

**UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ**  
**Maiara Rodrigues de Freitas**

**OTIMIZAÇÃO DOS PROTOCOLOS REGULARES DE  
LIMPEZA EM AMBIENTES ODONTOLÓGICOS**

**Taubaté – SP**  
**2023**

**UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ**

**Maiara Rodrigues de Freitas**

**OTIMIZAÇÃO DOS PROTOCOLOS REGULARES DE  
LIMPEZA EM AMBIENTES ODONTOLÓGICOS**

Tese apresentada para a obtenção do título de  
Doutor pelo curso de Doutorado em  
Odontologia do Departamento de Odontologia  
da Universidade de Taubaté

Área de Concentração: Dentística.

Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Laís Regiane Silva  
Concílio

Co-Orientadora: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Priscila Christiane  
Suzy Liporoni

**Taubaté – SP  
2023**

**Grupo Especial de Tratamento da Informação – GETI  
Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBi  
Universidade de Taubaté - UNITAU**

F866o Freitas, Maiara Rodrigues de  
Otimização dos protocolos regulares de limpeza em ambientes  
odontológicos / Maiara Rodrigues de Freitas. -- 2023.  
81 f. : il.

Tese (doutorado) - Universidade de Taubaté, Pró-reitoria  
de Pesquisa e Pós-graduação, Taubaté, 2023.

Orientação: Profa. Dra. Laís Regiane da Silva Concílio,  
Departamento de Odontologia.

Coorientação: Profa. Dra. Priscila Christiane Suzy Liporoni,  
Departamento de Odontologia

1. Bioaerossol. 2. Contaminação de superfície. 3. Efeito  
residual. 4. Protocolo de desinfecção. I. Universidade de Taubaté.  
Programa de Pós-graduação em Odontologia. II. Título.

CDD – 617.601

**MAIARA RODRIGUES DE FREITAS**

Data: \_\_\_\_\_

Resultado: \_\_\_\_\_

**BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dr. \_\_\_\_\_ UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ

Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_ UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ

Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_ UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ

Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

Prof. Dr. \_\_\_\_\_

Assinatura: \_\_\_\_\_

*Dedico este trabalho aos meus pais,  
que sempre foram meus maiores  
incentivadores.*

*Dedico ao meu namorado, pela  
cumplicidade e apoio às minhas  
escolhas.*

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente agradeço à Deus.

Aos meus pais, Laíse e Eosmar, que sempre estiveram ao meu lado, eu não seria nada sem vocês. Ao meu namorado, cujo suporte foi mais do que essencial para que eu chegasse onde estou. Aos meus amigos, Natalia, Ana Carolina e Maria Julia que muito me ouviram e me aconselharam durante esse período.

Agradeço aos Professores Lais Concílio, Sheila Cortelli e José Roberto Cortelli, pela confiança em mim depositada, dada a oportunidade de fazer parte deste projeto de pesquisa grandioso. Pela minha indicação da bolsa de estudos e pela oportunidade que tive de compor um grupo de pesquisa de excelência. Agradeço à disponibilidade do Prof. Cortelli em nos passar seu conhecimento, muitas vezes nos deu aulas online dias de sábado, fizemos diversos cursos que não estavam no cronograma e discutimos assuntos que muito me acrescentou.

Agradeço à minha orientadora, Prof<sup>a</sup>. Lais, por aceitar conduzir a minha orientação, pelo seu tempo dedicado à minha tese e aos experimentos; pelos ensinamentos; por mostrar a direção correta para realização do projeto; por sempre estar disponível e disposta a me ajudar e ser sempre compreensível.

A Prof<sup>a</sup>. Priscila Liporoni, que, além de me mostrar o caminho desde muito cedo, me ajudou a trilhar cada passo e sempre confiou em mim, me dando oportunidades de crescimento profissional e também pessoal. Sempre disposta a me ajudar e a fazer o necessário para o meu bem e felicidade.

A todos os Professores do Programa de Pós-Graduação da Universidade de Taubaté. Ao Prof. Rodrigo pelas análises PCR, por explicar cada passo e me orientar na realização. Ao Prof. Emanuel, pelos ensinamentos e, em especial, pela orientação na condução e escrita de revisões sistemáticas, ensinamentos que muito acrescentaram na minha formação.

Ao Prof. Davi, pelas explicações e delineamento dos experimentos; valiosa ajuda com a condução estatística dos estudos piloto e do experimento final; pela ajuda com as leituras das placas; por sempre responder as mensagens de prontidão e tirar as minhas dúvidas, com muita paciência para me explicar os detalhes.

A Isabelle, que esteve comigo em praticamente todos os projetos nessa minha jornada. Me ajudou, ficou ao meu lado. Passamos por dificuldades, mas, todas as vezes, colhemos bons resultados juntas de todos os trabalhos feitos.

A Universidade de Taubaté.

Ao Laboratório CEPEO, ao técnico Flávio pela disposição em me ajudar em todas as etapas dos experimentos, ajuda com a manipulação dos materiais, na organização e preparo para que o experimento do dia sempre pudesse realizado.

Aos voluntários presentes no CEPEO nos dias da realização dos experimentos, que possibilitaram a coleta dos materiais necessários.

Ao Laboratório de Bioengenharia do ITA, assim como todos os presentes lá, pela ajuda e prontidão no planejamento e realização todas as partes do projeto. Em especial à Prof<sup>a</sup>. Priscila Fernandes e Prof. Willians pelo conhecimento passado semanalmente em todas as reuniões, presencial e online.

A Bolsa de Estudos da Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - CAPES, no âmbito do Edital nº 12 /2020 - CAPES - Telemedicina e Análise de Dados Médicos, vinculado ao Projeto no 88887.507007/2020-00.

Freitas, MR. Otimização dos protocolos regulares de limpeza em ambientes odontológicos. Universidade de Taubaté, 2023.

## RESUMO

**Background:** No ambiente odontológico, diversos patógenos são facilmente transportados por meio de aerossol contaminado. Esses se depositam em superfícies e podem facilitar a propagação das infecções cruzadas.

**Objetivo:** Avaliar, *in vitro*, uma forma de otimizar os protocolos regulares de limpeza em ambientes odontológicos, comparando o efeito residual de duas substâncias desinfetantes em amostras impressas em PLA.

**Métodos:** A metodologia analítica foi definida após a realização de projetos pilotos. Foram 4 os tempos de coleta, T1: 20 min após contaminação, T2: após desinfecção, T3: imediatamente após segunda contaminação (efeito residual) e, T4: após segunda desinfecção. As unidades formadoras de colônias bacterianas (UFC) foram contadas e os resultados submetidos aos testes t pareado e t student.

**Resultados:** Independente do grupo e atmosfera analisados, o comportamento se mostrou semelhante, sendo o tempo 3, estatisticamente ( $p < 0,05$ ) maior que os tempos 1, 2 e 4, que se mostraram iguais. Em comparação com o álcool 70°GL puro, o álcool 70°GL enriquecido com dióxido de titânio e sulfonato de dodecilbenzeno de sódio mostrou resultados promissores em experimentos laboratoriais.

**Conclusão:** Em comparação com o álcool 70°GL puro, o álcool 70°GL enriquecido apresentou resultados promissores em experimentos laboratoriais, sendo mais eficiente na desinfecção de superfícies rugosas, bem como ação eficaz quando avaliado o tempo residual de desinfecção.

**Palavras-chave:** Bioaerossol; Contaminação de superfície; Efeito residual; Protocolo de desinfecção

Freitas, MR. Improvement of regular cleaning protocols in dental environments. Taubate University, 2023.

## **ABSTRACT**

**Background:** In the dental environment, several pathogens are easily transported by means of contaminated aerosol. These deposit on surfaces and can facilitate the spread of cross-infection.

**Objective:** To evaluate, in vitro, a way to optimize regular cleaning protocols in dental environments, comparing the residual effect of two disinfectant substances on samples printed in PLA.

**Methods:** The analytical methodology was defined after carrying out pilot projects. There were 4 collection times, T1: 20 min after contamination, T2: after disinfection, T3: immediately after second contamination (residual effect) and, T4: after second disinfection. The bacterial colony forming units (CFU) were counted and the results submitted to paired t and student t tests.

**Results:** Regardless of the group and atmosphere analyzed, the behavior was similar, with time 3 statistically ( $p < 0.05$ ) greater than times 1, 2 and 4, which were similar. Compared to pure 70°GL alcohol, 70°GL alcohol enriched with titanium dioxide and sodium dodecylbenzene sulfonate showed promising results in laboratory experiments.

**Conclusion:** Compared to pure 70°GL alcohol, enriched 70°GL alcohol showed promising results in laboratory experiments, being more efficient in the disinfection of rough surfaces, as well as effective action when evaluating the residual disinfection time.

**Keywords:** Bioaerosol; Surface contamination; Residual effect; disinfection protocol

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 –	Definição dos termos.	22
Tabela 2 -	Descrição dos tempos das coletas que foram realizadas.	53

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Amostra lisa (a), amostra com ranhuras (b).	39
Figura 2 –	Linha do tempo do Estudo Piloto 1.	40
Figura 3 –	Protocolo de coleta com o swab das amostras lisas (1) e com canaletas (2).	40
Figura 4 –	Placas do estudo piloto 1 dentro da estufa para crescimento aeróbio e anaeróbio.	42
Figura 5 –	Comparativo visual de placas representativas de crescimento aeróbio do Estudo Piloto 1.	43
Figura 6 –	Comparativo visual de placas representativas de crescimento anaeróbio do Estudo Piloto 1.	43
Figura 7 –	Esquema representativo do tamanho do Swab (em branco) e do aplicador flexível (em azul) que será utilizado.	44
Figura 8 –	Placas do estudo piloto 2 dentro da estufa para crescimento aeróbio.	47
Figura 9 –	Linha do tempo ilustrativa do Estudo piloto 2.	47
Figura 10 –	Novo design de amostra para o estudo piloto 3. (A) imagem gerada no software com as medidas das canaletas. (B) amostra já impressa em polímero, destacada da base e com os acabamentos realizados. (C) representação do tamanho aproximado do microbrush, para que a coleta das quinças internas seja mais eficaz.	48

- Figura 11 – Comparativo visual após 48 h de crescimento na estufa. (Lisa: amostras sem canaletas. RV: amostras com canaletas design anterior. RN: amostras com canaletas design novo). 50
- Figura 12 – Distribuição média dos valores de Ufc para as amostras lisas, rugosas com canaletas com novo design (RN) e rugosas com canaletas de design antigo (RV). \* - Diferença estatisticamente significativa, teste ANOVA + t student (p=0,0001). 51
- Figura 13 – (A) pesagem do SDBS. (B) pesagem do TiO<sub>2</sub>. (C) momento da agitação no ultrassom. 55
- Figura 14 – Solução enriquecida com TiO<sub>2</sub> e SDBS pronta para o uso. 56
- Figura 15 – Distribuição média dos valores de UFC quando da desinfecção com álcool 70°GL enriquecido com dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) + sulfonato de dodecilbenzeno de sódio (SDBS) após crescimento aeróbico. 58
- Figura 16 – Distribuição média dos valores de UFC quando da desinfecção com álcool 70°GL enriquecido com dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) + sulfonato de dodecilbenzeno de sódio (SDBS) após crescimento anaeróbico. 59

Figura 17 –	Distribuição média dos valores de UFC quando da desinfecção com álcool 70°GL após crescimento aeróbico.	59
Figura 18 –	Distribuição média dos valores de UFC quando da desinfecção com álcool 70°GL após crescimento anaeróbico.	60
Figura 19 –	Distribuição média dos valores de UFC nos tempos de coleta com os agentes desinfetantes utilizados para crescimento aeróbico.	61
Figura 20 –	Distribuição média dos valores de UFC nos tempos de coleta com os agentes desinfetantes utilizados para crescimento anaeróbico.	61
Figura 21 –	Comparativo visual das placas com a substância desinfetante Álcool 70°GL. (1) T1, aerobiose; (2) T2, aerobiose; (3) T3, aerobiose; (4) T4, aerobiose; (5) T1, anaerobiose; (6) T2, anaerobiose; (7) T3, anaerobiose; (8) T4, anaerobiose.	62
Figura 22 –	Comparativo visual das placas com a substância desinfetante Álcool 70°GL + TiO <sub>2</sub> + SDBS. (1) T1, aerobiose; (2) T2, aerobiose; (3) T3, aerobiose; (4) T4, aerobiose; (5) T1, anaerobiose; (6) T2, anaerobiose; (7) T3, anaerobiose; (8) T4, anaerobiose.	63

# SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b>	<b>16</b>
<b>2 REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>20</b>
2.1 Contaminação geral	20
2.2 Procedimentos odontológicos geram contaminação no ambiente	21
2.3 Contaminação proveniente do procedimento odontológico em superfície	26
2.4 Desinfecção das superfícies do ambiente odontológico	28
2.5 Nanomateriais e controle microbiano	29
<b>3 PROPOSIÇÃO</b>	<b>36</b>
<b>4 METODOLOGIA</b>	<b>37</b>
4.1 Procedimentos éticos	37
4.2 Realização de estudos piloto para implementação da metodologia	37
4.3 Descontaminação inicial e preparo de solução para contaminação das amostras	37
4.4 Estudo piloto 1	39
4.5 Estudo piloto 2	45
4.6 Estudo piloto 3	48
4.7 Delineamento experimental	51
4.8 Desenho, impressão e acabamento das amostras	52
4.9 Tempos de coleta	53
4.10 Solução contaminante e protocolo de contaminação	53

4.11 Substâncias usadas para descontaminação	54
4.12 Cultivo microbiológico	56
4.13 Análise estatística	57
<b>5 RESULTADOS</b>	<b>58</b>
<b>6 DISCUSSÃO</b>	<b>64</b>
<b>7 CONCLUSÃO</b>	<b>69</b>
<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>70</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Com o advento da pandemia de SARS-CoV-2, o tema contaminação de ambientes e superfícies voltaram ao centro das atenções. A Administração de Segurança e Saúde Ocupacional dos Estados Unidos classificou a odontologia como uma das ocupações de alto risco para transmissão da doença por causa de aerossóis produzidos advindos da cavidade bucal e contaminação direta com a substância salivar (United States Department of Labor, 2020).

A literatura mostra que os tratamentos odontológicos aumentam significativamente a contaminação biológica dos operadores para um nível mais alto do que as áreas públicas (Ionescu *et al.*, 2020; Kimmerle *et al.*, 2012; Zemouri *et al.*, 2017). Os aerossóis e respingos produzidos pelas peças de mão são capazes de transportar e difundir qualquer patógeno que esteja presente no ambiente bucal e na saliva (Ionescu *et al.*, 2020). Estes patógenos incluem bactérias e vírus alojados no nariz, garganta e trato respiratório (Ionescu *et al.*, 2020).

Devido às características dos consultórios odontológicos, o risco de infecção cruzada é uma grande preocupação para os profissionais da saúde. Além do SARS-Cov, patógenos causadores de doenças como hepatites (B e C), tuberculose, síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS) e citomegalovírus são facilmente transportados por meio de aerossol contaminado, e depositados em superfícies (Gallagher *et al.*, 2020; Kampf *et al.*, 2020).

Há evidências de que a disseminação de patógenos seja feita por meio de aerossóis e respingos. Os aerossóis são pequenas partículas aerotransportadas e micro gotículas de até 5 micrômetros de diâmetro (Ionescu *et al.*, 2020). Os respingos, diferentemente dos aerossóis, são partículas maiores

para serem inaladas (100 µm) (Leggat e Kedjarune, 2001a) entretanto podem contaminar a pele, os olhos, o cabelo, as roupas, o campo operatório e movimentar-se por corrente de ar, depositando-se nas superfícies: cadeira odontológica, móveis, pisos e teto (Ionescu *et al.*, 2020). Uma vez que as gotículas/aerossóis se disseminam no ar ou depositam-se em superfícies, estes meios passam a desempenhar papel fundamental na propagação das doenças (Lelieveld *et al.*, 2020).

O risco de infecção cruzada é uma grande preocupação para os profissionais da saúde. Alguns equipamentos e superfícies do ambiente clínico odontológico, apresentam áreas com ranhuras, arestas e ângulos que permitem o acúmulo de material contaminado, podendo interferir na limpeza e desinfecção adequada das áreas.

A transmissão de microrganismos em superfícies secas contaminadas foi postulada incluindo a auto inoculação das membranas mucosas do nariz, olhos ou boca (Geller, Varbanov e Duval, 2012; Otter *et al.*, 2016), enfatizando a importância de um entendimento detalhado da persistência destes em superfícies inanimadas (Geller, Varbanov e Duval, 2012). Dentre várias ações possíveis para o enfrentamento da contaminação, destaca-se o controle desses agentes, por meio de proteção antimicrobiana para superfícies.

Biocidas, como peróxido de hidrogênio, etanóis, hipoclorito de sódio ou cloreto de benzalcônio, são usados em todo o mundo para desinfecção, principalmente em ambientes de saúde (Kampf, 2018). Embora o álcool seja eficaz na eliminação das contaminações, seu efeito residual é pequeno devido à sua característica volátil (Boyce, 2018).

Partículas em escala nanométrica (prata, cobre e titânio) vem sendo utilizadas em indústria alimentícia, têxtil e odontológica como moléculas bactericida, virucida e fungicida. Dentre essas, o dióxido de titânio ( $\text{TiO}_2$ ) é amplamente utilizado como material autolimpante e autodesinfetante em muitas aplicações (Fujishima, Rao e Tryk, 2000), para manter ambientes biologicamente limpos (Matsunaga *et al.*, 1988; Sunada *et al.*, 1998). A irradiação com luz ultravioleta (UV) gera espécies reativas de oxigênio na superfície do  $\text{TiO}_2$ , incluindo radicais hidroxila (OH) e superóxido ( $\text{O}_2^-$ ) (Maness *et al.*, 1999) que possuem forte atividade oxidativa e destroem compostos orgânicos. Embora seu efeito seja catalisado por luz, sua forma pura já mostra resultados antimicrobianos promissores (Levina *et al.*, 2016).

