

ALESSANDRA MARÇAL AGOSTINHO

**BIOCIDAS NA DESINFECÇÃO DE LINHAS D'ÁGUA DE
EQUIPOS ODONTOLÓGICOS: AVALIAÇÃO QUÍMICA,
MICROBIOLÓGICA E POR MEV**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Doutora em Odontologia. Área de Concentração: Reabilitação Oral.

Orientador: Prof. Dr. Wilson Matsumoto

Ribeirão Preto

2004

Agostinho, Alessandra Marçal

Biocidas na desinfecção de linhas d'água de equipos odontológicos: avaliação química, microbiológica e por MEV. Ribeirão Preto, 2004.

111 p. : il. ; 30cm

Tese (Doutorado), apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto/USP – Área de concentração: Reabilitação Oral.

Orientador: Matsumoto, Wilson.

1. Equipo odontológico. 2. Água. 3. Nível de contaminação. 4. Biofilme 5. Desinfecção.

Alessandra Marçal Agostinho

Biocidas na desinfecção de linhas d'água de equipamentos odontológicos: avaliação química,
microbiológica e por MEV

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São
Paulo para a obtenção do título de Doutora em Odontologia.

Área de Concentração: Reabilitação Oral.

Tese defendida e aprovada em: 28/01/05.

Banca Examinadora

Prof.(a) Dr.(a) 1

Instituição FORD-USP

Assinatura

Dedicatória

Dedico este trabalho

Aos meus pais, **Maria Helena** e **Antônio Carlos**, exemplos de amor e honestidade, que com muita luta me possibilitaram chegar até aqui e a quem devo tudo o que sou.

Aos meus irmãos **Cristiana** e **Fábio**, amigos acima de tudo.

À minha sobrinha, **Luiza**, que, me ensinou a amar incondicionalmente e que alegra todos os minutos da minha vida.

Às minhas **avós**, **avôs** (*in memoriam*), **tios**, **tias** e **primos** que compartilham comigo o mais profundo sentimento de família.

Agradecimentos especiais

A **Deus**, que me permite sonhar a cada dia .

Ao **Prof. Dr. Wilson Matsumoto**, meu orientador, que sempre me deu oportunidade de aprender e pela confiança que deposita em mim.

À **Prof^a. Dr.^a Izabel Yoko Ito**, pela acolhida sem restrições, fazendo-me parte de seu biofilme.

Agradecimentos

À **Comissão de Pós-graduação** da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, da Universidade de São Paulo.

A todos os **Professores do Curso de Pós-graduação da FORP-USP**, que contribuíram de maneira decisiva para a minha formação docente.

Ao Prof. Dr. **Sylvestre Arnaldo Grandini**, por ser sempre uma mão amiga para me ajudar e sempre torcer por mim.

À Prof^ª. Dr^ª. **Mariane Gonçalves**, relatora do meu projeto, pelas observações valiosas e incentivo na realização do trabalho.

Ao amigo **Evandro Watanabe**, pela colaboração na realização da parte experimental do trabalho e pela agradável convivência do Laboratório, que se transformou em amizade.

À amiga **Maraísa Palhão Verri**, funcionária da FCFRP-USP, pela colaboração na realização da parte experimental do trabalho e por ser uma divertida companhia no laboratório.

Ao amigo **Marcos José Salvador** e à Prof^ª. Dr^ª. **Orghêda L. A. Zucchi** da FCFRP-USP pelo auxílio nas análises químicas e estarem sempre prontos a me ajudar.

À funcionária **Maria Perpétua Del Lama** e ao Prof. Dr. **Roberto Santana da Silva** da FCFRP-USP pelo auxílio na espectroscopia de absorção de luz ultravioleta/visível.

Às secretárias da Seção de Pós-graduação da FORP: **Izabel C. Galino Sola e Regiane C. Moi Sacilotto**, pela atenção com que, em todos os momentos, me atenderam e por realizarem seu trabalho com seriedade.

À secretária de Pós-graduação do Departamento de Materiais Dentários e Prótese da FORP **Regiane de Cássia T. Damasceno**, pela disponibilidade em ajudar a qualquer hora.

Às secretárias do Departamento de Análises Clínicas, Toxicológicas e Bromatológicas da FCFRP-USP: **Vania Claudia de Albuquerque Ramirez, Amélia Regina A. Aguenta Albuquerque e Wânia M. Tavares da Silva**, pelas risadas, brincadeiras e ajudas mil.

Aos funcionários da Clínica de Pacientes Especiais da FORP-USP **Oswaldo Aparecido Ribeiro, Fátima Aparecida Rizoli, Renata Aparecida Fernandes e Nadir das Dores Gardin Felício**, por sacrificarem seus horários para que eu pudesse fazer a coleta das amostras de água e mesmo assim sempre me receberem com um sorriso no rosto.

Aos funcionários da FORP-USP **Dejair Paulinelli e Francisco Carlos Nunes**, pelo auxílio na obtenção das amostras de linha d'água.

A todos aqueles que direta ou indiretamente contribuíram para a realização desta dissertação.

Muito obrigada.

SUMÁRIO

Resumo

Abstract

1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DA LITERATURA	4
3. PROPOSIÇÃO	33
4. MATERIAL E MÉTODO	35
4.1. Equipos-teste.....	36
4.2. Meios de cultura.....	36
4.3. Substâncias-teste	37
4.4. Avaliação microbiológica	37
4.5. Avaliação do efeito da desinfecção no biofilme por MEV	41
4.6. Avaliação da presença de resíduos dos desinfetantes na água.....	42
4.7. Avaliação da presença de elementos inorgânicos na água.....	42
4.8. Análise estatística	42
5. RESULTADOS	44
5.1. Avaliação microbiológica	45
5.2. Avaliação do efeito da desinfecção no biofilme por MEV	58
5.3. Avaliação da presença de resíduos dos desinfetantes na água.....	63
5.4. Avaliação da presença de elementos inorgânicos na água.....	65
6. DISCUSSÃO	70
7. CONCLUSÕES	87
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	89
9. APÊNDICE A	103

RESUMO

AGOSTINHO, A. M. **Biocidas na desinfecção de linhas d'água de equipamentos odontológicos: avaliação química, microbiológica e por MEV.** 2004. 111p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2005.

A contaminação da água do equipamento odontológico, devido à formação de biofilme nas mangueiras, pode representar risco de infecção para a equipe odontológica e pacientes. Esta pesquisa testou três substâncias químicas, detergente de mamona, Amonex T.A. e Ster-4-spray, em equipamentos odontológicos da Clínica de Pacientes Especiais da FORP-USP, tendo um grupo controle submetido apenas à drenagem. Os objetivos foram verificar a redução do número de ufc/mL na água efluente, utilizando-se o Sistema Petrifilm® (3M); o efeito no biofilme das mangueiras, por meio de microscopia eletrônica de varredura (MEV); a presença de resíduos de desinfetantes, por espectroscopia de absorção de luz ultravioleta/visível; a presença de elementos inorgânicos, utilizando-se fluorescência de raios X por reflexão total com excitação por luz síncrotron e a dinâmica da recontaminação e recolonização. A água dos equipamentos, antes do tratamento, apresentou contaminação muito superior ao permitido para a água de consumo humano (500uc/mL) e recomendado pela ADA para tratamento odontológico (200ufc/mL), chegando a $3,94 \times 10^7$ ufc/mL. Após a 1ª desinfecção apenas o grupo detergente de mamona não apresentou contaminação dentro dos padrões aceitáveis, mas após a 2ª desinfecção, resultados satisfatórios foram obtidos. A MEV revelou a presença de um biofilme bem estabelecido no interior das mangueiras em todos os grupos e somente o Amonex T.A., nas linhas de alta rotação, foi capaz de removê-lo. A recontaminação ocorreu em poucas semanas e o biofilme voltou a se instalar. Não foram detectados resíduos de desinfetantes na água efluente, mas quanto aos elementos inorgânicos, o níquel excedeu o padrão de potabilidade em dezessete das 24 amostras analisadas. Em conclusão, as substâncias foram capazes de controlar transitoriamente a contaminação da água, sem deixar resíduos, mas o número de ufc/mL retornou aos níveis iniciais em poucos dias. A remoção do biofilme foi observada somente no grupo Amonex T.A., nas linhas de alta rotação, embora a recolonização tenha ocorrido em curto período de tempo. Os elementos inorgânicos estavam dentro dos limites de potabilidade, exceto para o níquel.

Palavras-chave: Equipamento odontológico, Água, Nível de Contaminação, Biofilme, Desinfecção.

ABSTRACT

AGOSTINHO, A. M. **Biocides in the disinfection of dental unit waterlines: chemical, microbiological and SEM evaluation.** 2004. 111p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2005.

