foi possível concluir que:

- Todas as espécies dentro dos géneros *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Candida*, e da família *Enterobacteriaceae* que nos propusemos a identificar, foram encontradas tanto na cavidade oral como nas cerdas das escovas dentárias dos estudantes do curso de Mestrado Integrado em Medicina Dentária do IUEM;
- O perfil de acondicionamento das escovas dentárias tem influência no crescimento microbiano, sendo que as escovas acondicionadas em local aberto sem tampa são as que apresentam menor contaminação;
- Os estudantes de Medicina Dentária do IUEM possuem bons hábitos de higiene oral, e comportamentos de acordo com as normas aconselhadas pela DGS e pela ADA.

Tendo em consideração os resultados do presente estudo, torna-se evidente a necessidade de educar os estudantes de Medicina Dentária sobre a problemática da contaminação e acondicionamento das escovas dentárias, para que possam informar e orientar os seus pacientes no futuro.

Linhas para futuras investigações:

Face aos aspetos abordados neste estudo, aos resultados obtidos e à literatura atual, seria interessante alargar o estudo a populações específicas de indivíduos com sistema imunológico comprometido, que requerem uma preocupação especial em termos de contaminação microbiana, de modo a contribuir para o desenvolvimento de normas que possam ser aplicadas não só a nível doméstico, como também a nível hospitalar.

6. BIBLIOGRAFIA

- Albuquerque, T., Bernardo, M. F., Veiga Simão, A. M., Sousa Ferreira, A., Kawamura, M., & Okada, M. (2011). Reprodutibilidade da Versão Portuguesa Do Hiroshima University Dental Behavioural Inventory (HUDBI - versão portuguesa). Diferenças nas atitudes e comportamentos entre estudantes do 1º e 3º ano do curso de Higiene Oral. *Revista Portuguesa de Estomatologia, Medicina Dentária e Cirurgia Maxilofacial*, 52(3), 125–132. <https://doi.org/10.1016/j.rpemd.2011.07.001>
- American Dental Association. (2011). Toothbrush Care: Cleaning, Storing and Replacement. Disponível em <https://www.ada.org/en/about-the-ada/>
- American Dental Association. (2018). Smoking and Tobacco Cessation. Disponível em <https://www.ada.org/en/member-center/oral-health-topics/smoking-and-tobacco-cessation>
- Ankola, A. V., Hebbal, M., & Eshwar, S. (2009). How clean is the toothbrush that cleans your tooth? *International Journal of Dental Hygiene*, 7(4), 237–240. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5037.2009.00384.x>
- Barroso, H., Taveira, N., & Meliço-Silvestre, A. (2014). *Microbiologia Médica*. (Lidel, Ed.) (volume 1)
- Basman, A., Peker, I., Akca, G., Alkurt, M. T., Sarikir, C., & Celik, I. (2016). Evaluation of toothbrush disinfection via different methods. *Brazilian Oral Research*, 30(1), 11–16. <https://doi.org/10.1590/1807-3107BOR-2016.vol30.0006>
- Bezirtzoglou, E., Cretoiu, S. M., Moldoveanu, M., Alexopoulos, A., Lazar, V., & Nakou, M. (2008). A quantitative approach to the effectiveness of ozone against microbiota organisms colonizing toothbrushes. *Journal of Dentistry*, 36(8), 600–605. <http://doi.org/10.1016/j.jdent.2008.04.007>
- Bio-rad Laboratories. (2008). CandiSelect™ 4 63746, 1–4. Disponível em http://www.biorad.com/webroot/web/pdf/cdg/literature/63746US_CandiSelect_4_Product_Insert_Apr09.pdf
- Centers for Disease Control and Prevention - James Archer. (2013). Public Health Image Library (PHIL). Disponível em <https://phil.cdc.gov/>