$\text{TiO}_2$  é um material inerte, não tóxico e de baixo custo, com alto índice de refração e alta capacidade de absorção de luz UV (Fonseca *et al.*, 2015), além de ter baixo custo e ser facilmente encontrado no Brasil. Ainda, tensoativos incorporados à uma solução auxilia na diminuição da sua tensão superficial, fazendo com que tenha o aumento da sua molhabilidade, resultando em uma maior área alcançada.

São claros os riscos de contaminação cruzada entre pacientes e membros da equipe da saúde bucal entre sessões de tratamento odontológico. E, mesmo após a limpeza do ambiente e superfícies, algumas áreas podem ainda permanecer contaminadas devido à dificuldade de acesso e topografia das superfícies do ambiente.

Com base na problemática apresentada, o objetivo desse estudo foi avaliar, *in vitro*, a efetividade do álcool 70°GL enriquecido com dióxido de titânio ( $\text{TiO}_2$ ) + sulfonato de dodecilbenzeno de sódio (SDBS) avaliando a cultura de

microrganismos aeróbios e anaeróbios, quando comparados ao álcool etílico hidratado 70° puro.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Contaminação geral

Aerossóis e respingos produzidos por peças de mão são capazes de transportar e difundir patógenos da cavidade oral e saliva para o ambiente extra-oral (Ionescu *et al.*, 2020). Esses patógenos incluem bactérias, fungos e vírus alojados no nariz, garganta e trato respiratório.

Entre as espécies bacterianas, Osorio *et al.* (1995)(Osorio *et al.*, 1995) já havia detectado a presença de *Streptococcus ssp.* e *Staphylococcus ssp.* nos aerossóis produzidos mecanicamente por peças de mão em procedimentos odontológicos. Outras espécies, como *Mycobacterium tuberculosis*, foram encontradas em partículas de aerossol geradas por uma peça de alta rotação usada durante procedimentos odontológicos simulados em pacientes com tuberculose ativa (Belting, Haberfelde e Juhl, 1964). A presença de *Staphylococcus aureus*, *Varicella Zoster Virus*, *Streptococcus spp.* e *Aspergillus spp.* também foi relatada (Gralton *et al.*, 2011). Além dos presentes na saliva, outros patógenos podem estar presentes no sangue e na mucosa, como vírus da herpes simples tipos 1 e 2 (Petti e Lodi, 2019), vírus da hepatite B e C (Ferreiro, Dios e Scully, 2005)., citomegalovírus (Plosa *et al.*, 2012) e HIV (Sebastiani, Dym e Kirpalani, 2017).

Um procedimento odontológico realizado em um indivíduo infectado pode, portanto, aumentar o risco de contaminação para os pacientes, membros da equipe odontológica e para o ambiente clínico. A dispersão do aerossol gerado pelas peças de mão tem sido analisada por diversos estudos, o que resultou em uma série de recomendações para evitar a contaminação (Gallagher *et al.*, 2020;

Ionescu *et al.*, 2020; Klompas, Baker e Rhee, 2021; Komperda *et al.*, 2021; Leggat e Kedjarune, 2001b; Lelieveld *et al.*, 2020; Micik *et al.*, 1969; Sebastiani, Dym e Kirpalani, 2017).

É reconhecido que o tamanho da partícula é o determinante mais importante do comportamento do aerossol (Gallagher *et al.*, 2020). Diferenças no comportamento aerodinâmico de gotas maiores e menores são responsáveis pela distinção entre gotas, respingos e aerossóis. Prather *et al.* (2020) (Prather *et al.*, 2020) indica o limite para que as gotas sejam consideradas aerossóis como 100  $\mu\text{m}$ . Já os aerossóis consistem em uma suspensão de líquido no ar, com partículas menores que 5 $\mu\text{m}$ , que são responsáveis pela transmissão de microrganismos aerossóis no ar e podem permanecer no ar por horas (Gallagher *et al.*, 2020).

Respingos são suspensões de ar de partículas líquidas ou sólidas com um tamanho de partícula maiores que 100  $\mu\text{m}$ . São muito grandes para serem inalados, mas podem contaminar a pele, os olhos, o cabelo e as roupas, além da área de trabalho (Ionescu *et al.*, 2020).

Partículas de aerossol podem permanecer suspensas por um tempo relativamente longo (até 30 minutos) após o final de um procedimento operatório e são facilmente espalhadas por todo o ambiente operatório por meio de correntes de ar (Harrel e Molinari, 2004).

Para um melhor esclarecimento dos termos adotados nesta Tese, é necessária a definição de alguns termos, esses estão na tabela 1.

Solução degermante	é um antisséptico associado a um agente tensoativo
--------------------	--

Solução Desinfetante	elimina todos os microorganismos de superfícies inanimados, com exceção das formas microbianas esporuladas
Esterilização	é a total eliminação da vida microbiológica destes materiais.
Substâncias tensoativas /tensoativas/surfactantes	são substâncias que diminuem a tensão superficial ou influenciam a superfície de contato entre dois líquidos
Sabão	é um produto tensoativo usado em conjunto com água para lavar e limpar

Tabela 1 – Definição dos termos.

## 2.2 Procedimentos odontológicos e contaminação no ambiente

O ambiente odontológico tem um risco de contaminação por aerossol considerado elevado devido às características únicas dos equipamentos odontológicos. Dentre os procedimentos, os que necessitam de instrumento rotatório ou oscilatório contendo spray de resfriamento se torna uma das principais fontes de respingos e aerossóis (Ionescu *et al.*, 2020).

A disseminação de microorganismos da cavidade oral durante procedimentos odontológicos tem sido uma preocupação desde a década de 1960. Os primeiros estudos de Belting *et al.*, (1964) (Belting, Habermelde e Juhl, 1964) e Micik *et al.* (1969) (Micik *et al.*, 1969) indicam que procedimentos com equipamentos rotatórios, principalmente as peças de alta rotação, são responsáveis por maiores níveis de contaminação quando comparados à outras atividades odontológicas.

No artigo de Ionescu et al. (2020) (Ionescu *et al.*, 2020) o objetivo foi mapear e quantificar a contaminação biológica de um ambiente odontológico. Foi realizada uma suspensão de um marcador biológico bacteriano, *Streptococcus mutans*, que foi armazenada no recipiente da cadeira odontológica e utilizada como solução para irrigação durante a simulação de procedimentos em três peças de mão: a alta rotação, contra ângulo e ultrassom. Um manequim foi posicionado na cadeira odontológica e o operador realizou os procedimentos odontológicos e placas de petri com meio de cultura foi posicionado em diversos locais no consultório, cadeira odontológica, chão, paredes e teto em lugares padronizados e demarcado. O procedimento foi repetido quinze vezes para cada peça de mão e desinfecção do ambiente entre as aplicações, foi também realizado um procedimento sem a suspensão bacteriana, utilizado como controle. Todos os instrumentos testados espalham o marcador pela cadeira odontológica e ambiente circundante, incluindo as paredes e o teto. O padrão e o grau de contaminação foram relacionados à distância da fonte de infecção, onde a distância máxima de detecção do marcador foi de 360 centímetros para alta rotação, 300 cm para contra-ângulo e 240 cm para ultrassom. Nenhuma superfície do consultório odontológico ficou livre do marcador biológico após o uso da alta rotação. Concluiu-se que há uma preocupação com o uso de instrumentos rotatórios e ultrassônico, visto que a disseminação do marcador biológico foi alta e disseminaria doenças presentes na cavidade oral do paciente.

Meethil et al., 2021 (Meethil *et al.*, 2021) rastrearam a origem da microbiota em aerossóis gerados durante a raspagem com ultrassom, osteotomia para implante e procedimentos restauradores combinando com RT-PCR (para

identificar e quantificar o SARS-CoV-2) e o sequenciamento 16S (para caracterizar todo o microbioma). Em resumo, os autores encontraram evidências suficientes para rejeitar a hipótese de que a saliva é uma fonte potencial de transmissão de doenças durante os AGDPs. Em vez disso, eles identificaram que o irrigante usado em equipamentos odontológicos é a principal fonte de microrganismos durante os procedimentos. Também demonstraram que os sugadores durante o procedimento são altamente eficazes na redução da contaminação salivar do ambiente circundante e que os enxaguatórios bucais pré-procedimento reduzem consistentemente as biocargas microbianas salivares. Assim, os autores concluíram que o risco de transmissão de SARS-CoV-2 e outros patógenos respiratórios da saliva em aerossol em consultórios odontológicos é moderadamente baixo e que as práticas atuais de controle de infecção são suficientemente para proteger equipe e pacientes.

Ainda em relação ao estudo Meethil et al., 2021 (Meethil *et al.*, 2021), o experimento foi realizado com 28 participantes, em um ambiente fechado com ventilação de 6 trocas/min. Sugadores intraorais de alto volume (capacidade média de sucção, 7,1 L/min) foram utilizado durante os procedimentos e os aparelhos ultrassônicos foram usados com irrigação (fluxo de água de 19,3 mL/min) e uma alta rotação com uma única porta de refrigeração e vazão de 23mL/min foi usada para procedimentos restauradores, nesse estudo também foi avaliado a realização de um implante. Foi avaliado a utilização de um enxaguatórios pré procedimento, onde indivíduos utilizaram um bochecho com e peróxido de hidrogênio a 1% (30 mL por 1 min). Antes do procedimento, 1 mL de saliva não estimulada e do irrigante da unidade odontológica (ou do motor de implante) foi coletado em tubos contendo estabilizador de RNA (RNALater;

Oragene). Aos 30 min após o procedimento, o aerossol foi coletado dos protetores faciais do operador e assistente, do tórax do paciente e de uma área de 6 pés distante do local da operação (“ambiente”). Foi encontrado diferenças significativas entre as classes de bactérias do microbioma salivar e a microbiota de aerossol depositada no operador, paciente, assistente ou ambiente ( $P < 0,01$ , análise de semelhanças).

Por outro lado, Ionescu et al., 2020 (Ionescu *et al.*, 2020) encontraram que os aerossóis e respingos produzidos pelas peças de mão são capazes de transportar e difundir qualquer patógeno que esteja presente no ambiente bucal e na saliva. A saliva pode conter uma variedade de patógenos e, apesar de vários mecanismos antimicrobianos, a transmissão destes pode ocorrer (Ferreiro, Dios e Scully, 2005).

O HIV / AIDS interrompe o equilíbrio microbiano do hospedeiro. Durante a progressão da doença, o ambiente microbiano oral é alterado em pessoas não tratadas vivendo com HIV / AIDS (Guo *et al.*, 2021). Assim, no estudo de (Guo *et al.*, 2021), foi avaliado as relações entre a disfunção imune e alterações na microbiota salivar e foi observado que, há abundâncias bacterianas na saliva que aumentam dramaticamente durante a infecção aguda pelo HIV. Assim, além do vírus HIV, em indivíduos portadores da doença, há bactérias, como *Porphyromonas* e *Solobacterium*, que estão presente na saliva e geram preocupação quanto à possível disseminação para o ambiente odontológico após um procedimento.

Nesse mesmo contexto, a saliva tem sido descrita como uma amostra menos invasiva e de fácil manuseio, em comparação com swabs nasofaríngeos, no diagnóstico de COVID-19 em adultos (Felix *et al.*, 2022). O estudo de Felix et

al. (2022) (Felix *et al.*, 2022) teve como objeto de estudo amostras de saliva de crianças com suspeita de COVID-19 atendidas em serviços públicos de saúde, concluindo que a saliva é uma amostra alternativa confiável para o diagnóstico de COVID-19 na população pediátrica. Sendo assim, o contato com essa saliva contaminada se mostra um possível vetor de contaminação para a doença.

Outra patologia transmissível pelo contato com saliva contaminada é a tuberculose pulmonar, uma doença infectocontagiosa bacteriana, provocada pelo *Mycobacterium tuberculosis*, dito bacilo de Koch, podendo atingir quase todos os tecidos do corpo, especialmente os pulmões, caracterizada pela formação de tubérculos caseosos. A Organização Mundial da Saúde (OMS) priorizou a pesquisa de testes rápidos baseados em biomarcadores para TB usando amostras de escarro de fácil obtenção, como saliva (Khambati *et al.*, 2021).

Além dessas doenças como mononucleose infecciosa (Womack e Jimenez, 2015) e herpes simples (Petti e Lodi, 2019), podem ser transmissíveis pelo contato de um indivíduo saudável com a saliva contaminada, porém, não há estudos demonstrando o tempo de sobrevivência de seu patógeno quando este está em aerossol.

Na tentativa de oferecer uma maneira de reduzir qualquer aerossol particulado gerado durante o procedimento odontológico com peças de mão, Nulty *et al.* (2020) (Nulty *et al.*, 2020) avaliou, por meio de um estudo comparativo, dispositivos externos de extração de alto volume. No total, dez procedimentos restauradores foram monitorados com um contador de partículas industrial posicionado à distância média de trabalho do operador de 420 mm. A contagem de partículas de aerossol foram registradas em níveis estatisticamente

aumentados durante procedimentos odontológicos sem um dispositivo HVE externo quando comparado quando do uso do dispositivo. Como foram encontradas diferenças significativas entre os resultados da quantidade de contagem de partículas de aerossol com e sem dispositivo HVE, os autores sugerem estudos *in vivo*, a viabilidade da utilização de dispositivos como HVE na prática clínica, visto que há resultados promissores no controle da disseminação de partículas de aerossol.

### 2.3 Contaminação em superfícies

Os fluidos orais tornam-se aerossóis durante os procedimentos com instrumentos rotatórios, alta rotação e contra ângulo, e oscilatórios, ultrassom. Quando combinados com spray de água, também fornecem um alto número de partículas de aerossol contendo fluidos corporais (por exemplo, saliva, sangue e placa dentária) e microrganismos (Bennett *et al.*, 2000).

A contaminação de superfícies pelo toque frequente em ambientes de saúde é uma fonte potencial de transmissão de doenças. Com o advento da pandemia de SARS-CoV-2, essa preocupação vem aumentando entre os profissionais da saúde. Os coronavírus humanos (SARS e MERS) podem permanecer infecciosos em superfícies inanimadas à temperatura ambiente por até 9 dias (Kampf *et al.*, 2020).

A importância da transmissão aérea de microrganismos na comunidade odontológica e o risco de infecção cruzada entre pacientes e entre pacientes e profissionais de saúde bucal são amplamente documentados, principalmente em relação aos patógenos transmitidos pelo sangue. No estudo de Prospero, Savini, Annino (2003) (Prospero, Savini e Annino, 2003), os autores determinaram a

contaminação bacteriana quantitativa e qualitativa das faces dos profissionais de saúde bucal e outras superfícies na prática odontológica durante procedimentos de rotina.

Nesse artigo, Prospero, Savini, Annino (2003) (Prospero, Savini e Annino, 2003), simularam atendimentos odontológicos para procedimento restaurador e de profilaxia. Durante os procedimentos foi avaliada a carga microbiana por meio de filtros coletores da máscara do operador, bandejas de carrinhos móveis, cuspeira e refletor de luz. Como resultado, as superfícies que apresentaram os maiores níveis de contaminação foram, em ordem decrescente: máscaras cirúrgicas do operador, refletor de luz, áreas próximas a cuspeira e bandejas móveis, que estavam mais distantes da boca dos pacientes durante os dois tipos de procedimentos odontológicos. O ponto mais interessante desta pesquisa talvez seja a estimativa da carga bacteriana que reveste o rosto dos profissionais de saúde durante o trabalho em um único paciente, foram encontradas amostras positivas para as diferentes superfícies de espécies de *Streptococcus* (42%), espécies de *Staphylococcus* (41%) e bactérias gram-negativas (17%).

Alguns autores enfatizaram a importância do uso de diques de borracha. Introduzidos para isolar o campo operatório da cavidade oral, esses dispositivos constituem uma barreira protetora contra a fonte de contaminação microbiana representada pela cavidade oral, reduzindo assim a disseminação ambiental de microrganismos. O aerossol gerado mecanicamente pelas peças de mão com a água continua existindo, porém, sem os patógenos presentes na saliva do paciente (Cochran, Miller e Sheldrake, 1989).

#### *2.4 Desinfecção das superfícies do ambiente odontológico*

A ANVISA, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, por meio da Resolução – RDC Nº 35, de 16 de Agosto de 2010, Dispõe sobre o Regulamento Técnico para produtos com ação antimicrobiana utilizados em artigos críticos e semicríticos. Essa compreende os produtos com ação antimicrobiana, destinados ao uso em objetos e ambientes relacionados à assistência à saúde.

No artigo de Kampf et al. (2020) (Kampf *et al.*, 2020), foi revisada a literatura sobre todas as informações disponíveis no que diz respeito à persistência de coronavírus humanos e veterinários em superfícies inanimadas bem como estratégias de inativação utilizando agentes biocidas para desinfecção química. Nesse estudo, os autores relatam que os coronavírus humanos, como SARS e MERS ou o coronavírus humanos endêmico (HCoV), podem persistir em superfícies inanimadas como metal, vidro ou plástico por até 9 dias, mas pode ser eficientemente inativado por procedimentos de desinfecção de superfície com etanol 62 – 71%, peróxido de hidrogênio 0,5% ou hipoclorito de sódio 0,1% durante o tempo de contato de 1 minuto. Outros agentes biocidas como cloreto de benzalcônio 0,05 – 0,2% ou digluconato de clorexidina 0,02% são menos eficazes.