The contamination dental unit water, due to biofilm formation in the waterline, can represent risk of infection to the dental team and patients. This research tested three chemicals, castor oil-based detergent, Amonex T.A. and Ster-4-spray, in dental units of the Disabled Patients Clinic at FORP-USP, having a control group submitted only to flushing. The objectives were to assess the reduction of CFU/mL in the effluent water, using the Petrifilm® System (3M); the effect on waterline biofilm, by electron scanning microscopy (SEM); the presence of residues, through ultraviolet/visible spectroscopy; the presence of inorganic elements, using synchrotron radiation total reflection X-ray fluorescence and the dynamics of recontamination and recolonization. The dental unit water presented, before treatment, contamination higher than the allowed for human consumption (500CFU/mL) and recommended by ADA for dental treatment (200CFU/mL), reaching $3,94 \times 10^7$ ufc/mL. After the 1st disinfection only the castor oil-based detergent group did not present contamination level under acceptable standards, but after the 2nd disinfection, satisfactory results were obtained. The SEM revealed the presence of a well established biofilm in the lines in all the groups and only Amonex T.A., in the high-speed handpieces lines, was capable to remove it. The recontamination occurred in few weeks and biofilm was formed again. No residues of the disinfectants were detected in the effluent water, but analyzing the inorganic elements, nickel exceeded the drinking water standard in seventeen of the 24 samples analyzed. In conclusion, the chemicals were capable to control the contamination of water briefly, without leaving residues, but the number of CFU/mL returned to the initial levels in few days. The removal of biofilm was only observed in the high-speed handpieces lines in the Amonex T.A. group, even so the recolonization occurred in short period of time. The inorganic elements were under the drinking water limits, except for nickel.

Key-words: Dental unit waterline, Water, Contamination level, Biofilm, Disinfection.

1. INTRODUÇÃO

O controle de infecção cruzada em Odontologia é preconizado com o objetivo de se reduzir ou eliminar a exposição de pacientes e membros da equipe odontológica a microrganismos, evitando-se, assim, a transmissão de doenças. A preocupação com o controle de infecção foi intensificada no final da década de 80, com a epidemia de Aids e o temor de que a doença pudesse ser transmitida através do tratamento odontológico. Neste período, os diversos organismos internacionais reguladores do exercício da Odontologia, lançaram normas de controle de infecção, preconizando medidas para a redução de riscos e garantia de um tratamento odontológico seguro. Mas um ponto importante na prevenção da contaminação no consultório tem sido negligenciado: a qualidade da água utilizada no tratamento.

A refrigeração de brocas por água representou um importante avanço tecnológico para a Odontologia, que permitiu que os tratamentos fossem realizados com menos dor e injúria aos tecidos. Em um consultório odontológico, a água é utilizada em uma série de equipamentos indispensáveis ao atendimento como seringa tríplice, caneta de alta rotação, e aparelhos de ultra-som e jato de bicarbonato de sódio. Atualmente, os procedimentos odontológicos requerem grandes quantidades de água para irrigar, refrigerar e enxaguar a cavidade oral do paciente.

Esta água entra em contato direto com tecidos orais que podem estar lesionados e é, invariavelmente, deglutida. Além disso, devido à formação de aerossóis, é aspirada, não só pelo paciente, mas também pela equipe de trabalho.

Assim, é coerente considerar que esta água deva apresentar, no mínimo, um padrão de potabilidade igual à água de beber. Mas, diversos estudos têm demonstrado que a água coletada na saída das mangueiras do equipo apresenta níveis de contaminação muito superiores ao permitido para o consumo humano, mesmo quando a água utilizada para abastecer o equipo é de boa qualidade (potável, destilada ou esterilizada). Prevost et al., em 1995, verificaram que a água de torneira utilizada para abastecer equipos odontológicos, no Canadá, apresentava uma média de apenas 15ufc/mL, enquanto que amostras coletadas nas saídas das linhas d'água continham até $3,3 \times 10^6$ ufc/mL.

A contaminação da água é creditada ao biofilme formado no interior das mangueiras de água, uma comunidade microbiana envolta numa matriz de polissacárides, conhecida como glicocálix, que atua protegendo-a da dessecação e ação de agentes químicos.

A exposição de profissionais e pacientes à água contendo elevado número de microrganismos viola os princípios básicos de controle de infecção cruzada, portanto, medidas para reduzir estes níveis de contaminação precisam ser implementadas para que se possa garantir um tratamento odontológico de excelência num ambiente o mais seguro possível.

2. REVISÃO DA LITERATURA

or muitos séculos as doenças de veiculação hídrica, ou seja, as doenças adquiridas pela água, foram um persistente flagelo para a humanidade. A endemicidade de doenças como a cólera e a febre tifóide eram mantidas pela falta de condições sanitárias e pelo desconhecimento de como as doenças eram transmitidas (MILLS, 2003).

Felizmente, apesar de alguns surtos ocasionais, estas doenças estão sob controle graças à melhoria das condições sanitárias e ao tratamento da água. As regulamentações sobre a qualidade da água para consumo humano, no Brasil, determinam que o número de unidades formadoras de colônias de bactérias heterotróficas mesófilas por mililitro (ufc/mL) não seja superior a 500 (BRASIL, 2004), mesmo valor adotado nos EUA (UNITED STATES OF AMERICA, 2000), enquanto que no Japão (JAPAN, 1999) e União Européia (EUROPEAN UNION, 1998), é fixado em 100ufc/mL.

Embora o consultório odontológico possa parecer um local improvável para se adquirir uma doença de veiculação hídrica, a água que vem sendo dispensada na cavidade oral do paciente tem apresentado níveis alarmantes de contaminação em todo o mundo.

Em 1999, Meiller et al. constataram a presença de contaminação da ordem de 10^5 ufc/mL na água proveniente de equipos de uma clínica da Universidade de Maryland nos Estados Unidos. Walker et al., em 2000, verificaram que 95% das amostras de água coletadas de 55 consultórios ingleses apresentavam contaminação superior ao permitido no país, variando de 500 a $1,0 \times 10^5$ ufc/mL, resultado que não diferiu do encontrado por Tonetti-Eberle, Pauli-Uhlman e Mombelli (2001) na Suíça, que examinando 175 consultórios detectaram que somente em 10% a água se encontrava dentro dos padrões de potabilidade.

No Brasil Ito et al. (2000), Watanabe et al. (2001) e Agostinho et al. (2003) detectaram níveis de contaminação na água coletada de equipos da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da USP, que excediam a $1,0 \times 10^6$ ufc/mL, o que representa mais de 2.000 vezes a contaminação permitida para a água de beber no país.

Segundo Prevost et al. (1995), a qualidade da água empregada no abastecimento do equipo não pode servir como indicativo da qualidade da água efluente, já que a água utilizada por eles para abastecer o equipo apresentava média de 15ufc/mL, enquanto que a efluente de $5,6 \times 10^4$ a $9,0 \times 10^6$ ufc/mL. Problema semelhante foi verificado por Abel et al., já em 1971, quando a contaminação máxima da água de torneira não ultrapassou 90ufc/mL, a água dos equipos apresentou média de $1,8 \times 10^5$ microrganismos, e continua a

ser relatado em 2004, como no trabalho de Kohno et al., em que apesar da água de abastecimento apresentar excelente qualidade, a coletada a partir de seringas e linhas de alta rotação excedeu em mais de cinco vezes a contaminação tolerada para o consumo humano.

De acordo com Kellet e Holbrook (1980), acreditava-se que os microrganismos formadores do biofilme eram provenientes de fluidos orais de pacientes que penetrariam pelo orifício do alta rotação ou seringa tríplice, devido a um dispositivo chamado válvula de retração. Esta válvula tem a função interromper imediatamente o fluxo de água na seringa tríplice e na caneta de alta rotação quando o dentista pára de acionar o pedal do equipo e por conseguinte acaba por aspirar líquido (saliva, água, sangue) da cavidade oral do paciente. Mas, embora, quase 1,0mL de líquido possa ser aspirado, as mangueiras do equipo não são próprias para a colonização por bactérias orais e além disto estes microrganismos estão adaptados ao nicho oral rico em nutrientes e não competem bem com a microbiota da água que coloniza as mangueiras (BARBEAU; NADEAU, 1997).

A principal causa para que a água de boa qualidade colocada no equipo seja dispensada com um padrão tão elevado de contaminação têm sido indicada como a formação de biofilme no interior das mangueiras (MILLS, 2003; WIRTHLIN; MARSHALL JR; ROWLAND, 2003). Esta água é levada do reservatório até a seringa tríplice, caneta de alta rotação e pontas de ultra-som por um sistema multicanal, chamado BAP, composto por mangueiras de poliuretano de cerca de 1,0mm de diâmetro e que apresenta em média 10m ou mais de comprimento (PANKHURST; JOHNSON; WOODS, 1998).

Apesar dos microrganismos orais não fazerem parte do biofilme destas linhas, não se pode desconsiderar este refluxo como contaminante da água do equipo, uma vez que o fluido aspirado será lançado para fora das mangueiras quando o pedal do equipo for novamente acionado. Esta observação é particularmente importante quando se considera o atendimento de um novo paciente, que poderá estar recebendo dejetos aspirados do paciente atendido antes dele (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2003). Felizmente, hoje, algumas canetas apresentam uma válvula anti-retração, que permite que o fluxo de água seja interrompido quando se para de acionar o pedal, sem que haja aspiração de fluidos.

Biofilme é uma comunidade microbiana sésil formada por células que estão irreversivelmente aderidas a um substrato ou umas às outras e embebidas em uma matriz de substâncias poliméricas produzida por elas e apresentam um fenótipo alterado com relação à taxa de crescimento e à transcrição de genes (DONLAN; COSTERTON, 2002).