- Contreras, A., Arce, R., Botero, J. E., Jaramillo, A., & Betancourt, M. (2010). Toothbrush Contamination in Family Members. *Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral*, 3(1), 24–26. [https://doi.org/10.1016/S0718-5391\(10\)70037-9](https://doi.org/10.1016/S0718-5391(10)70037-9)
- Cuenca Sala, E. & Baca Garcia P. (2005). *Odontología preventiva y comunitaria - Principios, métodos y aplicaciones*. (3rd ed.). Masson
- Dayoub, M. B., Rusilko, D., & Gross, A. (1977). Microbial Contamination of Toothbrushes. *Journal of Dental Research*, 56(6), 706. <https://doi.org/10.1177/00220345770560063501>
- Dias, A. (2015). *Atitudes e comportamentos de saúde oral em estudantes de Medicina Dentária em Portugal e na Holanda - Um estudo comparativo* (Tese de Mestrado), Universidade Católica Portuguesa, 1–104.
- Dicionário de Língua Portuguesa Infopédia. (2018). Definição ou significado de contaminação no Dicionário Infopédia da Língua Portuguesa. Porto Editora. Disponível em <https://www.infopedia.pt/dicionarios/lingua-portuguesa/contaminação>
- Direção-Geral da Saúde (2015). *Plano nacional de saúde revisão e extensão a 2020*. Disponível em <http://1nj5ms2lli5hdggbe3mm7ms5.wpengine.netdna-cdn.com/files/2015/06/Plano-Nacional-de-Saude-Revisao-e-Extensao-a-2020.pdf>
- Federação Dentária Internacional. (2017). *Guia para uma boa saúde oral - Como viver com uma boca saudável ao longo da vida - Tradução da Direção-Geral da Saúde*. Disponível em www.worldoralhealthday.org
- Ferreira, C. A., Savi, G. D., Panatto, A. P., Generoso, J. da S., & Barichello, T. (2012). Microbiological evaluation of bristles of frequently used toothbrushes. *Dental Press Journal of Orthodontics*, 17(4), 72–76. <https://doi.org/10.1590/S2176-94512012000400016>
- Frazelle, M. R., & Munro, C. L. (2012). Toothbrush Contamination: A Review of the Literature. *Nursing Research and Practice*, 2012, 1–6. <https://doi.org/10.1155/2012/420630>
- Glass, R. T., & Lare, M. M. (1986). Toothbrush Contamination: A Potential Health Risk?

- Quintessence International*, 17(November), 39–42.
- Gonçalo, C. D. S., & Mialhe, F. L. (2009). Contamination of toothbrushes : a critical review of the literature. *Revista Periodontia*, 19(03), 56–63.
- Griffin, Paul A. DDS, (2016). The Toothbrush: Brushing up on History. Disponível em <http://paulgriffindds.com/the-toothbrush-brushing-up-on-history/>
- Grover, D., Kaur, G., Kaushal, S., & Malhotra, R. (2012). Toothbrush 'A key to mechanical plaque control'. *Indian Journal of Oral Sciences*, 3(2), 62. <https://doi.org/10.4103/0976-6944.106456>
- Halawany, H. S. (2012). A review on miswak (*Salvadora persica*) and its effect on various aspects of oral health. *Saudi Dental Journal*, 24(2), 63–69. <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2011.12.004>
- Hayasaki, H., Saitoh, I., Nakakura-Ohshima, K., Hanasaki, M., Nogami, Y., Nakajima, T., Yamasaki, Y. (2014). Tooth brushing for oral prophylaxis. *Japanese Dental Science Review*, 50(3), 69–77. <https://doi.org/10.1016/j.jdsr.2014.04.001>
- Huang, R., Li, M., & Gregory, R. L. (2011). Bacterial interactions in dental biofilm, *Virulence*, 2(5), 435–444.
- Jenkinson, H. F., & Lamont, R. J. (2005). Oral microbial communities in sickness and in health. *Trends in Microbiology*, 13(12), 589–595. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2005.09.006>
- Khatak, M., Khatak, S., Siddqui, A., Vasudeva, N., Aggarwal, A., & Aggarwal, P. (2010). *Salvadora persica*. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 209. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.70920>
- Kumar, P. S. (2013). Oral microbiota and systemic disease. *Anaerobe*, 24, 90–93. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2013.09.010>
- Lamont, R. J., & Jenkinson, H. F. (2010). *Oral microbiology at a glance*. (1st ed.). Wiley-Blackwell
- Lima, M. van V., Verri, M. P., Ito, I. Y., Nascimento, A. P., Faria, G., & Watanabe, E. (2007). Biofilme: avaliação do nível de contaminação de escovas dentais Monobloc® em função do dentifrício. *Rev. Odonto Ciênc*, 22(57), 269–274.