Embora a carga viral de coronavírus em superfícies inanimadas não seja conhecida, parece plausível reduzir a carga viral em superfícies por desinfecção, especialmente de superfícies frequentemente tocadas no entorno imediato do paciente, onde a carga viral mais alta pode ser esperada (Kampf *et al.*, 2020).

O tempo de incubação da COVID tem sido descrita com tempos entre 2 a 10 dia. Sendo assim, o vírus pode persistir em superfícies por esse período e, quando não descontaminadas de maneira adequada, estas são meios propícios

para a contaminação cruzada, não só da COVID mas também de outras doenças, por meio de gotículas e toque das mãos.

Com a existência de infecções resistentes, é preciso reforçar a prevenção da infecção. Um produto com eficácia de longa duração tende a inibir a formação de biofilme.

Ribeiro et al. (2015) (Ribeiro *et al.*, 2015) realizaram uma revisão sistemática de literatura com o objetivo de avaliar a eficácia da limpeza e desinfecção de materiais semicríticos com álcool 70. Nesta revisão de literatura, observou-se que a desinfecção com álcool foi satisfatória para produtos de saúde como nasofaringoscópios, laringoscópios, filmes radiográficos e pontas de tonômetros. Esses produtos de saúde não possuem ranhuras e não são tubulares; ou seja, são estruturalmente menos complexos e entram em contato com menor quantidade de contaminantes, nos quais a desinfecção com álcool não se mostrou satisfatória nesta revisão. Nesse artigo, concluíram que a desinfecção de produtos semicríticos com álcool 70% não pode ser recomendada a todos os produtos de saúde de forma irrestrita. No entanto, de acordo com o tipo de produto semicrítico, a desinfecção pode ser obtida com ou sem limpeza prévia.

## 2.5 Nanomateriais e controle microbiano

A nanotecnologia é uma ciência que se dedica ao estudo da manipulação da matéria numa escala atômica e molecular lidando com estruturas entre 1 e 100 nanômetros. Os conceitos que semearam a nanotecnologia foram discutidos pela primeira vez no Encontro Anual da American Physical Society, Richard

Feynman apresentou uma palestra com o título “*There is plenty of room at the bottom*” (não falta espaço lá em baixo da escala) em 1959.

As moléculas-chave em biologia, como DNA, enzimas, receptores, antígenos, anticorpos e transportadores de oxigênio podem ser incluídos na escala nanométrica. Na era atual, as nanopartículas são consideradas uma oportunidade para a pesquisa biomédica, pois possuem níveis elevados de atividade bactericida no tratamento de doenças infecciosas (Ali *et al.*, 2016). Assim, há um interesse significativo no desenvolvimento de biomateriais antimicrobianos para aplicação na em embalagens de dispositivos médicos e alimentos (Kubacka *et al.*, 2007). Diferentes nanopartículas como prata (Zapata *et al.*, 2012), cobre (Palza *et al.*, 2010) e nanopartículas de TiO<sub>2</sub> (Kubacka *et al.*, 2009; Li *et al.*, 2009; Yañez *et al.*, 2015; Zapata *et al.*, 2012) têm sido incorporadas em polímeros, a fim de obter propriedades biocidas.

Na fabricação de materiais para proteção ambiental à Saúde, é ideal partir de materiais duráveis, quimicamente estáveis, e de complexidade e custo baixos (Fonseca *et al.*, 2015).

Particularmente, íons de prata e compostos à base de prata são o agente antimicrobiano bem conhecido pela importância medicinal desde 1000 aC e têm sido usados como um aditivo de saúde eficiente na medicina Ayurveda chinesa e indiana (Gupta e Silver, 1998). O nitrato de prata é usado para ação antimicrobiana há muito tempo, mas atualmente as nanopartículas de prata (Ag NPs) tem ação antimicrobiana eficiente devido à sua propriedade físico-química em que uma maior relação superfície/volume resultou em maior exposição superficial aos micróbios o que leva a fornecer melhores propriedades antimicrobianas (Deshmukh *et al.*, 2019).

Yin et al. (2020) (Yin *et al.*, 2020) em uma revisão de literatura sobre o mecanismo de ação das Ag NPs e a sua aplicação na odontologia, afirmam que formam um material que tem propriedades antibacteriana, antifúngica e antiviral com praticamente nenhum efeito adverso. O seu efeito antibacteriano se dá na penetração das paredes celulares, mudando a estruturas das membranas, resultando em morte celular. Sua eficácia se deve não apenas ao seu tamanho, mas também à sua grande proporção de área de superfície para volume, além de poder aumentar a permeabilidade das membranas celulares, produzir espécies reativas de oxigênio e interromper a replicação do ácido desoxirribonucleico pela liberação de íons de prata. Embora não haja um consenso na literatura sobre a segurança das nanopartículas de prata, nenhuma toxicidade sistêmica foi relatada pois, são liberadas baixas concentrações que não são tóxicas aos fibroblastos.

A adição de Ag NPs em materiais para uso odontologia vem sendo estudada, há estudos sobre a sua incorporação a resinas acrílicas (Castro, de *et al.*, 2018; Li *et al.*, 2016), adesivos (Dias *et al.*, 2019), solução irrigadora e material obturador no tratamento endodôntico (Mishra e Tyagi, 2018; Suzuki *et al.*, 2019), materiais adesivos no tratamento ortodôntico (Espinosa-Cristóbal *et al.*, 2018; Hernández-Gómora *et al.*, 2017), membrana para regeneração tecidual guiada no tratamento periodontal (Lee *et al.*, 2016; Mehrabani *et al.*, 2018), e revestimento em implantes dentários (Gunputh *et al.*, 2020; Pokrowiecki *et al.*, 2017). Quando incorporada a materiais odontológicos, há relatos de inibição do crescimento de bactérias como *Streptococcus mutans*, *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus* (Castro, de *et al.*, 2018) e a adesão de *Candida albicans* (Li *et al.*, 2016).

As indústrias têxteis estão mudando e adotando novas tecnologias não apenas no processamento de tecidos, mas também no uso de agente antimicrobiano para evitar a contaminação bacteriana. A escolha de Ag NPs é preferível em comparação com agentes antimicrobianos tradicionais, como sais metálicos, compostos quaternários de amônio e triclosan. Isso é superior devido a vários fatores, como resistência bacteriana, estabilidade, mais barato e benigno ao meio ambiente (Tamboli *et al.*, 2013; Wagener *et al.*, 2016). Portanto, é mais útil que a prata iônica, pois não pode gerar manchas nos tecidos, mantendo a respirabilidade e o manuseio dos tecidos. No entanto, há evidência de que as várias vias de exposição à prata, como o contato entre o tecido e a pele, bem como a ingestão e a inalação para crianças, são responsáveis pela toxicidade para as células humanas (Bender e Stutte, 2001).

No que diz respeito à efeitos adversos das Ag NPs, Deshmukh *et al.* (2019) (Deshmukh *et al.*, 2019) em sua revisão de literatura mostraram que há sinais de toxicidade *in vivo* ou *in vitro* devido às suas propriedades físico-químicas. E, o uso extensivo de Ag NPs como desinfetante pode ser um risco de resistência microbiana, o que reduz sua aplicabilidade. Em tecidos com Ag NPs incorporados, em que há um constante toque com a derme, pode acontecer uma mudança na cor cinza-azulada, devido à coloração e toxicidade das Ag NPs. A toxicidade surge da nanop prata ou prata dissolvida em água é muito debatida, mas os relatórios de pesquisa atuais mostram que a toxicidade surge devido a uma descarga de prata no ambiente no tipo particulado, bem como em tamanho nanométrico, em vez de prata dissolvida.

Por outro lado, o dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) é um material ecologicamente amigável e barato, além de atender a esses requisitos, é disponível no Brasil em

grande quantidade, e, principalmente, destaca-se por sua ação antimicrobiana que pode ser catalisada por luz UV (Levina *et al.*, 2016).

As nanopartículas de TiO<sub>2</sub> podem ser efetivamente usadas para diminuir a toxicidade de bactérias (Fonseca *et al.*, 2015; Gupta *et al.*, 2013; Verdier *et al.*, 2014). Ali *et al.*, em 2016 (Ali *et al.*, 2016), relataram que a atividade inibitória bacteriana do TiO<sub>2</sub> se deve à geração fotocatalítica de forte poder oxidante quando iluminado com luz UV em comprimento de onda inferior a 385 nm por 30 minutos. As partículas de TiO<sub>2</sub> catalisam a morte de bactérias na iluminação com luz UV, sendo a geração de radicais hidroxila livres ativos por partículas de TiO<sub>2</sub> fotoexcitadas, sendo os responsáveis pela atividade antibacteriana. Ainda, em seu artigo, os autores enfatizam que, em pouco tempo, as nanopartículas de TiO<sub>2</sub> terão um papel significativo na área de pesquisa médica para a produção de antibióticos eficazes contra diferentes bactérias resistentes a antibióticos .

Cui *et al.*, 2010 (Cui *et al.*, 2010) realizaram um estudo para investigar a eficiência do nanomaterial de TiO<sub>2</sub> como um novo desinfetante ecológico para controlar a gripe aviária por sua capacidade de esterilização fotoquímica. Como conclusão, a inativação dos vírus causador dessa patologia atingiu até 100%. Assim, a anatase (anatase é uma das três formas minerais do TiO<sub>2</sub>, sendo as outras duas o rutilo e a brookite) nano-TiO<sub>2</sub> é um agente antiviral potencialmente amigável ao meio ambiente para prevenir a gripe aviária.

Fonseca *et al.*, 2015 (Fonseca *et al.*, 2015) estudaram sobre a ação antimicrobiana do ácido polilático com nanopartículas de TiO<sub>2</sub>. O ácido polilático é um dos biopolímeros capazes de substituir os derivados do petróleo, que é derivado de recursos 100% renováveis, como açúcar, milho, batata e beterraba. Em relação às propriedades biocidas, após 2 h de contato, os compósitos de

ácido polilático enriquecido com  $\text{TiO}_2$  mostraram uma redução de colônias de *Escherichia coli* de aproximadamente 82% sob nenhuma irradiação UV em comparação com ácido polilático puro. Esta característica biocida pode ser aumentada sob irradiação UV, com nanocompósitos, matando 94% das bactérias. Os nanocompósitos de ácido polilático com  $\text{TiO}_2$  com 8% em peso também foram 99,99% efetivos contra *Aspergillus fumigatus* sob irradiação UV.

Nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  tem seu potencial antiviral quando agregados à compósitos. Liga et al., 2013 (Liga *et al.*, 2013) concluíram que as nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  atuam em regiões de RNA e DNA do vírus da influenza. Os nanocompósitos de  $\text{TiO}_2$  que agem em DNA de vírus podem ser usados com sucesso para a inibição eficiente e específica do local do vírus influenza A de diferentes subtipos.

Levina et al., 2010 (Levina *et al.*, 2016) estudaram que o  $\text{TiO}_2$  em suspensão ou absorvido em filme possui propriedades bactericidas e virucidas causadas por reações fotocatalíticas. Os autores fizeram microscopia eletrônica e mostraram que as nanopartículas de dióxido de titânio destruíram o vírus da gripe após 30 minutos de incubação. O efeito de inativação foi observado quando a incubação foi realizada no escuro, mostrando que as propriedades de inativação de vírus do  $\text{TiO}_2$  são baseadas principalmente no contato direto entre nanopartículas e partículas de vírus.

Nakano et al., 2017 (Nakano *et al.*, 2012) fizeram um estudo sobre a ação de inativação de microrganismos, comparando a inativação de várias espécies de bactérias e vírus quando suas suspensões foram lançadas em uma superfície de vidro revestido com  $\text{TiO}_2$ . Bactérias gram-positivas, por exemplo, *Staphylococcus aureus* resistente à metilina, *Enterococcus faecalis* resistente

à vancomicina e *Streptococcus pneumoniae* resistente à penicilina, foram facilmente inativadas por fotocatalise, enquanto algumas bactérias gram-negativas, por exemplo, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa* multirresistente, foram gradualmente inativados por fotocatalise. O vírus da gripe, um vírus envelopado, foi significativamente inativado por fotocatalise em comparação com o calicivírus felino, um vírus não envelopado.

### 3 PROPOSIÇÃO

#### Objetivo geral

Avaliar, *in vitro*, uma forma de otimizar os protocolos regulares de limpeza em ambientes odontológicos, comparando o efeito residual de duas substâncias desinfetantes em amostras impressas em PLA.

#### Objetivos específicos

- 1- Comparar a efetividade do álcool 70°GL puro e, do mesmo quando enriquecido com dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) + sulfonato de dodecilbenzeno de sódio (SDBS) em superfície de amostras de PLA;
- 2- Variar as atmosferas de crescimento microbiológico, aeróbio e anaeróbio;
- 3- Variar os tempo de contaminação e descontaminação (avaliação do efeito residual) na efetividade do álcool 70°GL enriquecido com dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) + sulfonato de dodecilbenzeno de sódio (SDBS);
- 4- Desenvolvimento de um protocolo analítico para a condução desta pesquisa através de estudos piloto.

## 4 METODOLOGIA

A metodologia foi conduzida em colaboração com o Laboratório de Bioengenharia do Instituto Tecnológico de Aeronáutica (ITA) e com o Centro de Pesquisa Odontológico (CEPEO).

### 4.1 Procedimentos éticos

Este estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade de Taubaté, e aprovado (CAAE: 42985121.0.0000.5501).

### 4.2 Realização de estudos piloto para implementação da metodologia

Com o objetivo de aprimoramento de uma substância desinfetante utilizada frequentemente em ambientes odontológicos, foram propostos projetos pilotos, *in vitro*, os quais nortearam a metodologia final do trabalho, e adicionalmente, trouxeram dados relevantes para a análise final dos resultados. Assim os estudos pilotos e seus resultados parciais também compõem a metodologia deste trabalho.

As amostras obtidas para os experimentos foram previamente desenhadas em um programa de computador (Blender, Stichting Blender Foundation, Amsterdam, Holanda) e impressas em material de poliácido láctico (PLA) por impressora 3D (Makerbot Replicator+, MakerBot Industries, Brooklyn, NY).

### 4.3 Descontaminação inicial e preparo de solução para contaminação das amostras

Foram impressas amostras lisas e com diferentes desenhos de canaletas. As amostras com canaletas tinham por finalidade simular os ângulos e arestas presentes na cadeira odontológica, nos móveis e nas demais superfícies, onde há contaminação, e a limpeza pode, muitas vezes, não ser tão efetiva pela dificuldade de acesso. Abaixo, na descrição dos estudos pilotos, estão descritos os desenhos dos diferentes tamanhos das amostras utilizadas. As amostras foram desenvolvidas e impressas no Laboratório de Bioengenharia do ITA.

A realização de todo o protocolo de processamento das amostras foi no CEPEO. Para descontaminação inicial das amostras foi a sua submersão durante um período de 8 horas em solução de Clorexidina 0,2% (Riohex, Rioquímica, São José do Rio Preto, Brasil) e, após o período, as mesmas foram retiradas da solução e secas com gaze estéril para remoção do excesso do líquido. Este procedimento foi adotado, visto a impossibilidade autoclavagem das amostras, por serem confeccionadas em material polimérico, não sendo resistente à altas temperaturas.

A contaminação das amostras foi realizada com uma solução contendo saliva humana colhida no momento da realização de cada projeto (sempre por 2 voluntários presentes no laboratório), e adicionada à soro fisiológico estéril formando uma solução. Em cada início de experimento, uma nova solução de contaminação foi feita e, a mesma descartada ao final.

A coleta de saliva não estimulada foi realizada em um tubo Falcon estéril (Olen, K30-050S) e a diluição da saliva com soro fisiológico, na proporção de 1:10, com soro fisiológico estéril. Esta mistura foi homogeneizada no vórtex (agitador de tubos WR 56, WR Research Products, Morumbi, São Paulo, Brasil) durante 2 minutos e dispensado em um recipiente com um borrifador acoplado

(Maximoplast, Sorocaba, São Paulo, Brasil). Assim, houve uma padronização da distância para posicionamento do frasco contendo a solução contaminante e o borrifador foi posicionado perpendicularmente as amostras, que estavam apoiadas na bancada, a 30 centímetros de distância.

A cultura microbiológica foi realizada em placas de petri contendo ágar sangue (Biocen do Brasil, Campinas, São Paulo, Brasil).

Foram realizados 3 estudos piloto e a metodologia de cada um será definida a seguir:

#### 4.4 Estudo piloto 1

As amostras impressas foram destacadas da base e os excessos removidos com o auxílio de uma peça reta (Micromotor 500, Kavo, Joinville, SC, Brasil) acoplado à um micromotor (Kavo, Joinville, SC, Brasil) e broca maxicut de tungstênio (American Burrs, Palhoça, SC, Brasil). Foram impressas amostras de 2 cm de diâmetro e 0,5 cm de altura, com a superfície lisa e outras contendo ranhuras de um milímetro de profundidade (figura1)

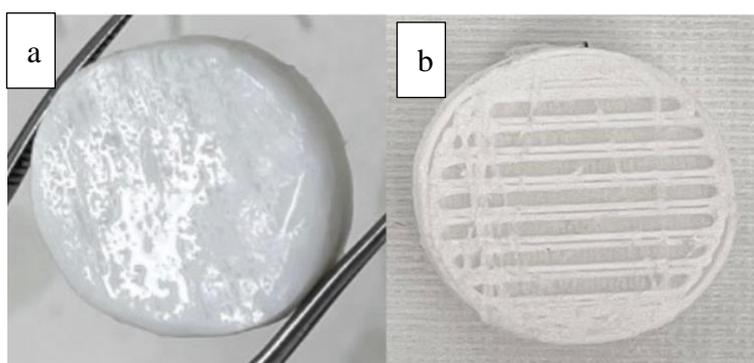


Figura 1 – Amostra lisa (a), amostra com ranhuras (b).