Formados em resposta às condições disgenéticas do meio ambiente, uma estratégia universal para otimizar a sobrevivência e perpetuar a espécie, os biofilmes existem há bilhões de anos, antes mesmo do surgimento dos eucariontes (COSTERTON et al., 1995; PREVOST et al., 1995; SHEARER, 1996).

Quando qualquer sólido é imerso em ambiente aquático, há adsorção de moléculas à sua superfície formando um filme condicionador que altera suas características, potencializa a adesão bacteriana e favorece a formação de um biofilme. As bactérias vivendo em biofilme liberam células planctônicas, servindo como fonte permanente de contaminação do líquido em que estão imersas. A adesão bacteriana ocorre nas mais diversas superfícies como dentes, implantes, válvulas cardíacas artificiais, cateteres, lentes de contato, azulejos, cascos de navios, tubulações (COSTERTON et al., 1987).

Bactérias planctônicas, também chamadas de livres, nadantes ou flutuantes, estressadas dão origem a uma específica subpopulação com um fenótipo de hiperformação de biofilme. Estas adaptações podem ser geneticamente programadas, uma vez que a resistência aumentada das populações ao stress ambiental pode promover a sobrevivência da população. Um número de mecanismos moleculares pode ser responsável pela geração de mutações que resultam em alterações fenotípicas. Uma destas mutações foi descrita em 1938, após um surto de cólera na América Latina. O *Vibrio cholerae* apresentou uma variante chamada rugosa, caracterizada pela formação de colônias menores com superfície rugosa em meio sólido em contraste com as habituais colônias lisas, planas e mais largas. Esta variante também mostrou-se resistente ao cloro e era encontrada com frequência em cultura líquidas de laboratórios submetidas a stress nutricional (PARSEK; SINGH, 2003).

O biofilme representa provavelmente a mais antiga forma de vida do planeta e em função da complexidade de sua estrutura e metabolismo há uma analogia a tecidos de organismos mais desenvolvidos (SZYMANSKA, 2003).

Seu desenvolvimento pode ser dividido didaticamente em cinco estágios distintos: adesão reversível, adesão irreversível, desenvolvimento inicial, maturação e desprendimento. As células em diferentes fases são fisiologicamente diversas umas das

outras e num mesmo biofilme são encontradas áreas em variados estágios (STOODLEY et al., 2002).

Na formação do biofilme inicialmente macromoléculas orgânicas e moléculas de baixo peso molecular adsorvem em uma superfície formando um filme condicionante que altera as características da superfície e melhora a adesão bacteriana (WIRTHLIN; MARSHALL JR; ROWLAND, 2003).

Bactérias planctônicas que apresentam estruturas de adesão como fímbrias, flagelos ou adesinas de superfície respondem a estímulos químicos, reconhecem esta superfície e fixam-se a ela. As células aderidas crescem e se dividem ao mesmo tempo em que recrutam células planctônicas adicionais, através de um complexo sistema de comunicação por substâncias químicas, chamado *quorum sensing* (ROWLAND, 2003). Esta fase é chamada de adesão reversível e sofre influência de variáveis importantes como o substrato de adesão (textura ou rugosidade, hidrofobicidade e presença de filme condicionador); fluido no qual está imersa a superfície (temperatura, pH, presença de cátions e agentes antimicrobianos e velocidade) e o microrganismo (hidrofobicidade, superfície celular, presença de fímbrias e fibrilas, produção de exopolissacarídes) (SZYMANSKA, 2003).

Bactérias aderidas migram um pouco da superfície de adesão à medida que secretam polissacarídes que servem de matriz para o biofilme e tornam a adesão irreversível. Os polissacarídes extracelulares (PEC) são polímeros biossintéticos compostos de polissacarídes, proteínas, fosfolipídeos e ácidos nucleicos que envolvem as bactérias (STOODLEY et al., 2002) e podem corresponder a mais de 90% do peso seco do biofilme (SUTHERLAND, 1983).

A partir de então, se ocorresse apenas o crescimento de células na superfície, o resultado seria uma superpopulação, promovendo o stress de muitas células que poderiam não ser capazes de obter nutrientes. Ao mesmo tempo, subprodutos metabólicos tóxicos poderiam se acumular entre estas células densamente agregadas. A solução para este problema, na fase de maturação é a criação de espaço entre os grupamentos celulares (STOODLEY et al., 2002).

A arquitetura do biofilme se desenvolve com a formação de grupos de células com formato semelhante a pilares e cogumelos, com canais de água entre eles nos quais os nutrientes podem fluir assim como os subprodutos do metabolismo são removidos e que funcionam como um verdadeiro sistema circulatório primitivo (COSTERTON et al., 1995).

O desprendimento das células ocorre através da produção de enzimas que dissolvem a matriz extracelular ou enzimas associadas à superfície celular que modulam a produção de adesinas. As células desprendidas, acredita-se, retornam ao padrão de crescimento planctônico, fechando assim o ciclo de vida do biofilme (PARSEK; SINGH, 2003).

Em equipos odontológicos, o abastecimento com água com pequena contaminação uma única vez é suficiente para o desenvolvimento de biofilme (MARAIS; BRÖZEL, 1999), porque o crescimento da massa microbiana é decorrente de sua replicação e produção de PEC, podendo atingir uma espessura de 30 a 50 μm (FAYLE; POLLARD, 1996; SZYMANSKA, 2003). Tall et al. (1995) substituíram as mangueiras de equipos para monitorar a dinâmica da formação do biofilme e constataram que em oito horas já se observa colonização bacteriana, que atinge uma comunidade clímax com microcolônias envoltas numa matriz extracelular amorfa, em seis dias. Barbeau et al. (1996) verificaram que menos de uma semana após a instalação de equipos novos na Universidade de Montreal a água efluente de equipos já apresentava contaminação superior a $2,0 \times 10^5$ ufc/mL.

As linhas de água de equipos odontológicos são um ambiente particularmente propício para a rápida formação e proliferação de biofilme, mesmo naqueles que nunca foram utilizados para o tratamento de pacientes ou recém-instalados (MILLS, 2003). Vários são os fatores responsáveis por esta característica:

- a água permanece estagnada por 99% do tempo (MARAIS; BRÖZEL, 1999), o que permite a adesão microbiana e promove, com o passar do tempo, um aumento no número de microrganismos planctônicos (BARBEAU, 2000);
- existe uma grande área de superfície para a adesão de microrganismos. Quanto menor o diâmetro da mangueira, maior é a área de superfície para um mesmo volume de água; no equipo a proporção área/volume é de 6/1 (MILLS, 2000);
- as bactérias têm a adesão inespecífica inicial favorecida em tubos plásticos de material polimérico, como é o caso do poliuretano de que são feitas as mangueiras de água devido à sua hidrofobicidade, quando comparada a vidro e metal (MILLS, 2000, 2003);
- o padrão hidrodinâmico conhecido como fluxo laminar faz com que na proximidade das paredes das mangueiras o movimento da água seja reduzido por forças friccionais, gerando uma condição de estagnação de água nesta

região, mesmo quando o equipo está em funcionamento (PETERS; MCGAW, 1996);

- a análise da superfície interna dos tubos, mostra que ela não é lisa e sim ondulada e cheia de imperfeições, o que pode contribuir para a formação do biofilme (SZYMANSKA, 2003).

Enquanto a estrutura do biofilme é influenciada por uma série de fatores biológicos, como taxa de crescimento e produção de PEC, o ambiente físico em que o biofilme se desenvolve também pode exercer um papel importante na determinação de sua estrutura. Muitos dos biofilmes cultivados em laboratório crescem em condições de fluxo laminar, resultando em padrões de crescimento que não apresentam direcionalidade. Entretanto, sob forte fluxo unidirecional, a influência das forças de deslocamento tornam-se aparentes e os grupamentos celulares alongam-se na direção do fluxo (STOODLEY; BOYLE; LAPPIN-SCOTT, 1999). O biofilme submetido a forças de deslocamento elevadas apresenta resistência ao deslocamento elevada e densidade maior do que os submetidos a forças menores (STOODLEY et al., 2002).

A organização do biofilme requer um sofisticado sistema de sinalização célula a célula e especialização celular (STOODLEY et al., 2002). Sua estrutura física e atividade metabólica produzem gradientes químicos e de nutrientes que resultam em vários micronichos e diferentes pressões seletivas. Estas pressões seletivas podem gerar uma grande diversidade de genótipos e conseqüentemente fenótipos, o que faz com que as células do biofilme expressem genes num padrão profundamente diferente das células planctônicas (PARSEK; SINGH, 2003; STOODLEY et al., 2002).

As pressões seletivas podem produzir subpopulações mais apropriadas para a patogênese ou mais refratárias a tratamentos e isto parece ser particularmente verdadeiro para biofilmes submetidos a stress como a desinfecção (PARSEK; SINGH, 2003).