- Disponível em <http://caioba.pucrs.br/fo/ojs/index.php/fo/article/viewFile/2029/153>
- Limeback, H. (2012). *Comprehensive Preventive Dentistry*. (1st ed.). Wiley-Blackwell
- Macwilliams, M. P. (2016). Indole Test Protocol Author Information, *American Society for Microbiology*, 2–6.
- Marsh, P. D., & Martin, M. V. (2009). *Oral Microbiology*. (5th ed.). Elsevier
- Medchrome. (2018). Brushing technique: Bass and Modified Bass Methods. Disponível em <http://tube.medchrome.com/2013/04/brushing-technique-bass-and-modified.html>
- Mialhe, F. L., Silva, D. D., & Possobon, R. de F. (2007). Avaliação dos cuidados relativos ao armazenamento e desinfecção das escovas dentais por acadêmicos de Odontologia. *Revista de Odontologia Da UNESP*, 36(3), 231–235.
- Mythri, S., Arunkumar, S. M., Hegde, S., Rajesh, S. K., Munaz, M., & Ashwin, D. (2015). Etiology and occurrence of gingival recession - An epidemiological study. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 19(6), 671–5. <https://doi.org/10.4103/0972-124X.156881>
- Naik, R., Mujib, A. B. R., Telagi, N., Anil, B., & Spoorthi, B. R. (2015). Contaminated tooth brushes-potential threat to oral and general health. *Journal of Family Medicine and Primary Care*, 4(3), 444. <https://doi.org/10.4103/2249-4863.161350>
- Nascimento, T. e Taveira, N. (2001). Os biofilmes microbianos como agentes causais de doenças humanas. Ed. Jorge Vítor, *Universidade de Lisboa*, 1-6, Disponível em http://arquivo.ordembilogos.pt/Publicacoes/Biologias/6_Biofilmes_Microbianos%20--%2020Abr05.pdf
- Nascimento, C., Trinca, N. N., Pita, M. S., & Pedrazzi, V. (2015). Genomic identification and quantification of microbial species adhering to toothbrush bristles after disinfection: A cross-over study. *Archives of Oral Biology*, 60(7), 1039–1047. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2015.03.012>
- Nelson-Filho, P., Macari, S., Faria, G., Assed, S., & Ito, I. Y. (2000). Microbial contamination of toothbrushes and their decontamination. *Pediatr.Dent.*, 22(5), 381–384.

- Ordem dos Médicos Dentistas. (2010). *Plano Nacional de Saúde 2011-2016 Estratégia de saúde oral em Portugal – um conceito de transversalidade que urge implementar*. Disponível em <http://pns.dgs.pt/files/2010/06/omd.pdf>
- Parashar, A. (2015). Mouthwashes and Their Use in Different Oral Conditions. *Scholars Journal of Dental Sciences (SJDS)*, 2(2B), 186–191. Disponível em www.saspublisher.com
- Passos A., Massoni, C., Ferreira, M., Forte, D., & Sampaio, C.,Correia (2006). Avaliação das condições físicas e do acondicionamento de escovas dentais em creches de João Pessoa - Paraíba, Brasil. *Revista de Odontologia Da UNESP*, 35(4), 299–303.
- Patil, S. P., Patil, P. B., Kashetty, M. V, Patil, P. B., Kashetty, M. V, Kashetty, M. V, Kashetty, M. V. (2014). Effectiveness of different tooth brushing techniques on the removal of dental plaque in 6-8 year old children of Gulbarga. *Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry*, 4(2), 113–6. <https://doi.org/10.4103/2231-0762.138305>
- Peker, I., Akarslan, Z., Basman, A., & Haciosmanoglu, N. (2015). Knowledge and behavior of dentists in a dental school regarding toothbrush disinfection. *Brazilian Oral Research*, 29(1), 1–8. <https://doi.org/10.1590/1807-3107BOR-2015.vol29.0048>
- Peker, I., Akca, G., Sarikir, C., Toraman Alkurt, M., & Celik, I. (2014). Effectiveness of alternative methods for toothbrush disinfection: An in vitro study. *Scientific World Journal*, 2014, 1–10. <https://doi.org/10.1155/2014/726190>
- Penick, C. (2004). Power toothbrushes: a critical review. *International Journal of Dental Hygiene*, 2(1), 40–44. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5037.2004.00048.x>
- Poyato-Ferrera, M., Segura-Egea, J., & Bullon-Fernandez, P. (2003). Comparison of modified Bass technique with normal toothbrushing practices for efficacy in supragingival plaque removal. *International Journal of Dental Hygiene*, 1(2), 110–114. <https://doi.org/10.1034/j.1601-5037.2003.00018.x>
- Queiroz, F., Nóbrega, C., Costa, L., Reul, M., Abreu, R., & Leite, M. (2013). Avaliação do perfil de armazenamento e descontaminação das escovas dentais. *Revista Odontologica UNESP*, 42(2), 89–93.