Dentre as amostras impressas, foram selecionadas aleatoriamente duas amostras lisas e duas amostras com ranhuras, dando um total de quatro corpos

de prova para esse estudo piloto. A desinfecção inicial ocorreu com clorexidina da forma já descrita anteriormente.

Os tempos que ocorreram a pré-contaminação, contaminação e sementeira estão representados na linha do tempo abaixo (figura 2)

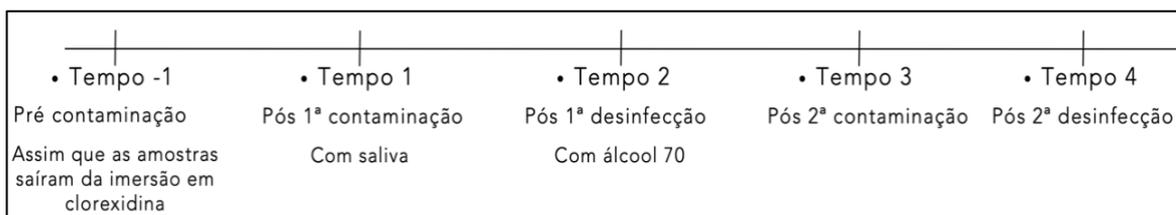


Figura 2 – Linha do tempo do Estudo Piloto 1.

Para a coleta e sementeira foi utilizado o método do esfregaço com um *swab* estéril (Neolab, São José dos Pinhais, Paraná, Brasil ) umedecido em soro fisiológico estéril (cloreto de sódio 0,9%, Samtec, Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil).

As coletas aconteceram a depender do tipo de cultivo, aeróbio ou anaeróbio (Figura 2):

- as placas que foram para o cultivo aeróbio, o *swab* umedecido em soro fisiológico estéril foi passado 5 vezes na amostra de cima para baixo e semeado nas placas original e duplicata;
- já as placas que iriam para o cultivo anaeróbio, o *Swab* foi passado 5 vezes, mas, de baixo para cima e semeado nas placas original e duplicata.

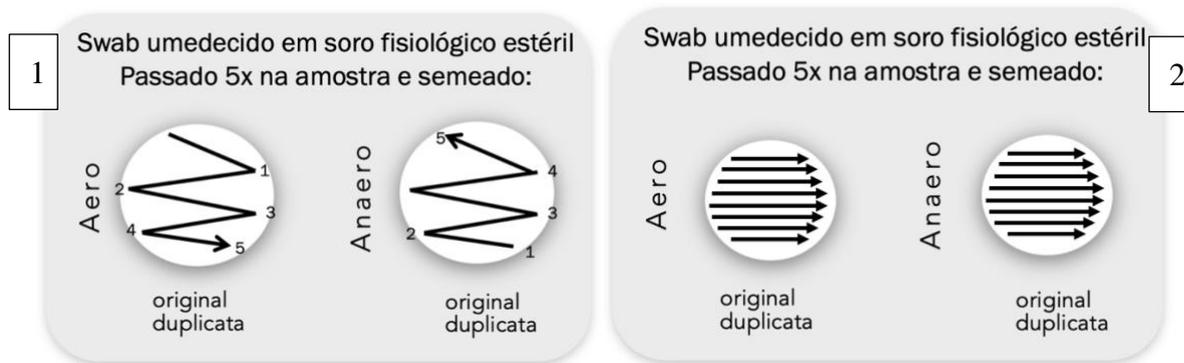


Figura 3 – Protocolo de coleta com o swab das amostras lisas (1) e com canaletas (2).

Para o cultivo anaeróbio, as placas foram colocadas em jarras para anaerobiose contendo o Anaerobac (Probac do Brasil Produtos Bacteriológicos Ltda, São Paulo, Brasil), gerador de atmosfera específico para cultivo de microrganismos estritamente anaeróbios, que faz com que aconteça uma reação de óxido-redução, diminuindo a concentração de oxigênio, em taxas abaixo de 3% e aumentando concentração de CO<sub>2</sub>. Ainda, dentro da jarra, foi colocado indicadores de CO<sub>2</sub> (Probac do Brasil Produtos Bacteriológicos Ltda, São Paulo, Brasil) para a confirmação.

Antes do início do experimento, as placas foram identificadas como: original ou duplicata; amostra lisa ou com canaletas; número da amostra; tempo de coleta; e cultura aeróbia ou anaeróbia.

Assim que as amostras saíram da imersão em clorexidina, o excesso do líquido foi removido totalmente com uma gaze estéril, momento em que aconteceu a coleta no tempo -1.

Então foi dado 2 flushes da solução de saliva, utilizando o protocolo já descrito, e aguardado o prazo de 20 min para crescimento dos microrganismos, nesse momento aconteceu a coleta no tempo 1.

Após a coleta no tempo 1, aconteceu a descontaminação com álcool etílico hidratado, 70 °GL (Álcool Zulu a 70°INPM, CNA, Companhia Nacional de Álcool, Piracicaba, São Paulo, Brasil) que foi inserido em um recipiente com borrifador (Maximaplast, Sorocaba, São Paulo, Brasil), sendo o recipiente o mesmo modelo do utilizado para o armazenamento da solução contaminante de saliva. A distância foi padronizada e dada 2 flushes do álcool na amostra (com a mesma padronização de posicionamento e distância da solução contaminante), e uma gaze estéril passada duas vezes. Imediatamente, houve a coleta no tempo 2.

A coleta no tempo 3 foi realizada após a recontaminação das amostras e aconteceu seguindo o protocolo já descrito (distância padronizada, 2 flushes perpendiculares às amostras), e aguardo do crescimento 20 minutos.

Após isso, aconteceu a descontaminação 2 das amostras, utilizando-se o mesmo protocolo da primeira, dando origem às coletas no tempo 4.

As placas foram para a estufa imediatamente após a semeadura, as destinadas ao crescimento anaeróbio ficaram dentro da jarra com o Anaerobac e as placas para crescimento aeróbio dentro da estufa bacteriológica, (Olidef cz, Ribeirão Preto, Brasil) à 35°C, ilustrado na figura 4.



Figura 4 – Placas do estudo piloto 1 no interior da estufa para crescimento aeróbio e anaeróbio.

### *Resultados do Estudo piloto 1*

As unidades formadoras de colônias bacterianas (UFC) foram avaliadas visualmente com o auxílio de um sistema automatizado de contagem de colônias, por um único pesquisador. Foram selecionadas aleatoriamente amostras e foram fotografadas para o comparativo visual (Figura 5 e 6).

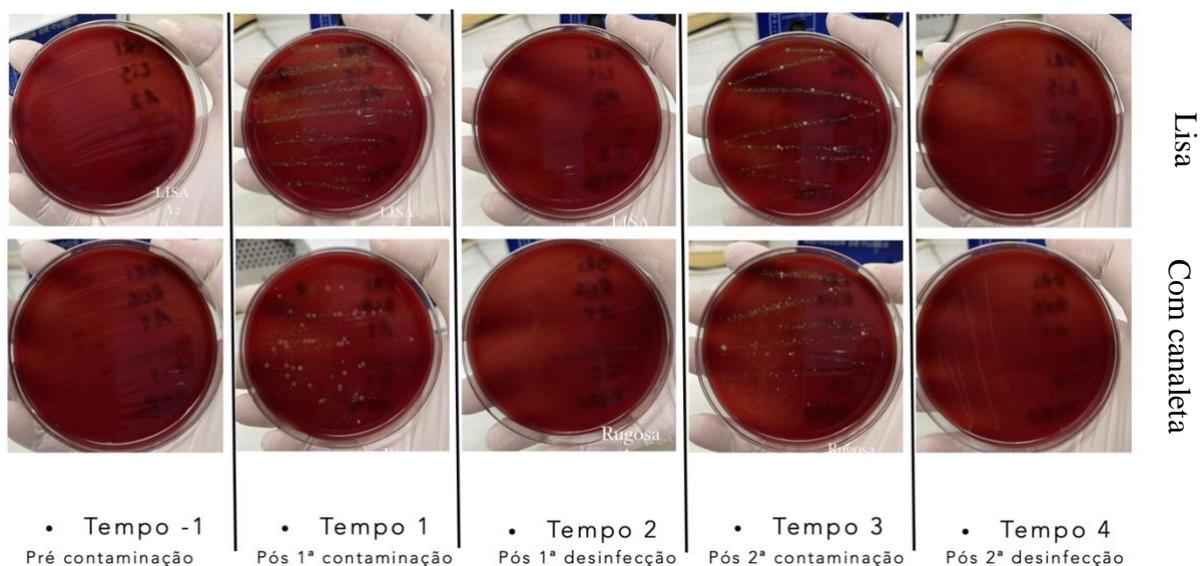


Figura 5 – Comparativo visual de placas representativas de crescimento aeróbio do Estudo Piloto 1.

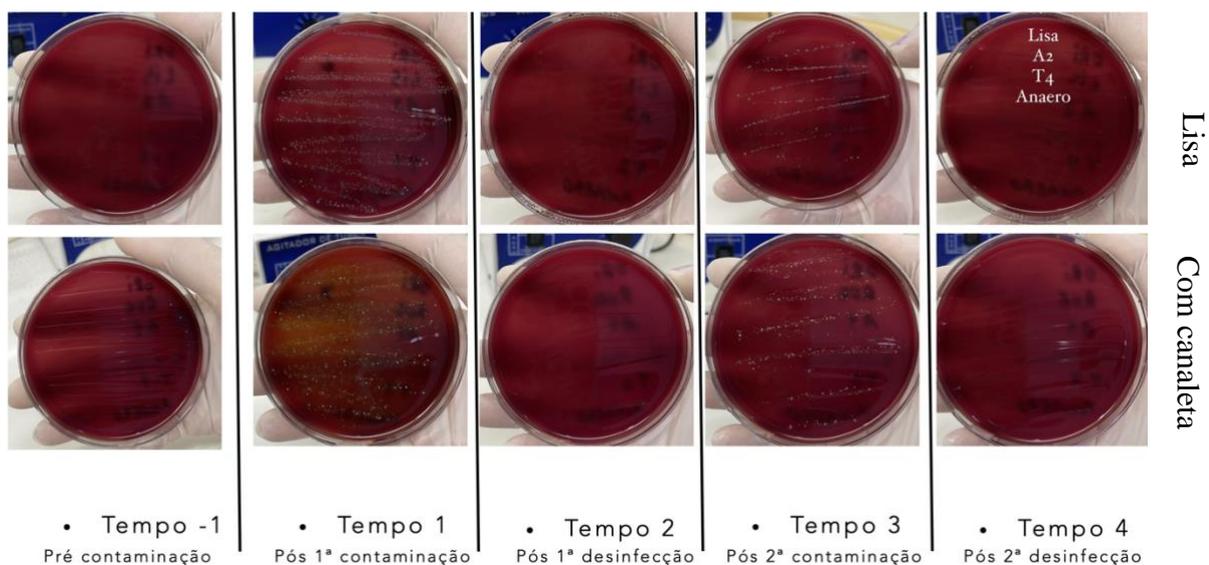


Figura 6 – Comparativo visual de placas representativas de crescimento anaeróbio do Estudo Piloto 1.

Com os resultados obtidos, foi possível concluir que :

- Metodologia de contaminação e descontaminação são viáveis;
- Após 12 h de imersão em clorexidina foi obtida superfície onde não houve crescimento bacteriano (controle);
- Álcool etílico hidratado, 70 °GL, foi efetivo na descontaminação após os dois episódios de contaminação tanto em amostras lisas como com canaletas;
- Perfil das placas de aerobiose e anaerobiose foram semelhantes.

Percebeu-se que o *swab* pode não ter sido efetivo na coleta dos microrganismos dentro das canaletas das amostras, pelo diâmetro do *swab* ser maior do que o da canaleta, algumas sugestões e modificações foram indicadas para que para melhoria e adequações metodológicas, sendo:

- Melhorar o acabamento das amostras e eliminação de ranhuras internas do sulco, aumentando a espessura para facilitar a coleta;

- Utilizar 2 métodos para descontaminação;
- Flush com álcool etílico hidratado, 70 °GL + limpeza da superfície com gaze estéril;
- Limpeza da superfície com gaze embebida em álcool etílico hidratado, 70 °GL;
- Utilizar micro aplicadores de haste flexível para a coleta da região interna da canaleta (Figura 7)

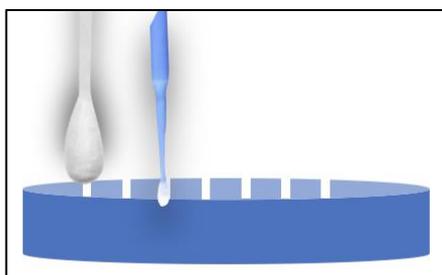


Figura 7 – Esquema representativo do tamanho do Swab (em branco) e do aplicador flexível (em azul) que será utilizado.

#### 4.5 – Estudo piloto 2

Tendo em vista melhorar os pontos mencionados no primeiro estudo piloto, as amostras após destacadas da base receberam um melhor acabamento e ampliação das canaletas com auxílio de uma peça reta (Micromotor 500, Kavo, Joinville, SC, Brasil) acoplado à um micromotor (Kavo, Joinville, SC, Brasil) e broca maxicut de tungstênio (American Burrs, Palhoça, SC, Brasil). Foram utilizados micro aplicadores de haste flexível (Kg Brush Fine, KG Sorensen, Cotia, SP, Brasil) para a coleta das regiões internas das ranhuras da amostras. Antes do início dos experimentos as amostras ficaram em imersão em Clorexidina 2% para desinfecção seguindo o protocolo já descrito.

Neste momento, o cultivo microbiológico foi de crescimento aeróbio e sem duplicata, tendo o total de quatro amostras (duas amostras lisas e duas amostras

com canaletas). As amostras com canaletas tiveram suas modificações realizadas com um disco diamantado dupla face (American Burrs, Palhoça, SC, Brasil) montado na peça reta e micromotor (Kavo, Joinville, SC, Brasil) resultando em uma canaleta mais espessa para facilitar a coleta da face interna.

A coleta de saliva, diluição em soro fisiológico (proporção 10:1), homogeneização e armazenamento ocorreram seguindo o protocolo já descrito e a solução armazenada da mesma forma.

Após saírem da imersão em clorexidina, as amostras e os microbrushes foram secos com gaze estéril (coleta tempo -1).

As amostras foram contaminadas e a coleta aconteceu após o tempo de 20 minutos, para o crescimento dos microrganismos (coleta tempo 1).

A descontaminação aconteceu seguindo dois protocolos distintos, como sugerido após realização do primeiro estudo piloto, sendo ambos feitos com álcool etílico hidratado (Álcool Zulu 70°INPM, CNA, Companhia Nacional de Álcool, Piracicaba, São Paulo, Brasil) que ficou armazenado no mesmo frasco com borrifador acoplado do estudo piloto 1. Em uma amostra lisa e uma amostra rugosa foi realizado o primeiro protocolo e, em outra amostra lisa e outra amostra rugosa, foi realizado o segundo protocolo (coleta tempo 2):

- no primeiro protocolo de descontaminação, o frasco contendo o álcool etílico hidratado foi posicionado a uma distância de 30 cm com a saída do líquido perpendicular as amostras que estavam posicionadas na bancada e o líquido dispensado pelo borrifador diretamente sobre as amostras;
- já no segundo protocolo de descontaminação, uma gaze estéril foi umedecida com álcool etílico hidratado e esta foi passada na amostra com 3 movimentos circulares no sentido horário.

Logo após finalizadas as sementeiras nas placas referentes ao tempo 2, houve a segunda contaminação (mesmo protocolo descrito) e, após 20 minutos para o crescimento, a coleta do tempo 3 foi realizada.

Após a sementeira do tempo 3, foi realizada a segunda fase de descontaminação, seguindo os protocolos referentes à cada amostra (protocolo 1 ou 2) e coleta do tempo 4.

As placas foram para a estufa imediatamente após a sementeira para crescimento aeróbio dentro da estufa à 37°C (figura 8) e ficaram por 48 horas.



Figura 8 – Placas do estudo piloto 2 no interior da estufa para crescimento aeróbio.

A Figura 9 mostra a linha do tempo, para ilustrar como aconteceram as coletas:

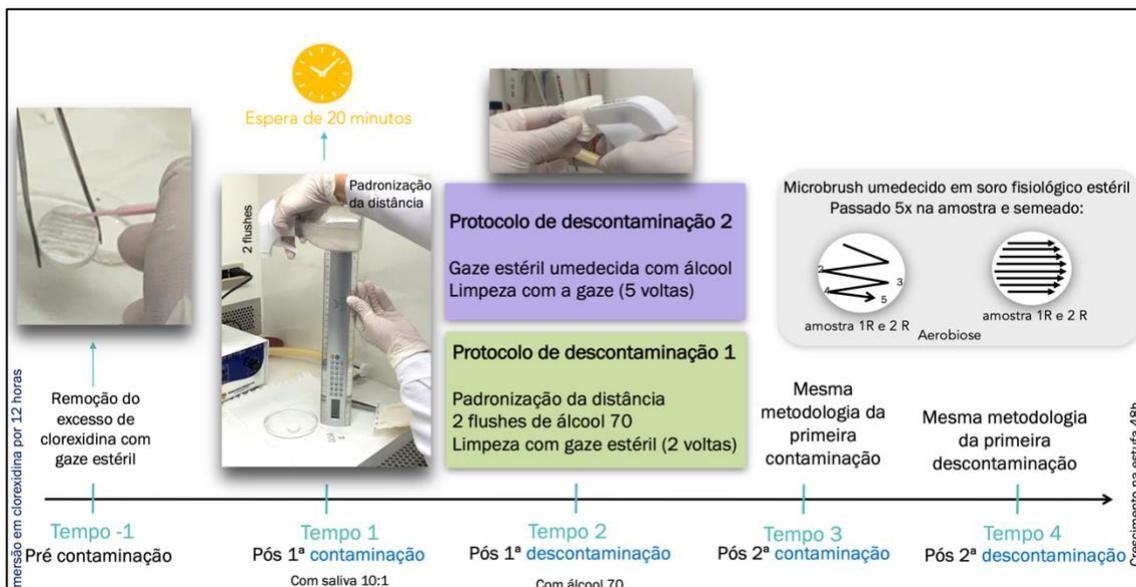


Figura 9 – Linha do tempo ilustrativa do Estudo piloto 2.