As bactérias vivendo em biofilme são mais de mil vezes mais resistentes a biocidas, incluindo antibióticos e à fagocitose (COSTERTON et al., 1987). Esta resistência aumentada é causada pela combinação de vários fatores como a seleção de microrganismos mais resistentes, adaptações fisiológicas como a baixa taxa de multiplicação e a produção de exopolímeros que podem desativar alguns desinfetantes ou agir como barreira à sua difusão (SZYMANSKA, 2003).

Os microrganismos detectados no biofilme das linhas de água do equipo e que contaminam a água são os mesmos encontrados no sistema de abastecimento e incluem bactérias, fungos, protozoários, algas e nemátodes, sendo que vírus não podem sobreviver e se multiplicar nas mangueiras (SHEARER, 1996).

A relação de microrganismos já identificados é longa e variável: *Achromobacter xyloxidans*, *Acinetobacter calcoaceticus*, *Aeromonas*, *Alcaligenes dentrificans*, *Alcaligenes faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Bacteroides* spp, *Brevindimonas vesicularis*, *Burkholderia cepacia*, *Burkholderia picketii*, *Cloaca* spp, *Enterococcus* spp, *Flavobacterium indologenes*, *Flavobacterium odoratum*, *Fusobacterium* spp, *Klebsiella aerogines*, *Klebsiella pneumoniae*, *Lactobacillus* spp, *Legionella bozemanii*, *Legionella dumoffi*, *Legionella pneumophila*, *Methylobacterium mesophilicum*, *Micrococcus luteus*, *Morabella osloensis*, *Moraxella phenylpyruvica*, *Moraxella urethalis*, *Myroides odoratu*; Micobactérias não tuberculose como *Mycobacteria chelone*, *Mycobacteria flavescens*, *Mycobacteria fortuitum* e *Mycobacteria kansaii* e *Mycobacteria terrae*, *Nocardia* spp, *Ochromobacterium anthropi*, *Pasteurella haemolytica*, *Pasteurella multocida*, *Pasteurella paucimobilis*, *Pasteurella pneumotropica*, *Pseudomonas acidovorans*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas cepacia*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas maltophilia*, *Pseudomonas paucimobilis*, *Pseudomonas pickettii*, *Pseudomonas posimobilis*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas putrefaciens*, *Pseudomonas testosteroni*, *Pseudomonas stutzeri*, *Pseudomonas vesicularis*, *Psychrobacter phenylpiruvica*, *Seromonas salmonicida*, *Serratia marcescens*, *Sphingomonas paucimobilis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus capitus*, *Staphylococcus cohnii*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus warneri*, *Veilonella* spp, *Xantomonas maltophilia*; fungos dos gêneros *Cephalosporium*, *Actinomyces* e *Cladosporium*; leveduras do gênero *Cândida* e amebas dos gêneros *Acanthamoeba*, *Hartmanella* e *Naegleria* (ABEL et al, 1971; BARBEAU et al, 1996; WIRTHLIN; MARSHALL JR, 2001). Apesar desta extensa lista considera-se que apenas 0,3 a 4,0% das bactérias em um biofilme são viáveis, mas não culturáveis -VBNC-viable-but-non-culturable (MACEDO, 2001).

Embora os riscos de aquisição de infecções a partir da água do equipo odontológico não tenham sido calculados até hoje, razões para preocupação permanecem, uma vez que a carga microbiana presente é sempre excessiva, podendo em alguns casos ser visível a olho nu, pelo desprendimento de fragmentos do biofilme (BARBEAU, 2000) e microrganismos

potencialmente patogênicos podem estar presentes (BARBEAU et al., 1996; SZYMANSKA, 2003).

Os microrganismos detectados podem ser inofensivos a pessoas saudáveis mas, podem causar sérias doenças em indivíduos com imunidade comprometida como idosos, diabéticos, transplantados, doentes de AIDS. Com o avanço da Medicina, a melhoria das condições de vida e a adoção de hábitos perniciosos à saúde estes pacientes estão, cada vez em maior número, procurando assistência odontológica (STAMPI et al., 1999).

Relacionar a aquisição de uma infecção ao tratamento odontológico é difícil, devido à falta de uma conexão óbvia em função do período variável de incubação das doenças (SHEARER, 1996) e da inexistência de programas de vigilância que registrem complicações pós-operatórias (MILLS, 2001). Entretanto, vários casos têm sido relatados na literatura: em 1987, foram descritos dois casos de pacientes com câncer que receberam tratamento odontológico e apresentaram infecção. De três a cinco dias após o atendimento, os pacientes retornaram ao consultório reclamando de dor e inchaço na região em que foi posicionada a matriz para restaurações de amálgama. O exame clínico revelou a presença de abscessos na área e a cultura microbiológica comprovou a infecção por *P. aeruginosa*, que apresentava a mesma piocina-tipagem das *P. aeruginosa* isoladas da água do equipo em que estes pacientes foram atendidos. Os autores especularam que as infecções poderiam ser resultantes da inoculação direta do microrganismo na área ferida (MARTIN, 1987).

Ainda em 1987, 78 pacientes foram diagnosticados como portadores de *P. aeruginosa* depois de tratados com água contaminada de equipos odontológicos, embora nenhum tenha ficado doente (MARTIN, 1987). A *P. aeruginosa* é uma bactéria gram-negativa que sobrevive em substratos com pequena quantidade de nutrientes e tem a capacidade de metabolizar grande variedade de compostos. É um patógeno humano em potencial e atualmente figura como a maior causa de infecções oportunistas em hospitais, sendo responsável por 9 a 11% de todas as infecções hospitalares relatadas por ano nos EUA (BARBEAU; GAUTHIER; PAYMENT, 1998).

Mills relatou em 2000, mais dois casos em que a contaminação da água do equipo foi apontada como a causa de infecções em pacientes, com implicações legais. O primeiro caso resultou em processo judicial movido pelo paciente contra a indústria fabricante do equipo. O paciente em questão apresentou um quadro de endocardite bacteriana, que resultou na necessidade de uma prótese de válvula cardíaca. O microrganismo *Moraxella sp* isolado do

paciente foi o mesmo encontrado na água do equipo. O equipo não apresentava válvula anti-retração e o acusante alegou que a retração da microbiota de outro paciente havia contaminado a água do equipo e, então, sido transferida a ele, causando a infecção. A empresa foi condenada a pagar indenização. O outro caso refere-se a um paciente que apresentou abscesso cerebral após tratamento odontológico e relacionou sua doença à exposição a água contaminada do equipo odontológico de seu dentista. O caso foi levado aos tribunais e resultou no ganho da ação pelo paciente.

Os profissionais de saúde também estão sob risco, principalmente de adquirir patologias respiratórias em função da aspiração de aerossol contaminado. Flora nasal alterada ou taxas elevadas de anticorpos contra patógenos, sugerindo a exposição aos microrganismos são alguns dos achados freqüentes em profissionais (ORGANIZATION FOR SAFETY AND ASSEPSIS PROCEDURES, 2004). Clark (1974) avaliou a microbiota nasal de dentistas e encontrou uma prevalência maior de microrganismos gram-negativos do que a tipicamente encontrada na população em geral. Foi sugerido que o fenômeno era decorrente da exposição à água contaminada do equipo em forma de aerossóis.

Fotos et al. (1985) investigaram a soroprevalência a anticorpos anti-*Legionella* como marcador da exposição ocupacional. Dentistas apresentaram taxa 2,5 vezes maior que a da população em geral, e foi observada uma forte correlação entre o tempo de profissão e a soropositividade.

Em 1994, foi relatado o caso da morte de um dentista por contaminação por legionelose, que determina sintomas como febre, dor de cabeça e problemas respiratórios. Verificou-se que a cepa de *Legionella pneumophila* que infectou o profissional apresentava a mesma tipagem de DNA que as cepas que contaminavam a água de seu equipo (MILLS, 2000). Testes sorológicos realizados por Reinthaler, Mascher e Stunzner, em 1988, mostraram uma prevalência de anticorpos contra *Legionella* spp de 50% em dentistas e 38% em suas auxiliares, contra apenas 5% em pessoas de outras profissões.

A *Legionella pneumophila* é um microrganismo freqüentemente encontrado na água de equipos odontológicos. Pode causar legionelose, uma pneumonia fatal ou febre de Pontiac, uma síndrome com dor de cabeça, febre, náusea e sintomas do trato respiratório superior, freqüentemente confundida com uma infecção viral (MILLER et al., 1993).

A *Legionella* spp é um microrganismo fastidioso, ou seja utiliza produtos metabólicos de outros microrganismos para sobreviver, porque não poderia se desenvolver só com os nutrientes presentes na água. É encontrada em água com temperatura elevada (entre 35 e 43°C), assim sua presença é particularmente preocupante em consultórios de países frios onde a água do equipo é aquecida artificialmente para evitar o desconforto do paciente (ZANETTI et al., 2000) e países onde as temperaturas são naturalmente elevadas, como o Brasil.

Estudos têm demonstrado que a interação da *Legionella pneumophila* com outras espécies em biofilmes mistos, como é o caso do biofilme das mangueiras dos equipos, pode aumentar sua patogenicidade. A associação de *Legionella pneumophila* com algas parece aumentar sua virulência num modelo animal (MORRIS et al., 1979).