- Quinlan, K. (2017). This is the first disruptive oral health product to come out for a long time. *British Dental Journal*, 223(9), 627. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2017.947>
- Raiyani, C., Arora, R., Bhayya, D., Dogra, S., Katageri, A., & Singh, V. (2015). Assessment of microbial contamination on twice a day used toothbrush head after 1-month and 3 months: An in vitro study. *Journal of Natural Science, Biology and Medicine*, 6(3), 44. <https://doi.org/10.4103/0976-9668.166072>
- Rodrigues, L. K., Motter, C. W., Pegoraro, D. A., Menoli, A. P. V., & Menolli, R. A. (2012). Microbiological contamination of toothbrushes and identification of a decontamination protocol using chlorhexidine spray. *Revista Odonto Ciencia*, 27(3), 213–217. <https://doi.org/10.1590/S1980-65232012000300007>
- Samaranayake, L. (2012). *Essential microbiology for dentistry*. (4th ed.). Elsevier
- Samuel, O., & Ifeanyi, O. (2015). Bacterial Contamination of Used Manual Toothbrushes obtained from Some Students of Nnamdi Azikiwe University Awka , Nigeria. *Universal Journal of Microbiology Research*, 3(4), 56–59. <https://doi.org/10.13189/ujmr.2015.030404>
- Slade, G. D. (1997). Concepts of Oral Health, Disease and the Quality of Life. *Measuring Oral Health and Quality of Life*, 172.
- Taji, S. S., & Rogers, A. H. (1998). The microbial contamination of toothbrushes . A pilot study. *Australian Dental Journal*, 43(2), 128–130.
- Toker, H., & Ozdemir, H. (2009). Gingival recession: epidemiology and risk indicators in a university dental hospital in Turkey. *International Journal of Dental Hygiene*, 7(2), 115–120. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5037.2008.00348.x>
- Warren, D. P., Goldschmidt, M. C., Thompson, M. B., Adler-Storthz, K., & Keene, H. J. (2001). The effects of toothpastes on the residual microbial contamination of toothbrushes. *Journal of the American Dental Association*, 132(9), 1241–1245. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.2001.0366>
- Wetzel, W. E., Schaumburg, C., Ansari, F., Kroeger, T., & Sziegoleit, A. (2005). Microbial contamination of toothbrushes with different principles of filament anchoring. *Journal of the American Dental Association*, 136(6), 758–65; <https://doi.org/10.14219/jada.archive.2005.0259>

- Wu, C. D., Darout, I. a, & Skaug, N. (2001). Chewing sticks: timeless natural toothbrushes for oral cleansing. *Journal of Periodontal Research*, 36(5), 275–284. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0765.2001.360502.x>
- Yadav, S., & Road, S. (2015). Toothbrushes in Bathroom- Clean Before, *Journal of Advanced Medical and Dental Sciences*, 3(5), 57–59.
- Young, A. J. (2016). *Contaminação microbiana das cerdas de escovas dentárias e a sua desinfeção* (Tese de Mestrado). Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz. Disponível em <https://comum.rcaap.pt/handle/10400.26/17448>
- Zão, E., J., R., Silva, M. A., M., & Alves, M. U. (2011). Desinfecção e Armazenamento de Escovas Dentais : Avaliação da Prática Realizada por Acadêmicos do Curso de Odontologia da Universidade Severino Sombra – Vassouras. *Revista Pró-Universus*, 2(1), 53–64.