Após a análise dos resultados do Estudo piloto 2, concluiu-se que:

- Havia necessidade do desenho e impressão de um novo design de amostra, simulando com mais fidelidade as quinas existentes no ambiente e melhorando as condições para que a coleta seja mais efetiva. Desse modo, as canaletas já seriam impressas com uma espessura na qual não fosse necessária a ampliação com discos diamantados. Que a utilização do método de desinfecção com a gaze umedecida com álcool etílico hidratado, 70 °GL mostrou-se mais efetivo e assim adotado desse momento em diante (umedecimento da gaze estéril e passa-la sobre a superfície da amostra) para todos os procedimentos de desinfecção.

#### 4.6 – Estudo piloto 3

Assim como sugerido após análise dos resultados do último estudo piloto, foi desenhado e impresso um novo design de amostras utilizando o mesmo polímero, porém com canaletas mais espessas, como mostra a figura 10.

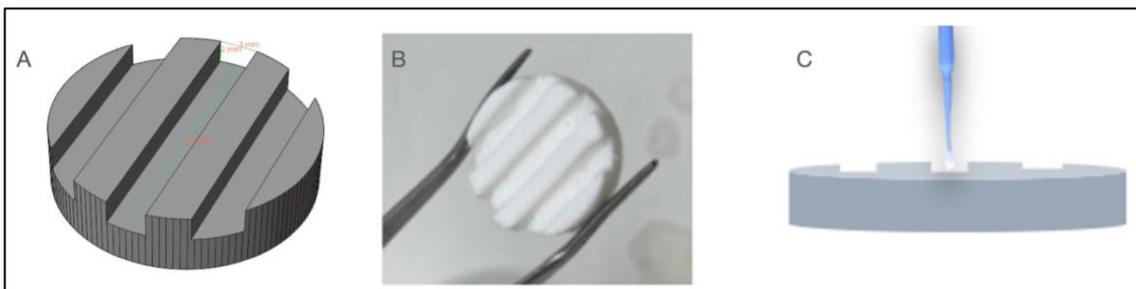


Figura 10 – Novo design de amostra para o estudo piloto 3. (A) imagem gerada no software com as medidas das canaletas. (B) amostra já impressa em polímero, destacada da base e com os acabamentos realizados. (C) representação do tamanho aproximado do microbrush, para que a coleta das quinas internas seja mais eficaz.

As amostras impressas pela impressora 3D foram destacadas da base e os excessos foram removidos com o auxílio do micromotor, peça reta e broca maxicut de tungstênio (de acordo com procedimentos descritos no estudo piloto 1).

Neste estudo, o número de coleta e o número de amostras foram reduzidos, visando apenas avaliar o design da amostra e os tempos de coleta que será realizado adiante.

Foram selecionadas 3 amostras (uma amostra lisa, uma amostra com canaleta do design antigo e uma amostra com canaleta do novo design).

Como o protocolo inicial de descontaminação (imersão em clorexidina 2% por 8 horas previamente ao início do experimento) estabelecido nos projetos piloto anteriores mostrou-se efetivo, a primeira coleta já aconteceu após a primeira contaminação.

A coleta do tempo 1 aconteceu 20 minutos após a primeira contaminação (para crescimento dos microrganismos) com a solução de saliva (coleta de saliva antes do início do experimento com diluição 10:1 com soro fisiológico, homogeneização e armazenamento no mesmo frasco com borrifador já utilizado), com uma distância padronizada de 30 cm e a saída da solução ficou perpendicular as amostras, que estavam apoiadas na bancada.

A coleta no tempo 2 foi imediatamente após a primeira descontaminação, onde uma gaze estéril foi umedecida com álcool etílico hidratado (Álcool Zulu 70°INPM, CNA, Companhia Nacional de Álcool, Piracicaba, São Paulo, Brasil) e passada na amostra em movimentos circulares sentido horário.

Logo em seguida houve a segunda contaminação (mesmo protocolo), e a terceira coleta aconteceu imediatamente após a contaminação (com a intenção de avaliar o efeito residual do álcool).

A coleta no tempo 4 foi realizada após a segunda descontaminação.

As placas foram para a estufa para crescimento aeróbio por 48h à 37°C.

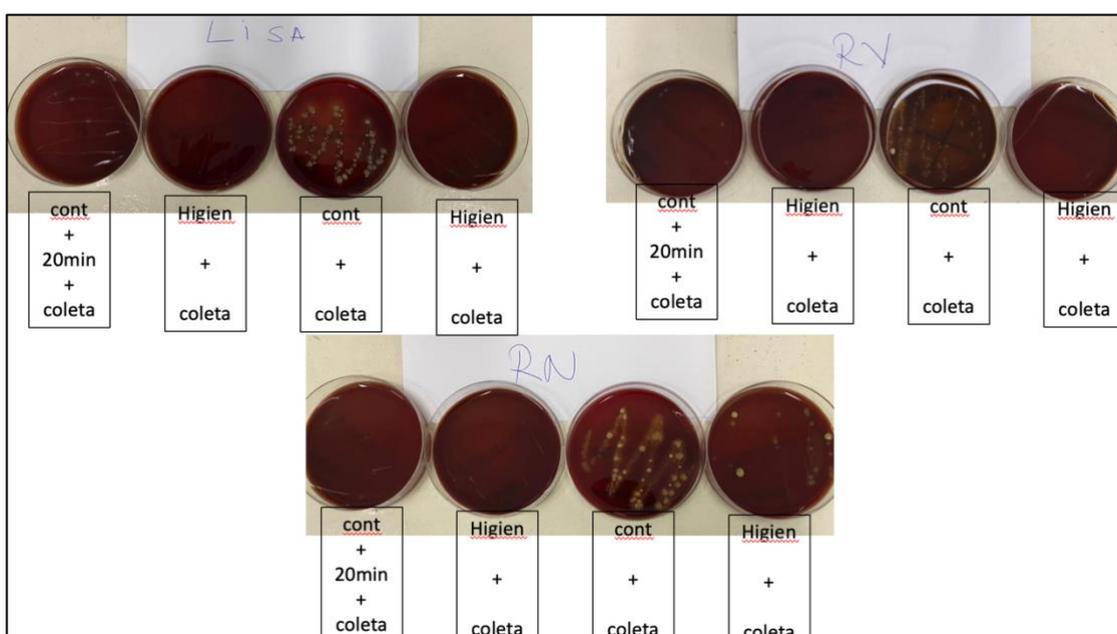


Figura 11 - Comparativo visual após 48 h de crescimento na estufa. (Lisa: amostras sem canaletas. RV: amostras com canaletas design anterior. RN: amostras com canaletas design novo).

Com os valores obtidos da contagem do número de unidade formadora de colônia (UFC), foi realizada análise estatística com o auxílio do software Bio Estat 5.2, adotando significância estatística de 95% ( $p < 0,05$ ) e Power de 90%, os testes ANOVA e T Student foram selecionados para as interações estatísticas.

Observando os resultados obtidos o novo desenho das canaletas das amostras proporcionou maior crescimento bacteriano no tempo 3 quando comparada ao crescimento bacteriano na amostra de desenho antigo com canaletas e com as amostras lisas. Reforçando a necessidade de condução de pesquisas que utilizem substâncias desinfetantes alternativas ao álcool etílico hidratado 70° e que possibilitem uma diminuição de contaminação, ou até mesmo, possam zerar a contaminação presente nos tempos 3 e 4.

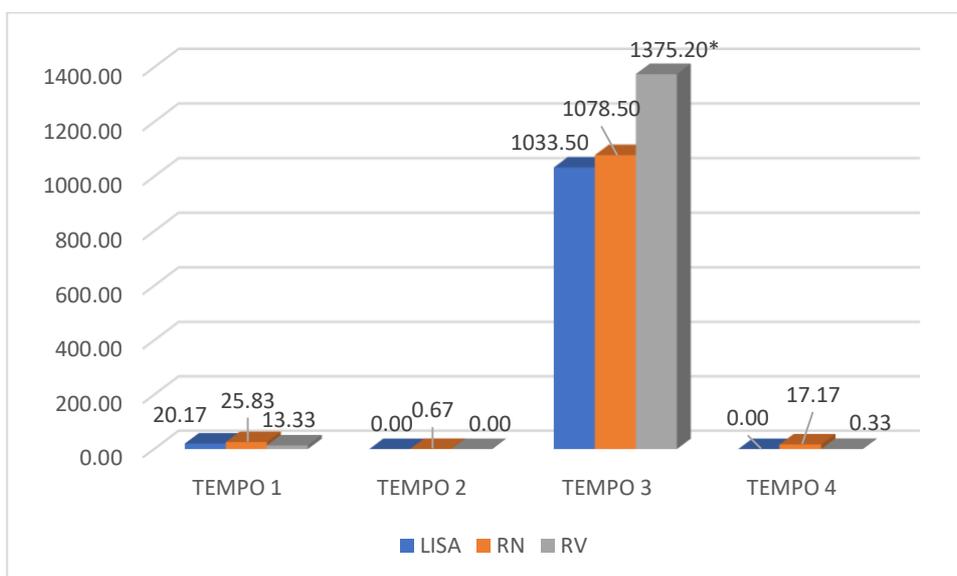


Figura 12 - Distribuição média dos valores de Ufc para as amostras lisas, rugosas com canaletas com novo design (RN) e rugosas com canaletas de design antigo (RV). \* - Diferença estatisticamente significativa, teste ANOVA + t student ( $p=0,0001$ ).

Com os resultados obtidos nos estudos pilotos 1, 2 e 3 foi possível determinar os protocolos relacionados à contaminação e descontaminação, desenhos de amostras e, também possibilitou a realização do cálculo amostral do presente estudo.

#### 4.7 – *Delineamento experimental*

Serão utilizadas amostras lisas e com canaletas, visto que as amostras com canaletas simularão as quinas presentes no ambiente odontológico, onde existe contaminação, mas a limpeza pode não ser tão efetiva devido à dificuldade de acesso. Adicionalmente, também será testada uma substância alternativa ao álcool etílico 70°, sendo as variáveis estudadas:

- **Variáveis de estudo:**

- 1) tipos de material desinfetante (álcool etílico hidratado e álcool etílico enriquecido com SDBS + nanopartículas de  $TiO_2$ );

- 2) tempos de análise (T1, T2, T3 e T4).

- **Variáveis de resposta:**

- 1) cultura bacteriana aeróbica;

- 2) cultura bacteriana anaeróbica.

#### 4.8 – *Desenho, impressão e acabamento das amostras*

As amostras foram desenhadas pelo programa de computador Blender, de computador e impressas PLA pela impressora 3 Makerbot +.

As peças foram impressas em uma impressora 3D, disponibilizada pelo Laboratório de Bioengenharia do Instituto tecnológico de Aeronáutica (ITA). Após a impressão, as amostras foram destacadas da base de impressão e receberam acabamento com uma peça reta (Micromotor 500, Kavo, Joinville, SC, Brasil) acoplado à um micromotor (Kavo, Joinville, SC, Brasil) e broca maxicut de tungstênio (American Burrs, Palhoça, SC, Brasil).

Foram impressas dois tipos de amostras circulares, ambas com 2 cm de diâmetro e 0,5 cm de altura, contendo na superfície ranhuras de um milímetro de profundidade e 1 mm de espessura, simulando superfícies com quinas e frestas.

#### 4.9 – *Tempos de Coleta*

Os tempos de avaliação seguiram a tabela abaixo:

Momento	Identificação da coleta
Após protocolo de contaminação e 20 min de crescimento microbiano	Tempo 1 (T1)
Imediatamente após protocolo de desinfecção	Tempo 2 (T2)
Imediatamente após segunda contaminação	Tempo 3 (T3)
Após desinfecção	Tempo 4 (T4)

Tabela 1 – Descrição dos tempos das coletas que foram realizadas.

#### *4.10 – Solução contaminante e protocolo de contaminação*

Houve a coleta de saliva não estimulada em um tubo Falcon estéril (Olen, K30-050S), e esta foi misturada com solução de cloreto de sódio a 9% (JP Indústria Farmacêutica S. A., Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil) na proporção de 1:10. A quantidade foi mensurada com uma pipeta. Foi homogeneizado no vórtex (agitador de tubos WR 56, WR Research Products, Morumbi, São Paulo, Brasil) durante 2 minutos e, em seguida, a solução homogeneizada foi dispensada em um recipiente com um borrifador acoplado (Maximaplast, Sorocaba, São Paulo, Brasil).

O protocolo de contaminação das amostras foi:

1) posicionamento das amostras na bancada: como o padrão de saída do líquido do borrifador dá um padrão circular, as amostras foram posicionadas formando um círculo, para garantir que a mesma quantidade da solução chegue em todas as amostras.

2) padronização da distância da saída do líquido com as amostras: a padronização foi de 30 cm, mensurado com uma régua.

3) após o posicionamento do frasco contendo a solução atingir a distância correta, três flushes da solução foram realizadas.

#### *4.11– Substâncias utilizadas para descontaminação*

A desinfecção aconteceu com duas soluções a base de álcool etílico hidratado 70 °GL (Prolink, Guapiaçu, SP, Brasil). A primeira foi o álcool 70 °GL puro e, a segunda, a solução contendo o álcool 70°GL + sulfonato de dodecilbenzeno de sódio (tensoativo) + nanopartículas de TiO<sub>2</sub>.

Para o desenvolvimento do álcool etílico hidratado 70 °GL enriquecido com nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  e sulfonato de dodecilbenzeno de sódio (SDBS), os materiais utilizados foram:

- álcool etílico hidratado 70 °GL (Prolink, Guapiaçu, SP, Brasil);
- sulfonato de dodecilbenzeno de sódio (SDBS) (Aldrich, Darmstadt, Alemanha);
- nanopartículas de  $\text{TiO}_2$ .

A dispersão do SDBS e do  $\text{TiO}_2$  na solução aquosa de etanol aconteceu com a agitação com bagueta e ultrassom (USC750, Unique Ind. e Com. De Produtos Ltda., Indaiatuba, SP, Brasil).

Para 1 litro de solução aquosa de etanol, foi pesado 2,5085g de  $\text{TiO}_2$  e 0,500g de SDBS. O SDBS é solúvel, já as nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  ficam dispersas. Após misturadas, a solução contendo o etanol, SDBS e  $\text{TiO}_2$  foi agitada com bagueta por cerca de dois minutos e, em seguida, foi colocada no ultrassom por 30 minutos (Figura 12) e armazenada em recipiente de vidro (Figura 13).



Figura 13 – (A) pesagem do SDBS. (B) pesagem do  $\text{TiO}_2$ . (C) momento da agitação no ultrassom.



Figura 14 – Solução enriquecida com  $\text{TiO}_2$  e SDBS pronta para o uso.

A definição do protocolo de descontaminação foi baseada no Estudo Piloto 3, onde uma gaze estéril foi umedecida com o agente desinfetante correspondente ao grupo e passada na amostra em movimentos circulares sentido horário.

#### 4.12 – *Cultivo microbiológico*

As placas foram para a estufa imediatamente após a semeadura e, as destinadas ao crescimento anaeróbio, ficaram dentro da jarra com o Anaerobac e as placas para crescimento aeróbio dentro da estufa bacteriológica à  $35^\circ\text{C}$ , como realizado nos Projetos Piloto descritos acima.

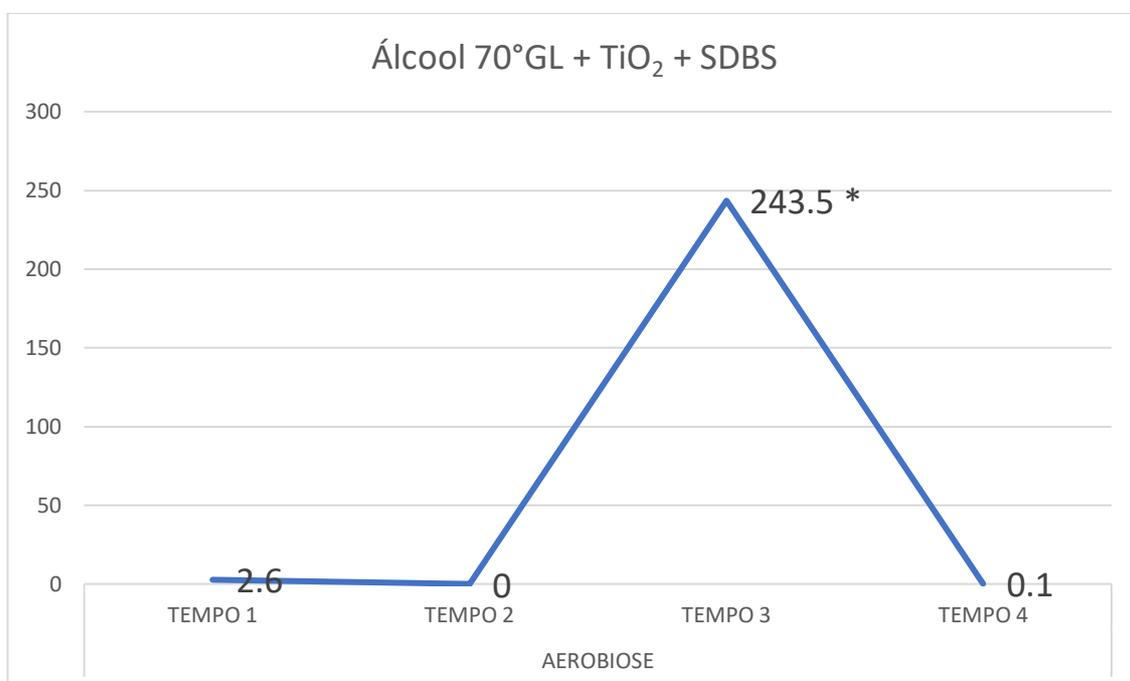
As colônias bacterianas foram contadas colônias e os dados foram inseridos em uma planilha.