Amebas são considerados importantes hospedeiros de *L. pneumophila* e esta relação pode ser importante na patogenicidade da bactéria uma vez que as funções celulares desenvolvidas para o parasitismo podem permitir a sobrevivência a macrófagos dos alvéolos humanos (PARSEK; SINGH, 2003).

As amebas, podem ser isoladas de 96 a 100% dos equipos em número até trezentas vezes maior do que na água de beber, e por si só podem representar risco, pois servem de agente infeccioso quando inaladas (HARF; MONTEIL, 1988). Além disso, é sabido que o gênero *Acanthamoeba*, detectado por Michel e Just (1984) em cerca 12% dos consultórios odontológicos por eles testados e por Barbeau e Buhler (2001), em 40%, pode causar severa infecção ocular, principalmente em indivíduos que fazem uso de lentes de contato (SCAT et al. 1995).

Amebas dos gêneros *Acanthamoeba*, *Hartmanella* e *Naegleria* podem, ainda abrigar micobactérias não-tuberculose (MNT) que são micobactérias que não se enquadram na classificação de *Mycobacterium Leprae* e nem de micobactérias do complexo *Mycobacterium tuberculosis* e são responsáveis por infecções pulmonares, cutâneas, linfadenite e infecções generalizadas em pacientes imunodeficientes (BARBEAU; GAUTHIER; PAYMENT, 1998; SCHULZE-ROBBECKE et al., 1995).

Schulze-Robbecke et al., em 1995, coletaram 43 amostras de água de seringas tríplex e linhas de alta rotação para a detecção de MNT e verificaram a presença média de 365ufc/mL contra a média de 91ufc/mL na água de torneira, o que equivale a dizer que a exposição ao microrganismo durante um minuto de uso do alta rotação, corresponderia ao

número presente em quarenta litros de água, com o agravante de que no tratamento odontológico a água pode ser não só ingerida e inalada, mas também inoculada nos tecidos e corrente sanguínea, quando por exemplo da abertura de acesso a condutos radiculares para tratamento endodôntico. Os autores ainda monitoraram equipos recém-instalados durante 72 semanas para acompanhar a colonização por micobactérias não-tuberculose e verificaram que na 1ª semana já foi possível detectar a bactéria e ao final do estudo foram encontrados 1.165ufc/cm^2 do microrganismo no biofilme.

Embora a presença e quantidade de fungos não seja considerada nos parâmetros de qualidade da água, as infecções fúngicas têm chamado a atenção na medida em que têm sido mais freqüentes em pacientes imunossuprimidos hospitalizados (BODEY, 1988). Um episódio de mais de vinte casos de fungemia por *Exophiala jeanselmei* isoladamente ou em combinação com outros fungos foi relatado em 2001, por Nucci et al. O fungo, considerado de baixa virulência, pode permanecer na pele por vários meses sem disseminação para outros órgãos, mas em indivíduos com baixa resposta imunológica, como os pacientes do relato, que apresentavam Aids ou câncer, causou séria infecção.

No equipo odontológico, fungos foram isolados da água por diversos pesquisadores como Mills, Lauderdale e Mayhew (1986) que detectaram *Rhodotroula rubra*, *Cladosporium* sp, *Aspergillus* sp, *Aspergillus niger* e *Penicillium* sp, Porteus et al. (2003) que identificaram *Exophiala mesophila*, Walker et al. (2000) que encontraram *Candida* spp e Williams et al. (1993) que isolaram *Penicillium*, *Cladosporium*, *Alternaria* e *Scopulariosis*.

Espécies termofílicas em particular, como *T. vulgaris* e *Micropolyspora faeni* são conhecidos agentes de alveolite alérgica quando introduzidas em grande quantidade na atmosfera (NIEMI; KNUTH; LUNDSTRÖM, 1982), o que pode colocar em risco acentuado a equipe odontológica, que é submetida diariamente a um ambiente com grande quantidade de aerossóis.

Mas infecção não é o único risco associado à exposição à água contaminada. Grande proporção de microrganismos isolados da água são gram-negativos e, portanto, apresentam uma endotoxina, o lipopolissacáride (LPS) em sua parede celular. Assim, quando o microrganismo é lisado, a endotoxina é liberada e pode causar danos em contato com tecidos vivos. O ser humano é um dos animais mais sensíveis aos efeitos do LPS. A nível celular esta endotoxina estimula a produção de fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e

interleucinas 1 e 6 (PUTNINS; DI GIOVANNI; BHULLAR, 2001). Em grandes quantidades, pode causar graves reações fisiológicas, que incluem taquicardia, febre e tremores que podem evoluir para severa hipotensão, septicemia e choque (BRUNET; BERLAND, 2000).

Puttaiah e Cederberg (1998) encontraram uma média de 80,7 unidades de endotoxina (EU) por mL na água de equipos, o que é considerado suficiente para causar febre em um paciente saudável, enquanto que Putnins, Di Giovanni e Bhullar (2001) encontraram níveis da ordem de 2.560EU/mL, apesar da água da torneira não ter excedido 66EU/mL.

A inalação de endotoxinas também pode determinar respostas fisiológicas agudas, que incluem febre, tosse e dispnéia e exacerbar quadros de asma. A exposição contínua tem sido associada a doenças pulmonares crônicas em profissionais de indústrias como a de fibra de vidro, em que elevados níveis de bactérias são encontrados na água (REED; MILTON, 2001).

Células do tecido gengival são responsivas ao LPS e pacientes com periodontite podem ser ainda mais sensíveis à endotoxina porque apresentam níveis plasmáticos aumentados de sCD14, um receptor que combinado ao LPS produz a ativação de sinais intracelulares para a produção de citocinas pró-inflamatórias. Assim, o LPS de microrganismos mortos, provenientes da água do equipo, entrando em contato com sítios cirúrgicos pode estimular a produção destas citocinas nos tecidos gengivais e inibir a diferenciação celular de osteoblastos, prejudicando a recuperação de pacientes submetidos à cirurgia periodontal (PUTNINS; DI GIOVANNI; BHULLAR, 2001).

Embora não exista regulamentação de qual o nível de endotoxina seguro para a água utilizada no tratamento odontológico, o nível máximo permitido pela United States Pharmacopeia (USP), na água esterilizada para irrigação é de somente 0,25EU/mL (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2003).

A contaminação da água do equipo odontológico foi descrita, pela primeira vez, na década de 60, por Blake, que alertou para a contaminação da água utilizada para o resfriamento de dentes durante o preparo com motor de alta rotação. Abel et al. (1971) demonstraram que a água coletada de seringas triplices e linhas de alta rotação de dez equipos odontológicos apresentava contaminação média de $1,8 \times 10^5$ ufc/mL e consideraram-na, antes de qualquer regulamentação sobre a qualidade da água de equipos,

imprópria para o tratamento odontológico porque excedia os valores propostos para a água de consumo.

Em 1978, a American Dental Association (ADA) publicou um artigo sobre controle de infecção no qual pela 1ª vez a descontaminação das linhas de água do equipo foi mencionada. As instruções se baseavam na drenagem das mangueiras de seringa tríplice, alta rotação e aparelho de ultra-som, por pelo menos dois minutos antes e após o atendimento de pacientes e por tempo maior após longos períodos de inatividade. No início e término de cada dia de trabalho a drenagem deveria ser realizada com solução germicida como iodóforo na proporção 1:4 por cinco minutos, glutaraldeído a 2% por dez minutos ou 50ppm de cloro por dez minutos. As recomendações envolviam, ainda, a periódica avaliação da contaminação, que poderia ser feita pela semeadura de 0,1mL de água em ágar sangue, seguida de incubação por 48 horas a 37°C. Se houvesse crescimento de mais de dez colônias, o procedimento de drenagem com desinfetante deveria ser repetido.

A partir da década de 70 diversos trabalhos relatando o elevado número de microrganismos presentes na água efluente do equipo foram realizados mas, foi no início dos anos 90 que a profissão odontológica foi sensibilizada pela necessidade do controle de infecção cruzada e manutenção da qualidade da água utilizada no tratamento, o que levou organizações internacionais a se manifestarem novamente sobre o assunto.

Os Centers for Disease Control and Prevention (CDC) abordaram, pela primeira vez, a questão da qualidade da água em seu guia de controle de infecção em 1993.

Em 1996, a ADA publicou recomendações específicas para a manutenção da qualidade da água do tratamento odontológico, que se resumiam em:

- drenagem de água por “muitos” minutos, no começo do dia de trabalho, para reduzir as bactérias que se desenvolvessem durante a noite ou fim de semana;
- drenagem de vinte a trinta segundos, entre o atendimento de pacientes, para eliminar qualquer material que pudesse ter sido aspirado;
- cumprimento das orientações do fabricante do equipo odontológico;
- uso de solução fisiológica ou água estéril em procedimentos cirúrgicos, o que levou ao desenvolvimento de reservatórios e dispositivos autoclaváveis, acoplados ao equipo (MILLS, 2000);
- utilização de opções comerciais para melhorar a qualidade da água (reservatórios de água independentes, tratamento químico, filtros, válvulas anti-retração).