ANEXOS

Anexo 1 – Parecer da comissão de ética

Comissão de Ética



Proc. Interno nº 587

Ex.ma Senhora
Ana Lúcia Frazão Malta

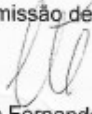
Monte de Caparica, 10 de janeiro de 2018.

Ex.ma Senhora,

Venho comunicar-lhe que o Pedido de Parecer que submeteu à apreciação da Comissão de Ética da Egas Moniz, com o tema denominado **“Avaliação da Contaminação Microbiana das Cordas de Escovas Dentárias em Função do seu perfil de acondicionamento”** foi aprovado por unanimidade.

Com os melhores cumprimentos,

A Presidente da Comissão de Ética da Egas Moniz



Prof. Doutora Maria Fernanda de Mesquita

EGAS MONIZ – COOPERATIVA DE ENSINO SUPERIOR, CRL
Campus Universitário – Quinta da Granja – Monte de Caparica
2829-511 Caparica

Anexo 2 – Consentimento informado



Consentimento Informado

Código | IMP:EM.PE.17_02

Monte da Caparica, ____ de _____ de 2018

Exmo.(a) Sr.(a),

No âmbito do 5º ano do Mestrado Integrado em Medicina Dentária na Unidade Curricular “Trabalho de Projeto Final” do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, sob a Orientação da Prof. Doutora Maria Helena de Sousa Barroso, e Co-Orientação da Mestre Joana Carvalho:

Irá ser desenvolvido o estudo “Avaliação da Contaminação Microbiana das Cerdas de Escovas Dentárias em Função do Seu Perfil de Acondicionamento”, tendo lugar nas instalações da Clínica Dentária Universitária Egas Moniz, numa população de estudantes do 3º, 4º e 5º ano do curso de Medicina Dentária do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, com o objetivo de averiguar se o local de armazenamento / meio ambiente envolvente tem influência no desenvolvimento microbiano;

Solicita-se a sua autorização para:

- Participar no estudo “Avaliação da Contaminação Microbiana das Cerdas de Escovas Dentárias em Função do Seu Perfil de Acondicionamento”;
- Observação da cavidade oral e recolha de amostras da mesma, com recurso a material básico não invasivo de observação e recolha através de esfregaço da mucosa utilizando uma zaragatoa estéril.
- Entrega de duas novas escovas dentárias, bem como instruções sobre a sua utilização e local de armazenamento das mesmas, fornecidas a cada participante que deverão ser utilizadas na sua higiene oral conforme instruções dadas por escrito, durante um período de 4 semanas.
- Devolução das escovas fornecidas que serão posteriormente processadas laboratorialmente e analisada a sua contaminação microbiana;



Consentimento Informado

Código | IMP:EM.PE.17_02

- Estudo das amostras recolhidas da sua cavidade oral e das escovas dentárias fornecidas, que serão processadas no laboratório de microbiologia do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz.
- Responder a um questionário sobre as características pessoais (sexo, idade, entre outros), hábitos tabágicos, hábitos alimentares (refeições diárias e ingestão de açúcares) e hábitos de higiene oral.

A participação neste estudo é voluntária. A sua não participação não lhe trará qualquer prejuízo.

Este estudo pode trazer benefícios tais como responder melhor às necessidades de cada paciente através da caracterização e avaliação de estilos de vida e hábitos de higiene oral da população, contribuindo para a formação do aluno em causa e o progresso do conhecimento. Este estudo não apresentará qualquer risco para os participantes, que poderão a qualquer momento pedir informação complementar ao investigador, e se assim o desejarem, anular a sua participação sem suportar nenhuma responsabilidade, conservando todos os seus direitos garantidos pela lei.

A informação recolhida destina-se unicamente a tratamento estatístico e/ou publicação. O Orientando está obrigado ao anonimato e confidencialidade dos sujeitos.

Aceito participar nesta investigação nas condições acima referidas e autorizo a recolha, escolha e tratamento dos dados, que se mantem confidenciais e sob anonimato, apenas por pessoas mandatadas pela Prof. Doutora Maria Helena de Sousa Barroso.