#### *4.13 Análise estatística*

Após o processamento laboratorial, e realizada as leituras das placas, os dados foram tabulados, agrupados e submetidos à análise estatística específica. Após a caracterização da distribuição amostral os testes estatísticos foram selecionados. Para as análises intra-grupo o teste estatístico *t* pareado foi selecionado. Já para as comparações inter-grupos o teste estatístico *t* de Student foi aplicado. Toda a análise foi conduzida com o auxílio do software Bio Estat 5.0 e adotando em toda as análises o nível de significância estatística de 95% ( $p < 0,05$ ).

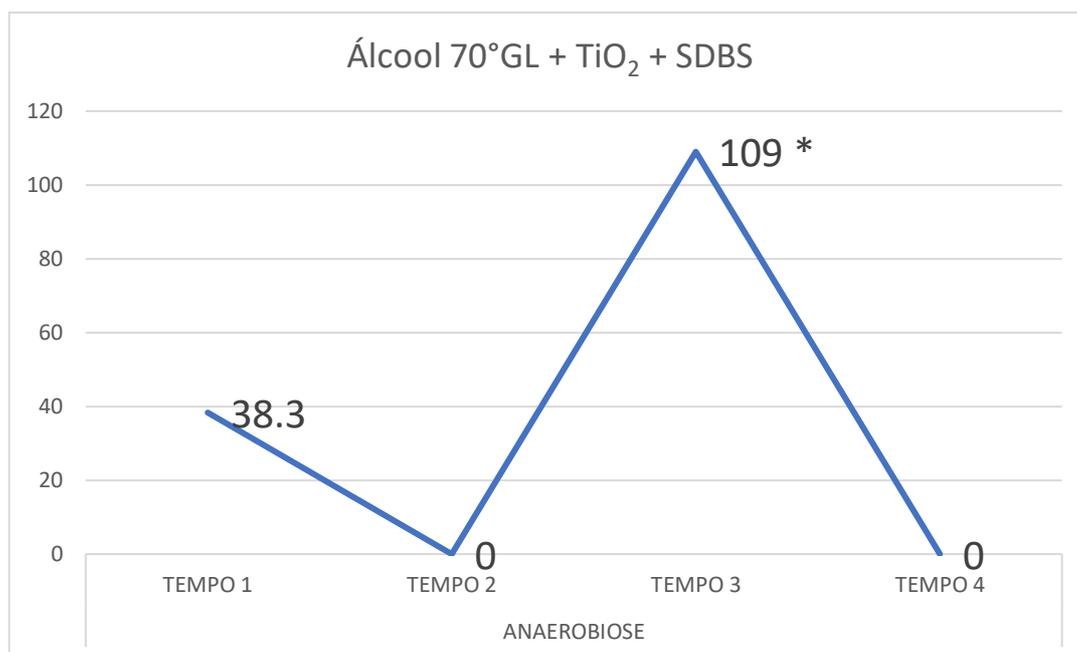
## 5 RESULTADOS

Inicialmente, foi proposta uma comparação intragrupo referente aos agentes desinfetantes utilizados (álcool 70°GL e o álcool 70°GL enriquecido com dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) + sulfonato de dodecilbenzeno de sódio (SDBS)). Independente do grupo e atmosfera analisados, o comportamento se mostrou semelhante, sendo o tempo 3, estatisticamente ( $p < 0,05$ ) maior que os tempos 1, 2 e 4, que se mostraram iguais (Figuras 1, 2, 3 e 4).



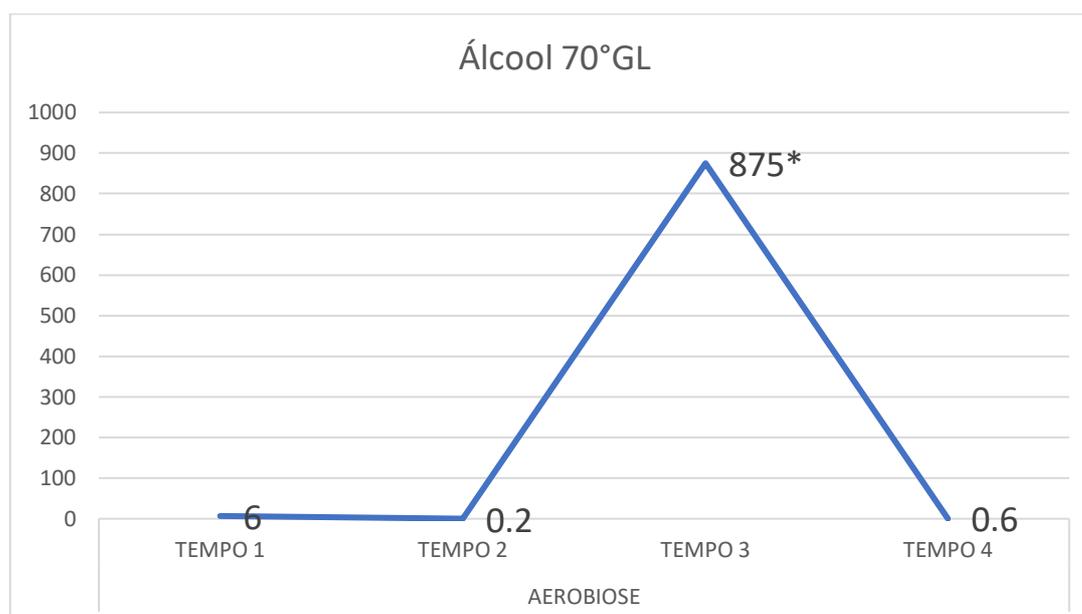
\* - Diferença estatisticamente significativa, teste *t* pareado ( $p < 0,05$ ).

Figura 14 - Distribuição média dos valores de UFC quando da desinfecção com álcool 70°GL enriquecido com dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) + sulfonato de dodecilbenzeno de sódio (SDBS) após crescimento aeróbico.



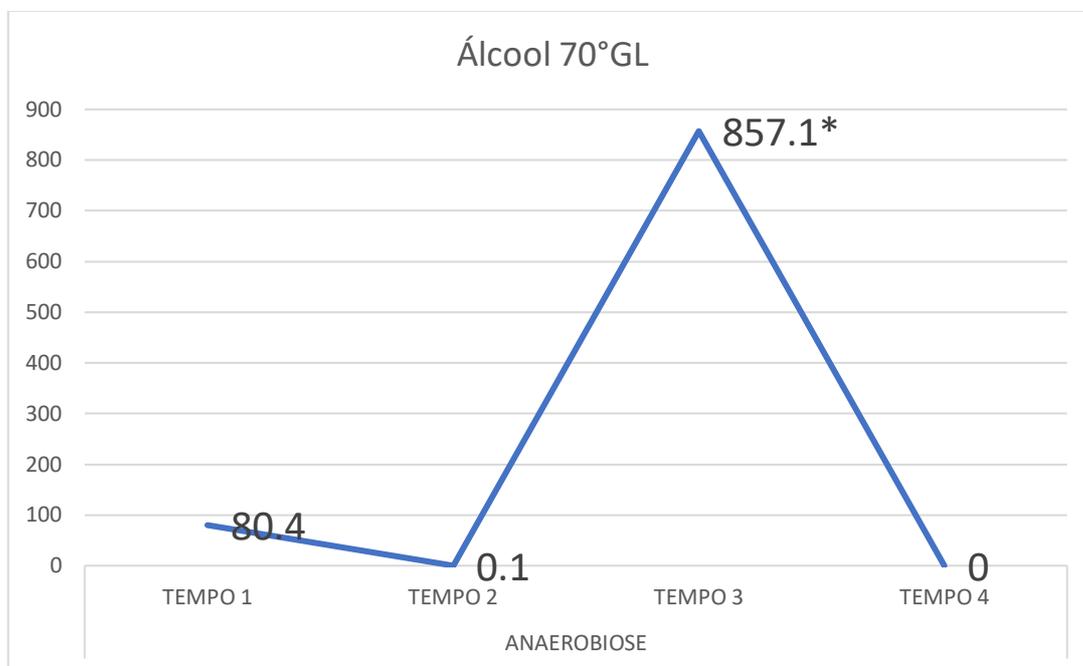
\* - Diferença estatisticamente significativa, teste *t* pareado ( $p < 0,05$ ).

Figura 16 - Distribuição média dos valores de UFC quando da desinfecção com álcool 70°GL enriquecido com dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) + sulfonato de dodecilbenzeno de sódio (SDBS) após crescimento anaeróbico



\* - Diferença estatisticamente significativa, teste *t* student ( $p < 0,05$ ).

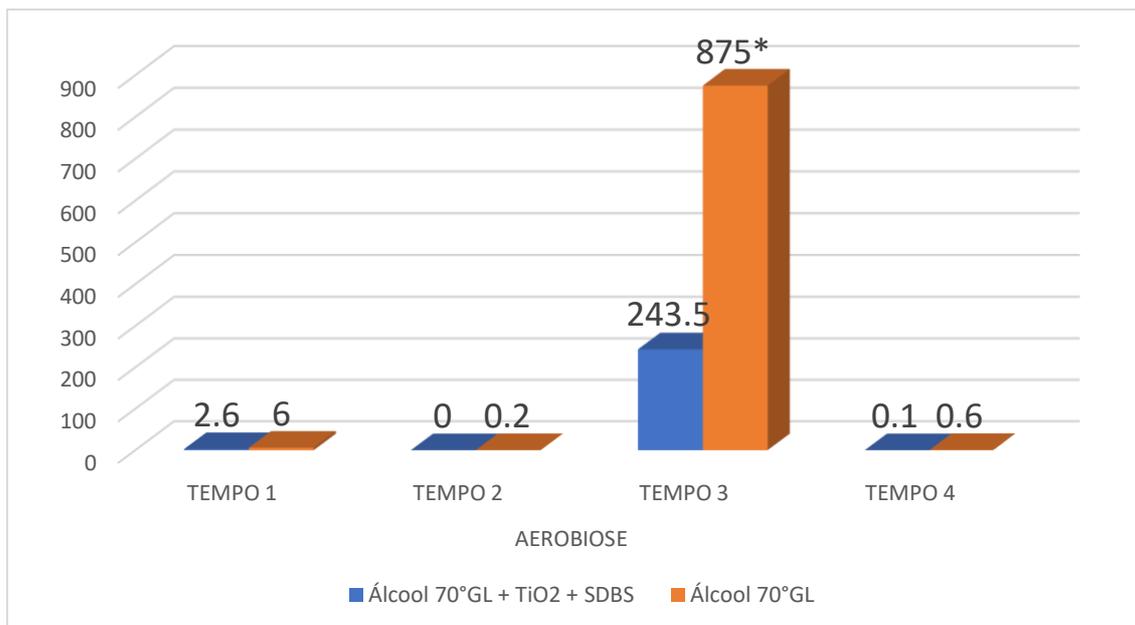
Figura 17 - Distribuição média dos valores de UFC quando da desinfecção com álcool 70°GL após crescimento aeróbico.



\* - Diferença estatisticamente significativa, teste t student ( $p < 0,05$ ).

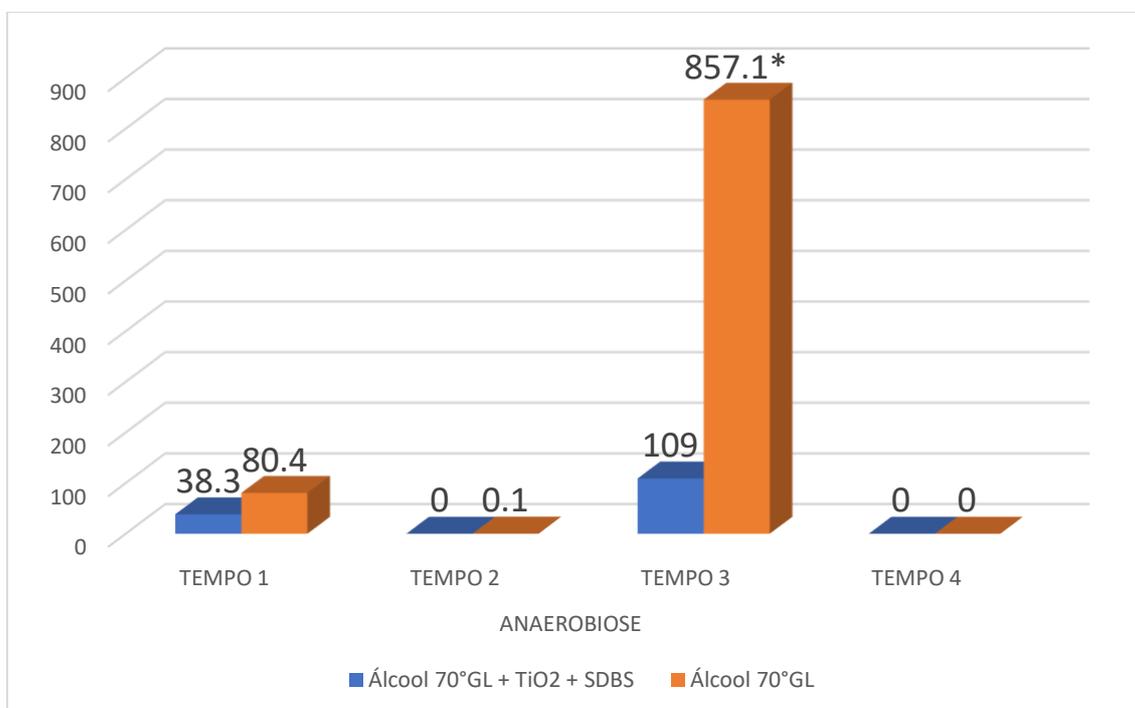
Figura 18 – Distribuição média dos valores de UFC quando da desinfecção com álcool 70°GL após crescimento anaeróbico.

No entanto, quando se comparou a magnitude do efeito das soluções, no tempo 3, observou-se, também independente da atmosfera de incubação, um maior ( $p < 0,05$ ) poder desinfetante do álcool 70°GL enriquecido com dióxido de titânio ( $\text{TiO}_2$ ) + sulfonato de dodecilbenzeno de sódio (SDBS) em comparação ao álcool 70°GL (figuras 5 e 6).



\* - Diferença estatisticamente significativa, teste t de Student ( $p < 0,05$ ).

Figura 19 - Distribuição média dos valores de UFC nos tempos de coleta com os agentes desinfetantes utilizados para crescimento aeróbico.



\* - Diferença estatisticamente significativa, teste t pareado ( $p < 0,05$ ).

Figura 20 - Distribuição média dos valores de UFC nos tempos de coleta com os agentes desinfetantes utilizados para crescimento anaeróbico.

Para uma análise visual, está representado na Figura 20 e 21, placas escolhidas aleatoriamente para representar o crescimento de cada tempo.

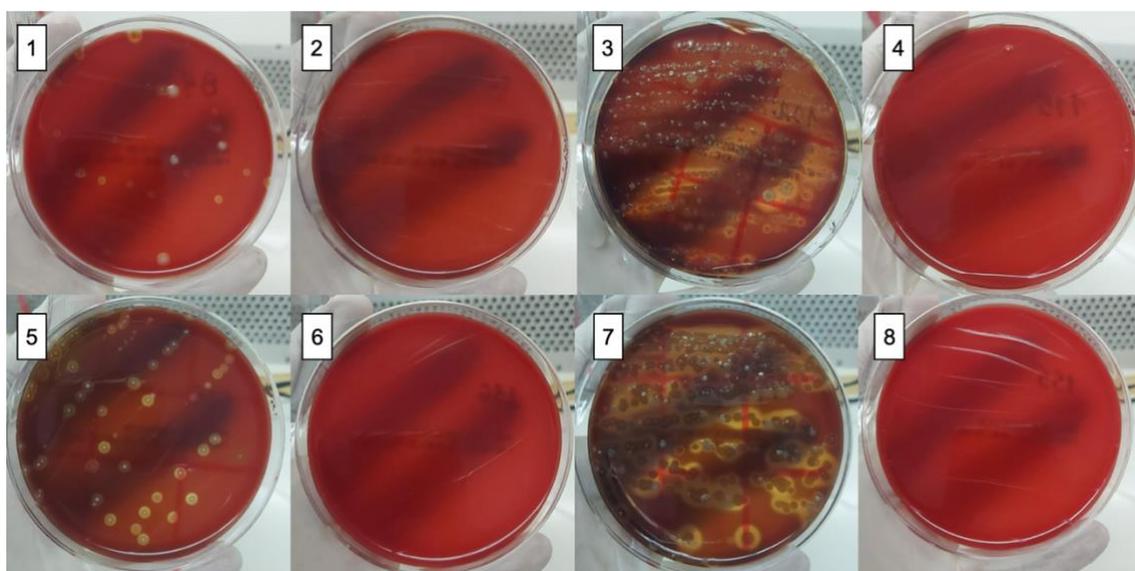


Figura 21 – Comparativo visual das placas com a substância desinfetante Álcool 70°GL. (1) T1, aerobiose; (2) T2, aerobiose; (3) T3, aerobiose; (4) T4, aerobiose; (5) T1, anaerobiose; (6) T2, anaerobiose; (7) T3, anaerobiose; (8) T4, anaerobiose.