Neste mesmo guia, a ADA, lançou um desafio à comunidade odontológica para que até o ano 2000, a água do equipo utilizada para procedimentos não cirúrgicos apresentasse um número máximo de 200ufc/mL, o que corresponde à qualidade do fluido de diálise. A seleção deste nível máximo de contaminação se deve a vários motivos: a água com mais de 200ufc/mL foi relacionada a reações sistêmicas em pacientes submetidos a hemodiálise (ADA, 1996); concentrações bacterianas maiores que 500ufc/mL podem, por competição, mascarar a presença de coliformes, que são microrganismos indicadores de condições higiênico-sanitárias (PREVOST et al., 1995) e se a água utilizada para preparar o fluido de diálise contiver mais do que 200ufc/mL, pode haver rapidamente a colonização da unidade de hemodiálise e uma amplificação da contaminação (SHEARER, 1996).

A Canadian Dental Association estabeleceu, em 1997, diretrizes para a manutenção da qualidade da água, recomendando que os profissionais evitem seu aquecimento para utilização no equipo e sigam as instruções da indústria quanto aos procedimentos de desinfecção. O guia determinou para o país 500ufc/mL como limite máximo de contaminação para a água efluente do equipo (BARBEAU, 2000).

Nos EUA, as recomendações para o controle da contaminação são periodicamente revistas como é o caso da ADA Statement on dental unit waterlines (2004) e das publicações do CDC (2003) e OSAP (2004), com o objetivo de esclarecer os profissionais sobre o problema e disponibilizar informações necessárias para a seleção de produtos e equipamentos.

Mas, apesar de pesquisadores e indústria de equipamentos odontológicos estarem estudando, intensamente, métodos físicos, químicos e físico-químicos para reduzir esta contaminação, níveis elevados de microrganismos ainda são detectados e uma solução definitiva ainda não foi apresentada.

Devido ao pequeno diâmetro das mangueiras de água do equipo, a remoção mecânica do biofilme não é um método aplicável (MAYO; OERTLING; ANDRIEU, 1990). Os métodos testados ao longo do tempo têm se mostrado capazes de reduzir a contaminação transitoriamente, agindo apenas nos microrganismos planctônicos, porque não são capazes de desagregar completamente o biofilme (MILLS, 2000). Assim, o que resta serve de matriz para a formação de novo biofilme, algumas vezes de maneira mais rápida que o biofilme original e a contagem de ufc/mL retorna facilmente ao patamar inicial (BRANNAN, 2000). O único caminho para se eliminar definitivamente o problema da

contaminação da água é remover o biofilme e impedir que ele se forme novamente (PREVOST et al., 1995).

A decisão sobre o método ou substância a ser utilizada não é simples pois precisa levar em consideração fatores como o custo, tempo de execução, número de pessoas para sua realização (COBB et al., 2002), toxicidade para membros da equipe e pacientes, presença de resíduos (MONTEBUGNOLI; DOLCI, 2000), interferência em procedimentos restauradores (ROBERTS; KARPAY; MILLS, 2000) e efeitos deletérios nos equipamentos (SHERMAN et al., 1997).

Dentre os métodos físicos até hoje estudados para a sanificação da água dos equipos odontológicos, a drenagem foi o empregado por Gross, Devine e Cutright, em 1976. Os autores drenaram doze equipos por dois minutos e verificaram uma redução no número de ufc/mL de 98%. Entretanto, o nível de contaminação ainda permaneceu muito alto, chegando a $9,8 \times 10^4$ ufc/mL.

Apesar de Scheid et al. (1982) terem verificado que o fluxo de água por quatro minutos nas linhas do alta rotação reduziu a contagem de microrganismos a zero, Mayo, Oertling e Andrieu (1990) observaram que depois de purgar seringas tríplices por seis minutos apesar da redução média de 96,8% na contaminação, em apenas dois dos seis equipos testados a contagem microbiana ficou abaixo das 200 ufc/mL.

Depois de uma drenagem de vinte minutos em que se obteve contagem zero de microrganismos, Whitehouse et al. (1991) constataram a presença de microrganismos em amostras coletadas trinta minutos depois e todas as amostras foram positivas após 24 horas.

Barbeau et al. (1996) coletaram água da seringa tríplice de 123 equipos ao início do dia e após dois minutos de fluxo de água e atestaram que, apesar desta manobra diminuir a contagem de microrganismos, somente após oito minutos de drenagem contínua seria possível atingir o nível de 500 ufc/mL.

Cobb et al. (2002) coletaram água de doze linhas de água de canetas de alta rotação após 48 horas sem uso, para então proceder à drenagem por dois, três e quatro minutos. Os resultados microbiológicos mostraram diferenças estatisticamente significantes entre a contagem inicial e cada intervalo de drenagem e para as drenagens entre si. O número de microrganismos inicial foi de $1,5 \times 10^4$ ufc/mL e embora a redução após quatro minutos tenha sido de 79,4%, a contaminação ainda excedeu o preconizado pela ADA em mais de 15%.

Apesar de ser a técnica mais simples e mais barata para reduzir a contaminação da água, a drenagem por longos períodos de tempo é impraticável, principalmente em clínicas com muitas cadeiras como é o caso das Universidades (COBB et al., 2002). Além disso, é importante enfatizar que a drenagem reduz os microrganismos planctônicos, mas não é capaz de remover o biofilme, uma vez que o fenômeno do fluxo laminar cria uma área de água praticamente estagnada próximo à parede da mangueira, que é onde está aderido o biofilme (PETERS; MCGAW, 1996).

A drenagem, embora receba críticas, ainda é preconizada pelo CDC (2003) e ADA (2004) em associação a outros métodos e foi capaz de, em apenas um minuto, reduzir em 70% o nível de endotoxinas na água, que baixou de 2.560EU/mL para 800EU/mL, em um estudo realizado por Putnins, Di Giovanni e Bhullar (2001) e, em dois minutos, diminuir em 66% a contagem de amebas, segundo Barbeau et al. (1996).

Outro método físico que não expõe a equipe odontológica a substâncias químicas e não danifica o equipamento é o uso de filtros. Em 1978, filtros instalados por Dayoub, Rusilko e Gross, nas mangueiras do ultra-som, eliminaram microrganismos na água por 48 horas e de alta rotação por mais de 72 horas, mas após estes períodos a contaminação voltou a ser detectada. Segundo Pankhurst, Johnson e Woods (1998), em equipos com filtros não substituídos a recontaminação ocorre após 24 horas da sua colocação em função do crescimento bacteriano nos próprios dispositivos, por isso, sua vida útil, definida pelo fabricante, precisa ser respeitada (KIM; CEDERBERG; PUTTAIAH, 2000).

Mayo e Brown (1999) testaram a eficácia de filtros de vida útil de um dia instalados em posições diferentes nas linhas de seringas tríplexes de dois equipos com quinze anos de uso. A análise microbiológica da água efluente revelou que quando instalado o mais próximo possível da seringa o filtro reduziu em 97% a contaminação, mas o número médio de ufc/mL foi de $1,3 \times 10^3$, ainda acima dos padrões desejados. No outro equipo, o filtro instalado a 1,8 metros da seringa produziu água mais contaminada do que a de um equipo controle.

Filtros de poros reduzidos são largamente utilizados em microbiologia para remover bactérias de líquidos (MAYO; BROWN, 1999) e estão dentre os recursos recomendados pelo CDC (2003) e ADA (2004) para a obtenção de água com qualidade aceitável para o tratamento odontológico, mas, Costerton (1995) alertou para o fato de que ultramicrobactérias, que são microrganismos extremamente pequenos, porém viáveis, que

se desenvolvem em condições de déficit nutricional, podem passar através de filtro mais facilmente que as bactérias vegetativas típicas.

Fiehn e Larsen (2002) testaram a secagem das linhas na redução da contaminação. Dezoito equipos, em Copenhagem, foram divididos em três grupos. O grupo A teve o reservatório esvaziado ao final do dia e durante uma hora foi circulado ar pela mangueira, que permaneceu seca por dezesseis horas. O grupo B (controle positivo) foi tratado com 0,5ppm de hipoclorito de sódio por vinte minutos após um tratamento de choque com hipoclorito de sódio a 15ppm e o grupo C (controle negativo) não recebeu nenhum tratamento. As amostras coletadas por dezenove dias mostraram que o uso do hipoclorito não resultou em água dentro dos padrões da ADA, apesar de uma redução de 2log na contaminação e a secagem das linhas não resultou no grupo A em diminuição da contaminação da água quando comparado com o grupo que não recebeu qualquer tratamento.

Um importante dispositivo, desenvolvido pela indústria, é o reservatório de água acoplado ao equipo, independente da rede de abastecimento. Esse sistema tem a vantagem de permitir a adição de biocidas, compostos com atividade letal contra organismos vivos, de maneira intermitente ou contínua (FAYLE; POLLARD, 1996). O agente desinfetante selecionado deve ser não tóxico ao ser humano, para que efeitos indesejáveis sejam evitados, não poluente e apresentar amplo espectro de atividade antimicrobiana (PANKHURST; JOHNSON; WOODS, 1998).