(Riscar o que não interessa)

ACEITO/NÃO ACEITO participar neste estudo, confirmando que fui esclarecido sobre as condições do mesmo e que não tenho dúvidas.

(Assinatura do participante ou, no caso de menores, do pai/mãe ou tutor legal)

Anexo 3 – Questionário aplicado no estudo



Questionário

CARACTERIZAÇÃO PESSOAL

1. Idade: _____ anos
2. Sexo: M F
3. Tem alguma doença sistêmica?
 Sim. Se sim, qual? _____
 Não
4. Está ou esteve a tomar algum antibiótico na última semana?
 Sim. Se sim, qual? _____
 Não
5. Está ou esteve a tomar algum antifúngico no último ano?
 Sim. Se sim, qual? _____
 Não

HÁBITOS TABÁGICOS

6. Atualmente fuma?
 Não, nunca fumei
 Não, mas já fumei. Deixei de fumar há _____ anos
 Sim, em média fumo _____ cigarros/dia

HÁBITOS ALIMENTARES

7. Com que frequência consome alimentos ou bebidas açucaradas?
 Todos os dias
 Às vezes
 Raramente
 Nunca
8. Quantas refeições faz diariamente?
 < 2
 2 - 3
 3 - 4
 > 5

HÁBITOS DE HIGIENE ORAL

9. Quantas vezes por dia escova os dentes?

- <1 Ve
- 1 Ve
- 2 Vezes
- 3 Vezes ou Mais

10. Que movimentos realiza quando está a escovar os dentes?
(Pode assinalar mais do que uma resposta)

- Horizontais
- Verticais
- Circulares
- Outros _____

11. Com que regularidade substitui a escova?

- Todos os meses
- De 3 em 3 meses
- De 6 em 6 meses
- De ano a ano
- Mais do que 1 ano
- Só quando as cerdas começam a ficar gastas

12. Bochecha com um elixir/colutório?

- Sim
- Não

13. Após a escovagem:

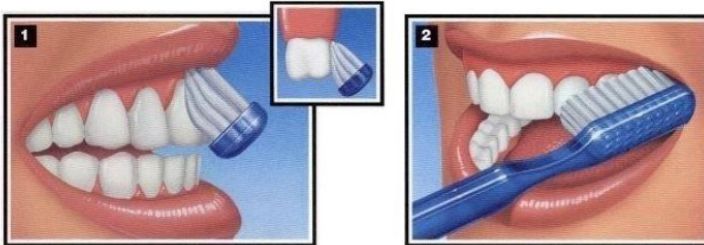
- Não lava as cerdas dentárias ou cabeça da escova
- Lava a cabeça da escova com água corrente
- Bate na pia para remover o excesso de água
- Enxuga a escova numa toalha de pano
- Enxuga a escova numa toalha de papel
- Outro _____

14. Onde costuma armazenar a escova dentária após a utilização?

- Deitada em cima da pia
- Num copo em cima da pia, sem tampa
- Num copo em cima da pia, com tampa
- Dentro de um armário
- Outro _____

Anexo 4 – Instruções fornecidas aos participantes

Instruções para participação no estudo acerca da Avaliação da Contaminação Microbiana das Cerdas de Escovas Dentárias em Função do seu Perfil de Acondicionamento



Incline a escova a um ângulo de 45º junto à linha das gengivas e faça movimentos horizontais, tipo vaivém, ou circulares com a escova a partir da linha das gengivas.



Escove suavemente o exterior, o interior e a superfície de mastigação de cada dente com movimentos curtos, colocando a escova na vertical para as secções anteriores.

- Deve ser feita a higiene oral, 2 a 3 vezes ao dia, com a técnica descrita na imagem, usando a escova fornecida para o efeito, durante 3 semanas.

- Após cada utilização, é necessário lavar a escova, incluindo o cabo, com água corrente, remover o excesso de água da escova, não tocar nas cerdas com as mãos, e evitar a utilização de toalhas;

- Não devem ser utilizados elixires nem colutórios no decorrer do estudo;

- A escova de controlo deverá permanecer sempre no local destinado, nunca sendo utilizada.