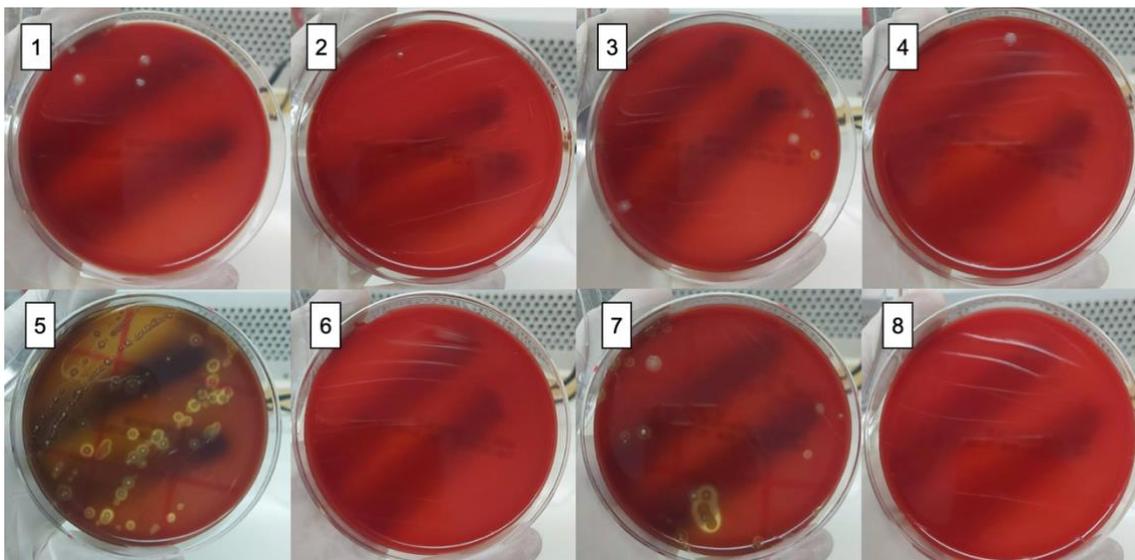


Figura 22 – Comparativo visual das placas com a substância desinfetante Álcool 70°GL + TiO<sub>2</sub> + SDBS. (1) T1, aerobiose; (2) T2, aerobiose; (3) T3, aerobiose; (4) T4, aerobiose; (5) T1, anaerobiose; (6) T2, anaerobiose; (7) T3, anaerobiose; (8) T4, anaerobiose.

## 6 DISCUSSÃO

Agentes contaminantes provenientes de aerossol gerados a partir de procedimentos odontológicos, como patógenos causadores da COVID-19, hepatite (A e B), citomegalovírus e pneumonia se espalham principalmente por gotículas e depois se depositam em superfícies, tornando-as vetores de infecções cruzadas. As doenças infectocontagiosas são os maiores desafios para os seres humanos, devido ao surgimento de mais de 300 doenças com uma nova adaptação (Deshmukh *et al.*, 2019). Dentre várias ações possíveis para o enfrentamento da contaminação, destaca-se o controle desses agentes por meio de desinfecção e proteção antimicrobiana para superfícies.

Com a pandemia do COVID-19, a preocupação com o controle do aerossol contaminado e a descontaminação de superfícies ficou em alta. A odontologia foi classificada como uma das ocupações de alto risco para transmissão da doença por causa de aerossóis produzidos mecanicamente por meio de peças de mão (United States Department of Labor, 2020). Estudos recentes mostraram que o SARS-CoV-2 pode persistir em uma variedade de superfícies de horas a dias (Doremalen, van *et al.*, 2020; Kampf *et al.*, 2020).

Diante do novo cenário, desafios surgiram na descontaminação rotineira de consultórios e clínicas odontológicas. Portanto, o objetivo desse estudo foi avaliar, *in vitro*, a efetividade, do já utilizado, do álcool 70°GL e, do mesmo, porém enriquecido com dióxido de titânio (TiO<sub>2</sub>) e sulfonato de dodecilbenzeno de sódio (SDBS).

Para confecção das amostras, foi realizado o desenho digital com o auxílio de um programa de computador de código aberto, a ferramenta de apoio foi o programa Blender. Esse programa foi selecionado porque de código livre, isso

é, tem uma licença gratuita e permite ser alterado conforme a necessidade de usuário, facilitando a personalização dos desenhos das amostras. O material de impressão foi o PLA, que é um polímero biodegradável obtido de fontes renováveis e comercializado em larga escala, além de ser um material seguro e economicamente viável.

Os protocolos de contaminação e descontaminação foram desenvolvidos após a realização de estudos pilotos, os quais determinaram também os tempos de leitura necessários. Neste estudo, após a contaminação (T1), as amostras foram desinfetadas com o agente desinfetante correspondente, álcool 70°GL + TiO<sub>2</sub> + SDBS ou álcool 70°GL puro (T2) e, logo em seguida foram contaminadas novamente (T3) para, então, sofrerem novo ciclo de descontaminação utilizando o agente desinfetante correspondente à primeira descontaminação (T4). A coleta referente ao Tempo 3, mostrou que, independente da atmosfera de crescimento, o álcool 70°GL + TiO<sub>2</sub> + SDBS apresenta um efeito residual maior do que o álcool 70° GL, pela menor contagem de UFCs independente da atmosfera de crescimento.

Alguns produtos de ação desinfetante são caracterizados pelo seu efeito residual, que acontece quando tais substâncias permanecem no local onde foram aplicadas por um maior período, já que se degradam lentamente. Para superfícies de difícil acesso à desinfecção, o efeito residual de uma substância desinfetante se torna uma característica interessante.

Diferentes tipos de agentes biocidas como álcoois, peróxido de hidrogênio, benzalcônio ou cloreto de hipoclorito de sódio são aplicados em todo o mundo para desinfecção (Kampf *et al.*, 2020). Foi comprovado que desinfetantes com 62-71% de álcool ou 0,1% de hipoclorito de sódio podem

reduzir a contaminação em superfícies dentro de um minuto de exposição (Asgharzadeh *et al.*, 2007; Kampf *et al.*, 2020). Em produtos de saúde que possuem ranhuras, ou seja, são estruturalmente mais complexos e entram em contato com maior quantidade de solução desinfetante, a desinfecção com álcool não se mostrou satisfatória (Ribeiro *et al.*, 2015), os resultados destes trabalhos, corroboram com os achados do nosso estudo, onde as amostras com canaletas apresentaram maior crescimento de UFCs quando comparadas as lisas.

Dentro desta configuração das amostras, extrapolando para o ambiente clínico, os equipamentos odontológicos possuem um grande número de superfícies onde as canaletas ou quinas são proeminentes, como por exemplo, próximo da cuspeira, a qual é uma região de extrema contaminação, bem como canetas de alta e baixa rotação e refletores, que apesar de seguirem um protocolo rígido de limpeza e desinfecção entre pacientes, os resultados claramente evidenciam que existe uma aumento de contaminação e a não eliminação por completo destas regiões.

Para este estudo, foi selecionado o  $\text{TiO}_2$  + SDBS para enriquecimento álcool 70°GL. Embora existam outros tipos de materiais nanométricos utilizados como agentes antimicrobianos, nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  se trata de um material inerte, não tóxico e de baixo custo, com alto índice de refração e alta capacidade de absorção de luz UV (Fonseca *et al.*, 2015). O  $\text{TiO}_2$  desencadeia uma série de reações químicas (Fonseca *et al.*, 2015) reage com água e oxigênio, gerando radicais hidroxila (OH) e espécies reativas de oxigênio capazes de degradar componentes celulares de microrganismos e atuar como agentes antibacterianos (Fonseca *et al.*, 2015) e antivirais (Levina *et al.*, 2016). O  $\text{TiO}_2$  se enquadra na categoria de nanomateriais fotocatalíticos, e pode ser uma

alternativa valiosa aos desinfetantes químicos sem a limitação de gerar subprodutos poluentes e com a vantagem de reutilização no tempo (Pasquale, De *et al.*, 2021).

Com relação às propriedades biocidas, compósitos poliácido láctico com TiO<sub>2</sub>, com 8% em peso apresentaram uma redução de colônias de *Escherichia coli* de aproximadamente 82% sob nenhuma irradiação UVA em comparação com o PLA puro (Fonseca *et al.*, 2015). Neste estudo, para 1 litro de solução aquosa de etanol, foi pesado 2,5085 g de TiO<sub>2</sub> e 0,500g de SDBS.

As características bactericidas e virucidas do TiO<sub>2</sub> em forma de suspensão ou em camadas sobre um filme são descritas em estudos onde a destruição de vírus e bactérias sob irradiação ultravioleta foi apresentada (Ali *et al.*, 2016; Cho *et al.*, 2005; Cui *et al.*, 2010). Embora estudos mostrem que a ação bacteriana do TiO<sub>2</sub> são fotocatalisadas pela luz UV, Levina *et al.* (2010) (Levina *et al.*, 2016) e Fonseca *et al.* (2015) (Fonseca *et al.*, 2015) mostraram em seus estudos que o efeito de inativação de microrganismos foi observado quando a incubação foi realizada sem a fotocatalise com a luz UV, mostrando que as propriedades de inativação do TiO<sub>2</sub> são baseadas principalmente no contato direto entre nanopartículas e partículas de vírus (Levina *et al.*, 2016).

Há relatos na literatura onde o TiO<sub>2</sub> foi usado contra bactérias e fungos (Mitoraj *et al.*, 2007; Sunada, Watanabe e Hashimoto, 2003). Muitos produtos que utilizam a fotocatalise de TiO<sub>2</sub> foram comercializados em muitos países, tendo, por exemplo, ladrilhos revestidos com TiO<sub>2</sub> têm sido usados como materiais autolimpantes e antibacterianos (Fujishima, Rao e Tryk, 2000).

O SDBS é um agente químico usado para a fabricação de produtos de limpeza, tais como; detergentes, umectantes e emulsionantes. O detergente

diminui a tensão superficial do líquido, alterando sua molhabilidade. Sendo assim, é possível que o álcool enriquecido seja mais efetivo nas amostras com ranhuras devido ao fato de o agente bactericida atingir as quinas no fundo das ranhuras, onde o álcool puro não consegue atingir.

Os resultados obtidos neste estudo indicaram que superfícies contendo quinas e reentrâncias podem requerer um método de descontaminação diferente de superfícies lisas, assim como a solução desinfetante utilizada.

Diante deste cenário o álcool 70°GL enriquecido com  $\text{TiO}_2$  + SDBS mostrou-se mais efetivo do que o álcool 70°GL puro. São resultados promissores, porém, por se tratar de resultados de um experimento *in vitro*, estudos clínicos são necessários para ampliar a análise investigativa de tal substância e transpor para a realidade de ambientes contaminados. Outras variáveis de estudo pertinentes ao objetivo proposto, também podem ser avaliadas em estudos futuros, como promover a fotocatalise com a luz UV, onde há relatos na literaturas que o  $\text{TiO}_2$  pode ter seu efeito maximizado, e ainda, analisar o perfil microbiológico quantitativamente e qualitativamente com análises de biologia molecular.

## **7 CONCLUSÃO**

Em comparação com o álcool 70°GL puro, o álcool 70°GL enriquecido com dióxido de titânio e sulfonato de dodecilbenzeno de sódio apresentou resultados promissores em experimentos laboratoriais, sendo mais eficiente na desinfecção de superfícies rugosas, bem como ação eficaz quando avaliado o tempo residual de desinfecção. Assim, se torna uma possível alternativa na otimização dos protocolos regulares de desinfecção de ambientes odontológicos, visto que é uma solução de fácil acesso a de baixo custo.

## REFERÊNCIAS

- Ali, Z.; Raj, B.; Vishwas, M.; Athhar, M. A. Synthesis, Characterization And Antimicrobial Activity Of Ce Doped Tio<sub>2</sub> Nanoparticles. *International Journal Of Current Microbiology And Applied Sciences*, V. 5, N. 4, P. 705–712, 15 Abr. 2016.
- Asgharzadeh, M.; Mazloumi, A.; Kafil, H. S.; Ghazanchaei, A. Mannose-Binding Lectin Gene And Promoter Polymorphism In Visceral Leishmaniasis Caused By *Leishmania Infantum*. *Pakistan Journal Of Biological Sciences*, V. 10, N. 11, P. 1850–1854, 2007.
- Belting, C. M.; Haberfelde, G. C.; Juhl, L. K. Spread Of Organisms From Dental Air Rotor. *The Journal Of The American Dental Association*, V. 68, N. 5, P. 648–651, Maio 1964.
- Bender, W.; Stutte, P. Antimicrobials For Synthetic Fibers. *Acs Symposium Series*, V. 792, P. 218–242, 2001.
- Bennett, A. M.; Fulford, M. R.; Walker, J. T.; Bradshaw, D. J.; Martin, M. V.; Marsh, R. D. Microbial Aerosols In General Dental Practice. *British Dental Journal*, V. 189, N. 12, P. 664–667, 2000.
- Boyce, J. M. Alcohols As Surface Disinfectants In Healthcare Settings. *Infection Control And Hospital Epidemiology*, V. 39, N. 3, P. 323–328, 28 Mar. 2018.
- Castro, D. T. De; Nascimento, C. Do; Alves, O. L.; Souza Santos, E. De; Agnelli, J. A. M.; Reis, A. C. Dos. Analysis Of The Oral Microbiome On The Surface Of Modified Dental Polymers. *Archives Of Oral Biology*, V. 93, P. 107–114, Set. 2018.
- Cho, M.; Chung, H.; Choi, W.; Yoon, J. Different Inactivation Behaviors Of Ms-2

Phage And Escherichia Coli In Tio 2 Photocatalytic Disinfection. *Applied And Environmental Microbiology*, V. 71, N. 1, P. 270–275, Jan. 2005.

Cochran, M. A.; Miller, C. H.; Sheldrake, M. A. The Efficacy Of The Rubber Dam As A Barrier To The Spread Of Microorganisms During Dental Treatment. *Journal Of The American Dental Association*, V. 119, N. 1, P. 141–144, 1989.

Cui, H.; Jiang, J.; Gu, W.; Sun, C.; Wu, D.; Yang, T.; Yang, G. Photocatalytic Inactivation Efficiency Of Anatase Nano-Tio<sub>2</sub> Sol On The H9n2 Avian Influenza Virus. *Photochemistry And Photobiology*, V. 86, N. 5, P. 1135–1139, 2010.

Deshmukh, S. P.; Patil, S. M.; Mullani, S. B.; Delekar, S. D. Silver Nanoparticles As An Effective Disinfectant: A Review. *Materials Science And Engineering: C*, V. 97, P. 954–965, Abr. 2019.

Dias, H. B.; Bernardi, M. I. B.; Marangoni, V. S.; Abreu Bernardi, A. C. De; Souza Rastelli, A. N. De; Hernandez, A. C. Synthesis, Characterization And Application Of Ag Doped Zno Nanoparticles In A Composite Resin. *Materials Science And Engineering: C*, V. 96, P. 391–401, Mar. 2019.

Doremalen, N. Van *Et Al.* Aerosol And Surface Stability Of Sars-Cov-2 As Compared With Sars-Cov-1. *New England Journal Of Medicine*, V. 382, N. 16, P. 1564–1567, 16 Abr. 2020.

Espinosa-Cristóbal, L. F.; López-Ruiz, N.; Cabada-Tarín, D.; Reyes-López, S. Y.; Zaragoza-Contreras, A.; Constandse-Cortéz, D.; Donohué-Cornejo, A.; Tovar-Carrillo, K.; Cuevas-González, J. C.; Kobayashi, T. Antiadherence And Antimicrobial Properties Of Silver Nanoparticles Against Streptococcus Mutans On Brackets And Wires Used For Orthodontic Treatments. *Journal Of Nanomaterials*, V. 2018, 2018.

Felix, A. C. *Et Al.* Saliva As A Reliable Sample For Covid-19 Diagnosis In

Paediatric Patients. *International Journal Of Paediatric Dentistry*, V. 32, N. 1, P. 123–125, 24 Jan. 2022.

Ferreiro, M. C.; Dios, P. D.; Scully, C. Transmission Of Hepatitis C Virus By Saliva? *Oral Diseases*, V. 11, N. 4, P. 230–235, 2005.

Fonseca, C.; Ochoa, A.; Ulloa, M. T.; Alvarez, E.; Canales, D.; Zapata, P. A. Poly(Lactic Acid)/TiO<sub>2</sub> Nanocomposites As Alternative Biocidal And Antifungal Materials. *Materials Science And Engineering: C*, V. 57, P. 314–320, Dez. 2015.

Fujishima, A.; Rao, T. N.; Tryk, D. A. Titanium Dioxide Photocatalysis. *Journal Of Photochemistry And Photobiology C: Photochemistry Reviews*, V. 1, N. 1, P. 1–21, 2000.