A utilização de substâncias químicas para a redução da contaminação da água do equipo tem sido o método mais estudado ao longo do tempo. Já em 1963, no 1º trabalho sobre a redução da contaminação nas mangueiras de equipos, Blake propôs a adição de clorexidina à água do reservatório, em concentração de 1:10.000, verificando que por três meses não foram detectados microrganismos no efluente. O autor chamou a atenção para o sabor desagradável da substância, o que faz impraticável seu uso em concentrações superiores, mas acrescentou que o gosto poderia ser mascarado pela adição de um agente flavorizante como o mentol. Douglas e van Noort (1993) trabalharam com um dispositivo que promovia a liberação lenta de clorexidina. Após a descontaminação da água de dez equipos com hipoclorito de sódio por dez minutos, cilindros de resina contendo 40% de clorexidina, em peso, foram instalados nos reservatórios de água de cinco equipos. No grupo controle, equipos abastecidos com água destilada, a recontaminação da água foi

observada num curto espaço de tempo, enquanto que no grupo teste, 80% dos equipos permaneceram por três meses sem contaminação.

Epstein et al. (2002) testaram um desinfetante à base de clorexidina (Lines TM, Micrylium Laboratories, Phoenix, Arizona, EUA) em onze linhas d'água. O tratamento consistiu na manutenção do desinfetante durante a noite nas mangueiras, sendo drenado na manhã seguinte e utilização somente de água esterilizada para o abastecimento dos equipos. A avaliação microbiológica, realizada durante oito semanas após a desinfecção, revelou que o número de ufc/mL inicial de $6,29 \times 10^4$ foi reduzido a zero e manteve-se assim até a 8ª semana após o tratamento em dez equipos.

Kettering et al. (2002) dividiram 75 equipos em cinco grupos, que foram submetidos a diferentes tratamentos. O grupo 1 (controle) foi abastecido durante todo o experimento com água de torneira. O grupo 2 foi desinfetado semanalmente com hipoclorito de sódio diluído a 0,31% durante dez minutos, seguido de fluxo de água de torneira por dois minutos e abastecido também com água de torneira. O grupo 3 foi permanentemente abastecido com gluconato de clorexidina a 0,12%, que era usado inclusive para o tratamento de pacientes. O grupo 4 foi submetido a desinfecção com clorexidina a 0,12% todas as noites e abastecido com água de torneira. E por fim, o grupo 5 recebeu a mesma desinfecção que o grupo 4, mas foi abastecido com água destilada esterilizada. Os resultados mostraram que apenas a utilização contínua de clorexidina (grupo 3) e a associação de clorexidina mais água esterilizada (grupo 5) foram capazes de garantir água dentro dos padrões de qualidade da ADA.

Embora a clorexidina venha sendo utilizada como solução para bochechos, com excelentes resultados, seu emprego em equipos odontológicos, principalmente em tratamentos contínuos, deve ser avaliada, devido ao seu custo, potencial de alteração gustativa, gosto amargo relatado por pacientes, manchamento de dentes, além de casos registrados de reações alérgicas. Yusof e Khoo (1988) e Moghadam, Drisko e Gier (1991) relataram casos de reação de hipersensibilidade após a utilização de colutório à base de clorexidina. Esta reação alérgica pode variar de uma dermatite de contato e urticária, até um profundo choque anafilático. Garvey, Roed-Petersen e Husum (2001) afirmaram que de um total de cinco casos de choque anafilático devido à clorexidina, relatados na Dinamarca, dois foram devido à aplicação oral. Embora os casos de choque sejam raros e extremos e geralmente ocorram em cirurgias, nas quais a clorexidina é utilizada como anti-

séptico, a importância do contato constante com a substância é devido à sensibilização inicial que causa reações alérgicas não específicas e predispõe a reações mais severas. De acordo com Wicki et al. (1999) o risco de sensibilização é maior quando a clorexidina é empregada repetidamente em contato com a pele lesada ou superfícies mucosas. Segundo Douglas e van Noort (1993) estes efeitos são mais problemáticos para os membros da equipe odontológica do que para pacientes, em função da exposição contínua aos aerossóis gerados durante o tratamento.

Mills, Lauderdale e Mayhew (1986) utilizaram povidine-iodine a 10% em equipos com contagem inicial de $9,0 \times 10^4$ a $4,1 \times 10^5$ ufc/mL. O desinfetante foi mantido por doze horas, nas linhas de água, seguido de circulação de água esterilizada. Durante 22 dias, somente água esterilizada foi utilizada para abastecer os reservatórios. Coletas de água, a partir das mangueiras, foram efetuadas após 24 e 72 horas, oito, catorze e 22 dias. Em oito dias, dois equipos já apresentavam contaminação e no 22º dia todos os equipos já estavam contaminados.

Um equipo fabricado com dois sistemas de descontaminação de água, através da desinfecção e esterilização das mangueiras, utilizando glutaraldeído, foi testado por Douglas e Rothwell (1991). O ciclo de desinfecção consistia na manutenção de glutaraldeído por 1,5 minutos nas mangueiras e drenagem de água por cinco minutos. No ciclo de esterilização, o glutaraldeído permanecia estagnado por seis horas nas mangueiras, seguido da circulação de água por vinte minutos. Os autores contaminaram as linhas de água de equipos com *Pseudomonas* sp e *Moraxella* sp e esporos de *Bacillus megaterium* e ativaram em uns o ciclo de desinfecção e em outros o de esterilização. O ciclo de esterilização mostrou ser efetivo na eliminação de todos os microrganismos, enquanto que o de desinfecção não matou os esporos de *B. megaterium*.

Meiller et al. (1995) investigaram a eficácia do anti-séptico Listerine, comparativamente ao hipoclorito de sódio, em reduzir a contaminação da água e concluíram que o hipoclorito sem diluição mantido durante cinco minutos, nas mangueiras, foi capaz de eliminar os microrganismos da água, enquanto que o Listerine só eliminou os microrganismos após quinze minutos de estagnação. Após quinze horas de contato, embora nenhum microrganismo recuperável tenha sido detectado na água, constatou-se, através de microscopia eletrônica de varredura (MEV), que nenhum dos dois compostos desintegrou o biofilme, deixando uma matriz potencial para recolonização.

Em 1997, Eleazer, Schuster e Weathers publicaram o resultado de um estudo no qual abasteceram três grupos de equipes recém-instalados com o anti-séptico Scope em diluições de 1:10 e 1:20 e álcool a 2% continuamente por 42 meses e obtiveram culturas microbiológicas negativas por mais de três anos.

Wirthlin e Marshall Jr (2001) utilizaram um anti-séptico bucal à base de dióxido de cloro a 0,1% para a desinfecção das linhas de água de aparelhos de ultra-som. Doze aparelhos foram divididos em dois grupos: grupo A, abastecido com o anti-séptico e grupo B (controle), abastecido com água de torneira e simulou-se um dia de trabalho, com períodos de uso e de descanso, intercalados pela drenagem por um minuto. Para o grupo controle foi observada uma redução de três a cinco vezes na contaminação da água, embora o número de microrganismos não tenha ficado abaixo das 200ufc/mL e após o período de estagnação noturno, os níveis tenham retornado ao patamar inicial. Para o grupo abastecido com dióxido de cloro a 0,1%, a redução da contaminação foi de doze a vinte vezes e a contaminação foi mantida inferior ao preconizado pela ADA. A microscopia eletrônica de varredura de fragmentos das mangueiras mostrou diferenças estatisticamente significantes entre os dois grupos. Enquanto que as amostras dos aparelhos do grupo A apresentaram pequenos depósitos de biofilme, as amostras do grupo controle exibiram um biofilme bem definido. Os pesquisadores acrescentaram que não foram observados efeitos deletérios nos equipamentos, nem qualquer reclamação sobre o gosto ou odor do anti-séptico foi relatada pelos pacientes.

O dióxido de cloro tem sido utilizado para o tratamento de água em algumas cidades americanas desde 1944. Apresenta poder oxidante 2,5 vezes maior que o cloro e tem se mostrado mais efetivo que ele contra *E. coli*, eliminando 99% de células em quinze segundos de contato, além de ter melhor atividade esporicida (LONGLEY; MOORE; SORBER, 1980). Sua ação bactericida se dá por meio do rompimento da parede celular da bactéria e inibição da síntese protéica (BERNARDE et al., 1967).

Fiehn e Henriksen (1988) compararam três metodologias de desinfecção utilizando cloro, mas apesar dos bons resultados, alertaram para o problema da corrosão, pois o cloro ataca metais que contém alumínio e apresenta gosto e cheiro desagradáveis, principalmente quando utilizados em tratamentos contínuos (WIRTHLIN; MARSHALL JR, 2001). Karpay et al. (1999) avaliaram a combinação do tratamento intermitente com altas concentrações de hipoclorito de sódio com o tratamento contínuo em baixas concentrações e atingiram a

meta proposta pela ADA. Kim, Cederberg e Puttaiah (2000) mantiveram a qualidade da água através de tratamentos intermitentes com hipoclorito de sódio tanto a 5000ppm quanto a 1500ppm em que 300mL do desinfetante era drenado, seguido da manutenção por dez minutos nas linhas e de fluxo de solução salina para enxágüe de resíduos. Os resultados microbiológicos não revelaram diferenças estatisticamente significantes entre os dois protocolos. Fragmentos das mangueiras analisadas por MEV, mostraram a existência, inicialmente, de um biofilme maduro, caracterizado pela presença de cocos e bacilos em meio à matriz de glicocálix. Ao final dos tratamentos, entretanto, apesar da ausência de microrganismos e matriz orgânica, estruturas semelhantes a depósitos de material inorgânico podiam ser visualizadas.