Gallagher, J. E.; K.C, S.; Johnson, I. G.; Al-Yaseen, W.; Jones, R.; Mcgregor, S.; Robertson, M.; Harris, R.; Innes, N.; Wade, W. G. A Systematic Review Of Contamination (Aerosol, Splatter And Droplet Generation) Associated With Oral Surgery And Its Relevance To Covid-19. *Bdj Open*, V. 6, N. 1, 2020.

Geller, C.; Varbanov, M.; Duval, R. E. Human Coronaviruses: Insights Into Environmental Resistance And Its Influence On The Development Of New Antiseptic Strategies. *Viruses*, V. 4, N. 11, P. 3044–3068, 2012.

Gralton, J.; Tovey, E.; Mclaws, M.-L.; Rawlinson, W. D. The Role Of Particle Size In Aerosolised Pathogen Transmission: A Review. *Journal Of Infection*, V. 62, N. 1, P. 1–13, Jan. 2011.

Gunputh, U. F.; Le, H.; Lawton, K.; Besinis, A.; Tredwin, C.; Handy, R. D. Antibacterial Properties Of Silver Nanoparticles Grown In Situ And Anchored To Titanium Dioxide Nanotubes On Titanium Implant Against *Staphylococcus Aureus*. *Nanotoxicology*, V. 14, N. 1, P. 97–110, 2020.

- Guo, Y. *Et Al.* Salivary Microbial Diversity At Different Stages Of Human Immunodeficiency Virus Infection. *Microbial Pathogenesis*, V. 155, P. 104913, Jun. 2021.
- Gupta, A.; Silver, S. Molecular Genetics - Silver As A Biocide: Will Resistance Become A Problem? *Nature Biotechnology*, V. 16, N. 10, P. 888, 1998.
- Gupta, K.; Singh, R. P.; Pandey, Ashutosh; Pandey, Anjana. Photocatalytic Antibacterial Performance Of Tio 2 And Ag-Doped Tio 2 Against S. Aureus . P. Aeruginosa And E. Coli. *Beilstein Journal Of Nanotechnology*, V. 4, P. 345–351, 6 Jun. 2013.
- Harrel, S. K.; Molinari, J. Aerosols And Splatter In Dentistry: A Brief Review Of The Literature And Infection Control Implications. *Journal Of The American Dental Association*, V. 135, N. 4, P. 429–437, 2004.
- Hernández-Gómora, A.; Lara-Carrillo, E.; Robles-Navarro, J.; Scougall-Vilchis, R.; Hernández-López, S.; Medina-Solís, C.; Morales-Luckie, R. Biosynthesis Of Silver Nanoparticles On Orthodontic Elastomeric Modules: Evaluation Of Mechanical And Antibacterial Properties. *Molecules*, V. 22, N. 9, P. 1407, 25 Ago. 2017.
- Ionescu, A. C.; Cagetti, M. G.; Ferracane, J. L.; Garcia-Godoy, F.; Brambilla, E. Topographic Aspects Of Airborne Contamination Caused By The Use Of Dental Handpieces In The Operative Environment. *Journal Of The American Dental Association*, V. 151, N. 9, P. 660–667, 2020.
- Kampf, G. Antiseptic Stewardship: Biocide Resistance And Clinical Implications. *Antiseptic Stewardship: Biocide Resistance And Clinical Implications*, P. 1–694, 2018.
- Kampf, G.; Todt, D.; Pfaender, S.; Steinmann, E. Persistence Of Coronaviruses

On Inanimate Surfaces And Their Inactivation With Biocidal Agents. *Journal Of Hospital Infection*, V. 104, N. 3, P. 246–251, Mar. 2020.

Khambati, N.; Olbrich, L.; Ellner, J.; Salgame, P.; Song, R.; Bijker, E. M. Host-Based Biomarkers In Saliva For The Diagnosis Of Pulmonary Tuberculosis In Children: A Mini-Review. *Frontiers In Pediatrics*, V. 9, 25 Out. 2021.

Kimmerle, H.; Wiedmann-Al-Ahmad, M.; Pelz, K.; Wittmer, A.; Hellwig, E.; Al-Ahmad, A. Airborne Microbes In Different Dental Environments In Comparison To A Public Area. *Archives Of Oral Biology*, V. 57, N. 6, P. 689–696, 2012.

Klompas, M.; Baker, M.; Rhee, C. What Is An Aerosol-Generating Procedure? *Jama Surgery*, V. 156, N. 2, P. 113–114, 2021.

Komperda, J. *Et Al.* Computer Simulation Of The Sars-Cov-2 Contamination Risk In A Large Dental Clinic. *Physics Of Fluids*, V. 33, N. 3, 2021.

Kubacka, A.; Ferrer, M.; Cerrada, M. L.; Serrano, C.; Sánchez-Chaves, M.; Fernández-García, Marta; Andrés, A. De; Riobóo, R. J. J.; Fernández-Martín, F.; Fernández-García, Marcos. Boosting Tio<sub>2</sub>-Anatase Antimicrobial Activity: Polymer-Oxide Thin Films. *Applied Catalysis B: Environmental*, V. 89, N. 3–4, P. 441–447, Jul. 2009.

Kubacka, A.; Serrano, C.; Ferrer, M.; Lünsdorf, H.; Bielecki, P.; Cerrada, M. L.; Fernández-García, Marta; Fernández-García, Marcos. High-Performance Dual-Action Polymer–Tio<sub>2</sub> Nanocomposite Films Via Melting Processing. *Nano Letters*, V. 7, N. 8, P. 2529–2534, 8 Ago. 2007.

Lee, S. J.; Heo, D. N.; Lee, D.; Heo, M.; Rim, H.; Zhang, L. G.; Park, S. A.; Do, S. H.; Moon, J. H.; Kwon, I. K. One-Step Fabrication Of Agnps Embedded Hybrid Dual Nanofibrous Oral Wound Dressings. *Journal Of Biomedical Nanotechnology*, V. 12, N. 11, P. 2041–2050, 2016.

Leggat, P. A.; Kedjarune, U. Bacterial Aerosols In The Dental Clinic: A Review. *International Dental Journal*, V. 51, N. 1, P. 39–44, 2001a.

\_\_\_\_\_. Bacterial Aerosols In The Dental Clinic: A Review. *International Dental Journal*, V. 51, N. 1, P. 39–44, 2001b.

Lelieveld, J.; Helleis, F.; Borrmann, S.; Cheng, Y.; Drewnick, F.; Haug, G.; Klimach, T.; Sciare, J.; Su, H.; Pöschl, U. Model Calculations Of Aerosol Transmission And Infection Risk Of Covid-19 In Indoor Environments. *International Journal Of Environmental Research And Public Health*, V. 17, N. 21, P. 8114, 3 Nov. 2020.

Levina, A. S.; Repkova, M. N.; Bessudnova, E. V; Filippova, E. I.; Mazurkova, N. A.; Zarytova, V. F. High Antiviral Effect Of Tio<sub>2</sub> ·PI–Dna Nanocomposites Targeted To Conservative Regions Of (–)Rna And (+)Rna Of Influenza A Virus In Cell Culture. *Beilstein Journal Of Nanotechnology*, V. 7, P. 1166–1173, 10 Ago. 2016.

Li, H.; Li, F.; Wang, L.; Sheng, J.; Xin, Z.; Zhao, L.; Xiao, H.; Zheng, Y.; Hu, Q. Effect Of Nano-Packing On Preservation Quality Of Chinese Jujube (*Ziziphus Jujuba* Mill. Var. *Inermis* (Bunge) Rehd). *Food Chemistry*, V. 114, N. 2, P. 547–552, 15 Maio 2009.

Li, Z.; Sun, J.; Lan, J.; Qi, Q. Effect Of A Denture Base Acrylic Resin Containing Silver Nanoparticles On *Candida Albicans* Adhesion And Biofilm Formation. *Gerodontology*, V. 33, N. 2, P. 209–216, Jun. 2016.

Liga, M. V.; Maguire-Boyle, S. J.; Jafry, H. R.; Barron, A. R.; Li, Q. Silica Decorated Tio<sub>2</sub> For Virus Inactivation In Drinking Water -Simple Synthesis Method And Mechanisms Of Enhanced Inactivation Kinetics. *Environmental Science And Technology*, V. 47, N. 12, P. 6463–6470, 2013.

- Maness, P. C.; Smolinski, S.; Blake, D. M.; Huang, Z.; Wolfrum, E. J.; Jacoby, W. A. Bactericidal Activity Of Photocatalytic Tio<sub>2</sub> Reaction: Toward An Understanding Of Its Killing Mechanism. *Applied And Environmental Microbiology*, V. 65, N. 9, P. 4094–4098, 1999.
- Matsunaga, T.; Tomoda, R.; Nakajima, T.; Nakamura, N.; Komine, T. Continuous-Sterilization System That Uses Photoconductor Powders. *Applied And Environmental Microbiology*, V. 54, N. 6, P. 1330–1333, 1988.
- Meethil, A. P.; Saraswat, S.; Chaudhary, P. P.; Dabdoub, S. M.; Kumar, P. S. Sources Of Sars-Cov-2 And Other Microorganisms In Dental Aerosols. *Journal Of Dental Research*, V. 100, N. 8, P. 817–823, 12 Jul. 2021.
- Mehrabani, M. G.; Karimian, R.; Mehramouz, B.; Rahimi, M.; Kafil, H. S. Preparation Of Biocompatible And Biodegradable Silk Fibroin/Chitin/Silver Nanoparticles 3d Scaffolds As A Bandage For Antimicrobial Wound Dressing. *International Journal Of Biological Macromolecules*, V. 114, P. 961–971, 2018.
- Micik, R. E.; Miller, R. L.; Mazarella, M. A.; Ryge, G. Studies On Dental Aerobiology: I. Bacterial Aerosols Generated During Dental Procedures. *Journal Of Dental Research*, V. 48, N. 1, P. 49–56, 8 Jan. 1969.
- Mishra, P.; Tyagi, S. Surface Analysis Of Gutta Percha After Disinfecting With Sodium Hypochlorite And Silver Nanoparticles By Atomic Force Microscopy: An In Vitro Study. *Dental Research Journal*, V. 15, N. 4, P. 242–247, 2018.
- Mitoraj, D.; Jańczyk, A.; Strus, M.; Kisch, H.; Stochel, G.; Heczko, P. B.; Macyk, W. Visible Light Inactivation Of Bacteria And Fungi By Modified Titanium Dioxide. *Photochemical And Photobiological Sciences*, V. 6, N. 6, P. 642–648, 2007.
- Nakano, R.; Ishiguro, H.; Yao, Y.; Kajioaka, J.; Fujishima, A.; Sunada, K.;

Minoshima, M.; Hashimoto, K.; Kubota, Y. Photocatalytic Inactivation Of Influenza Virus By Titanium Dioxide Thin Film. *Photochemical & Photobiological Sciences*, V. 11, N. 8, P. 1293–1298, 1 Ago. 2012.

Nulty, A.; Lefkaditis, C.; Zachrisson, P.; Tonder, Q. Van; Yar, R. A Clinical Study Measuring Dental Aerosols With And Without A High-Volume Extraction Device. *British Dental Journal*, 20 Nov. 2020.

Osorio, R.; Toledano, M.; Liébana, J.; Rosales, J. I.; Lozano, J. A. Environmental Microbial Contamination. Pilot Study In A Dental Surgery. *International Dental Journal*, V. 45, N. 6, P. 352–7, 1995.

Otter, J. A.; Donskey, C.; Yezli, S.; Douthwaite, S.; Goldenberg, S. D.; Weber, D. J. Transmission Of Sars And Mers Coronaviruses And Influenza Virus In Healthcare Settings: The Possible Role Of Dry Surface Contamination. *Journal Of Hospital Infection*, V. 92, N. 3, P. 235–250, Mar. 2016.

Palza, H.; Gutiérrez, S.; Delgado, K.; Salazar, O.; Fuenzalida, V.; Avila, J. I.; Figueroa, G.; Quijada, R. Toward Tailor-Made Biocide Materials Based On Poly(Propylene)/Copper Nanoparticles. *Macromolecular Rapid Communications*, V. 31, N. 6, P. 563–567, 16 Mar. 2010.

Pasquale, I. De; Porto, C. Lo; Dell'edera, M.; Curri, M. L.; Comparelli, R. Tio<sub>2</sub>-Based Nanomaterials Assisted Photocatalytic Treatment For Virus Inactivation: Perspectives And Applications. *Current Opinion In Chemical Engineering*, V. 34, 2021.

Petti, S.; Lodi, G. The Controversial Natural History Of Oral Herpes Simplex Virus Type 1 Infection. *Oral Diseases*, V. 25, N. 8, P. 1850–1865, 27 Nov. 2019.

Plosa, E. J.; Esbenshade, J. C.; Fuller, M. P.; Weitkamp, J.-H. Cytomegalovirus Infection. *Pediatrics In Review*, V. 33, N. 4, P. 156–163, 1 Abr. 2012.

Pokrowiecki, R.; Zaręba, T.; Szaraniec, B.; Pałka, K.; Mielczarek, A.; Menaszek, E.; Tyski, S. In Vitro Studies Of Nanosilver-Doped Titanium Implants For Oral And Maxillofacial Surgery. *International Journal Of Nanomedicine*, V. 12, P. 4285–4297, 2017.

Prather, K. A.; Marr, L. C.; Schooley, R. T.; McDiarmid, M. A.; Wilson, M. E.; Milton, D. K. Airborne Transmission Of Sars-Cov-2. *Science*, V. 370, N. 6514, P. 303.2-304, 16 Out. 2020.

Prospero, E.; Savini, S.; Annino, I. Microbial Aerosol Contamination Of Dental Healthcare Workers' Faces And Other Surfaces In Dental Practice. *Infection Control & Hospital Epidemiology*, V. 24, N. 2, P. 139–141, 2 Feb. 2003.

Ribeiro, M. M.; Neumann, V. A.; Padoveze, M. C.; Graziano, K. U. Efficacy And Effectiveness Of Alcohol In The Disinfection Of Semi-Critical Materials: A Systematic Review. *Revista Latino-Americana De Enfermagem*, V. 23, N. 4, P. 741–752, Ago. 2015.

Sebastiani, F. R.; Dym, H.; Kirpalani, T. Infection Control In The Dental Office. *Dental Clinics Of North America*, V. 61, N. 2, P. 435–457, 3 Abr. 2017.

Sunada, K.; Kikuchi, Y.; Hashimoto, K.; Fujishima, A. Bactericidal And Detoxification Effects Of Tio<sub>2</sub> Thin Film Photocatalysts. *Environmental Science And Technology*, V. 32, N. 5, P. 726–728, 1998.

Sunada, K.; Watanabe, T.; Hashimoto, K. Bactericidal Activity Of Copper-Deposited Tio<sub>2</sub> Thin Film Under Weak Uv Light Illumination. *Environmental Science And Technology*, V. 37, N. 20, P. 4785–4789, 2003.

Suzuki, T. Y. U.; Gallego, J.; Assunção, W. G.; Briso, A. L. F.; Santos, P. H. Dos. Influence Of Silver Nanoparticle Solution On The Mechanical Properties Of Resin Cements And Intraradicular Dentin. *Plos One*, V. 14, N. 6, P. E0217750,

26 Jun. 2019.

Tamboli, M. S.; Kulkarni, M. V.; Deshmukh, S. P.; Kale, B. B. Synthesis And Spectroscopic Characterisation Of Silver-Polyaniline Nanocomposite. *Materials Research Innovations*, V. 17, N. 2, P. 112–116, 2013.

United States Department Of Labor. Dentistry Workers And Employers.

Verdier, T.; Coutand, M.; Bertron, A.; Roques, C. Antibacterial Activity Of Tio<sub>2</sub> Photocatalyst Alone Or In Coatings On E. Coli: The Influence Of Methodological Aspects. *Coatings*, V. 4, N. 3, P. 670–686, 22 Ago. 2014.

Wagener, S.; Dommershausen, N.; Jungnickel, H.; Laux, P.; Mitrano, D.; Nowack, B.; Schneider, G.; Luch, A. Textile Functionalization And Its Effects On The Release Of Silver Nanoparticles Into Artificial Sweat. *Environmental Science And Technology*, V. 50, N. 11, P. 5927–5934, 2016.

Womack, J.; Jimenez, M. Common Questions About Infectious Mononucleosis. *American Family Physician*, V. 91, N. 6, P. 372–376, 2015.

Yañez, D.; Guerrero, S.; Lieberwirth, I.; Ulloa, M. T.; Gomez, T.; Rabagliati, F. M.; Zapata, P. A. Photocatalytic Inhibition Of Bacteria By Tio<sub>2</sub> Nanotubes-Doped Polyethylene Composites. *Applied Catalysis A: General*, V. 489, N. 1, P. 255–261, 2015.

Yin, I. X.; Zhang, J.; Zhao, I. S.; Mei, M. L.; Li, Q.; Chu, C. H. The Antibacterial Mechanism Of Silver Nanoparticles And Its Application In Dentistry. *International Journal Of Nanomedicine*, V. 15, P. 2555–2562, 2020.

Zapata, P. A.; Palza, H.; Delgado, K.; Rabagliati, F. M. Novel Antimicrobial Polyethylene Composites Prepared By Metallocenic In Situ Polymerization With Tio<sub>2</sub>-Based Nanoparticles. *Journal Of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, V. 50, N. 19, P. 4055–4062, 1 Out. 2012.

Zemouri, C.; Soet, H. De; Crielaard, W.; Laheij, A. A Scoping Review On Bio-Aerosols In Healthcare And The Dental Environment. Plos One, V. 12, N. 5, P. E0178007, 22 Maio 2017.

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial desta obra, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Maiara Rodrigues de Freitas.

Taubaté, 2023.