Apesar do cloro ser um dos desinfetantes mais utilizados tradicionalmente para a desinfecção da água, a busca a outras alternativas tem sido incentivada, devido à potencial formação de subprodutos tóxicos. O cloro reage com matéria orgânica presente na água ou com o próprio biofilme, gerando substâncias como os trihalometanos, possivelmente carcinogênicos (BULL et al., 1995).

Smith et al. (2002) utilizaram um sistema composto por três soluções para a remoção e controle de biofilme em equipos, chamado de Alpron (Quality, Water Specialists, Yorkshire, Inglaterra). A 1ª solução composta por hipoclorito de sódio a 2% em temperatura de 50°C foi mantida nas linhas dos equipos por trinta minutos. A segunda solução de alquilaminas a 60°C também permaneceu nas linhas por trinta minutos e, então, a solução de Alpron, propriamente dita foi mantida nos reservatórios como tratamento contínuo. O sistema foi capaz de remover fragmentos visíveis de biofilme e a qualidade da água foi garantida até a 13ª semana do estudo.

Peróxidos para descontaminação da água de equipos odontológicos e remoção de biofilme tem sido a classe de substâncias mais desenvolvida por parte da indústria e mais estudada pelos pesquisadores da área ultimamente.

O efeito do peróxido de hidrogênio foi avaliado por Meiller et al., em 1999, durante duas semanas na sanificação de linhas de água de equipos. Mangueiras de canetas de alta rotação foram contaminadas por cepas de *P. aeruginosa* e *S. aureus*, desinfetadas diariamente com uma solução de peróxido de hidrogênio a 3% diluído na proporção 1:4 em água destilada e mantidas vazias durante a noite e fins de semana. As amostras de água coletadas nas manhãs seguintes às desinfecções mostraram um decréscimo de 4 a 6log na

contaminação inicial, cuja média foi de $1,0 \times 10^6$ ufc/mL para *S. aureus*, e $3,8 \times 10^8$ ufc/mL para *P. aeruginosa*. Entretanto, duas dinâmicas diferentes foram observadas: a redução de *S. aureus* foi mais lenta e pareceu estabilizar-se, enquanto que a de *P. aeruginosa* foi mais rápida embora tenha havido um aumento de 2log na contaminação após cada fim de semana. Os autores concluíram que o *S. aureus* pode ser menos sensível ao peróxido de hidrogênio, o que está de acordo com o relato de Block (1991), de que a substância tem maior atividade em microrganismos gram-negativos do que gram-positivos e afirmaram que a umidade remanescente nas linhas e a capacidade de sobrevivência e multiplicação em ambientes com pequena fonte nutricional foram responsáveis pelo aumento de *P. aeruginosa* nos finais de semana.

Shepherd et al. (2001) testaram um desinfetante alcalino à base do peróxido HPI-PTC (hydroxiperoxide ion-phase transfer catalyst, Sterilex Ultra Dental Unit Waterline Cleaner, Sterilex, Owings Mills, Maryland, EUA) durante seis semanas em nove equipos da Universidade de Louisville, nos Estados Unidos e catorze equipos de consultórios particulares da área metropolitana. Semanalmente o peróxido foi adicionado à água de torneira para a produção de uma solução a 5%, que permaneceu nas linhas de água durante a noite, sendo drenado pela manhã. A contaminação média inicial de $1,44 \times 10^5$ ufc/mL, foi reduzida para menos de 200 ufc/mL em todos os equipos da Universidade e em oito dos catorze particulares. Os seis restantes que mostraram-se “resistentes” ao tratamento, tiveram que ser submetidos a três dias consecutivos de desinfecção para atingir o padrão aceitável.

Linger et al. (2001) testaram o efeito do Sterilex Ultra em 23 equipos da marca A-dec (Newberg, Oregon, EUA) na Universidade de Detroit Mercy e conseguiram, após o tratamento de choque (três noites consecutivas), seguido do tratamento semanal, a redução da contaminação da água a níveis aceitáveis. A MEV revelou que, enquanto no grupo controle, que não recebeu qualquer tratamento, um biofilme bem estabelecido estava presente, no grupo tratado poucas bactérias estavam presentes, mas a matriz residual era evidente. Entretanto, testando o mesmo produto, em equipos da marca Flex (Copenhague, Dinamarca), na Universidade de Copenhague, Larsen e Fiehn (2003) encontraram resultados diferentes. Apesar de redução inicial de microrganismos, a partir da 3ª semana de tratamento, a contaminação chegou a $1,0 \times 10^4$ ufc/ml e permaneceu acima das 200 ufc/mL em cinco dos seis equipos testados até o término das seis semanas de estudo. A

discrepância de resultados, segundo os autores, pode ser fruto da diferente marca dos equipamentos e do material de que são feitas as mangueiras.

A água eletroquimicamente ativada (ECA) é um produto desenvolvido na Rússia, com aplicação em vários campos como agricultura, dermatologia, sanificação de piscinas, e desinfecção de instrumentos médicos e que foi adaptada para o uso em linhas d'água de equipos odontológicos (MARAIS; BRÖZEL, 1999). O uso de corrente elétrica para promover a eletrólise de soluções aquosas não é novo, mas avanços tecnológicos recentes permitiram que fossem produzidas soluções aquosas com elevadas propriedades antimicrobianas (MARAIS, 2000).

A corrente elétrica aplicada a um sistema de eletrodos, na presença de água adicionada de pequena quantidade de sais produz duas soluções: o anólito, com elevado potencial de oxidação, que apresenta atividade antimicrobiana; e o católito, com elevado potencial de redução, que tem ação detergente ou de limpeza (MARAIS; BRÖZEL, 1999).

Na Universidade de Pretória, na África do Sul, onde os níveis de contaminação da água de seringas triplices variavam de $3,0 \times 10^4$ a $2,0 \times 10^5$ ufc/mL, a água eletroquimicamente ativada foi utilizada (MARAIS; BRÖZEL, 1999). Treze equipos odontológicos equipados com reservatórios de água independentes, com doze anos de uso foram divididos em dois grupos. O grupo A foi tratado com ECA, sendo que os reservatórios foram abastecidos com o anólito, que era utilizado continuamente para o tratamento de pacientes e no final do dia, trocado por católito, que era drenado por vinte segundos para neutralizar o anólito e também exercer sua atividade de limpeza. O grupo B (grupo controle) foi abastecido com água destilada como de costume. Após uma semana de tratamento o grupo A apresentou contagem média de ufc/mL menor do que uma, enquanto que a contaminação do grupo controle permaneceu nos patamares iniciais. Como os equipos estavam sendo utilizados para o tratamento de pacientes, as autoridades da Universidade, devido a questões éticas, decidiram instituir para o grupo controle um tratamento diário de drenagem com 0,5% de hipoclorito de sódio e abastecimento das linhas com água deionizada bidestilada. Depois de cinco semanas do início do experimento, a contaminação de ambos os grupos foi menor que 1 ufc/mL, mas, enquanto que no grupo tratado com ECA, a microscopia eletrônica de varredura de fragmentos das mangueiras demonstrou que o biofilme foi efetivamente removido, no grupo controle ele ainda estava presente. A explicação para a grande redução do número de ufc/mL e remoção

do biofilme pela ECA é que os radicais hidroxila presentes no anólito removeriam íons hidrogênio da matriz do biofilme, levando a seu colapso e exposição das bactérias à ação de mais radicais hidroxila.

Kohno et al. (2004), no Japão, consideraram que a utilização contínua de ECA poderia ser problemática devido à aspiração de aerossóis produzidos durante o tratamento e à corrosão do equipo e, por isso, decidiram-se por um procedimento único de desinfecção. Dois litros de anólito foram drenados por trinta minutos em três equipos, enquanto que outros três, sem tratamento, serviram como controles. Amostras de água obtidas um, dois e seis dias após a desinfecção foram processadas para a determinação de ufc/mL e comparadas com a contaminação determinada antes do tratamento. A contagem média inicial de 910ufc/mL para a água das linhas de alta rotação e de 521ufc/mL para a das seringas foi reduzida a zero imediatamente após o uso da ECA, mas em amostras coletadas seis dias depois, já foi observada uma contaminação intolerável.

A grande preocupação no uso da ECA é sua segurança para seres humanos, devido aos perigos dos radicais livres. É considerado que a contínua exposição a radicais livres durante muitos anos pode predispor ao câncer, envelhecimento precoce e doenças cardíacas isquêmicas. Embora a ECA não seja nada além de água eletrolisada com a adição de um pouco de sal, que após 48 horas, retornam ao estado de água pura não existem evidências científicas que confirmem ou não a segurança da sua utilização (MARAIS; BRÖZEL, 1999).

Em 2004 foi publicado um estudo de Meiller e colaboradores, da Faculdade de Odontologia de Baltimore nos EUA, sobre os efeitos de um produto em pó à base de percarbonato de sódio, surfactantes catiônicos e nitrato de prata (ICX, A-dec, Newberg, OR, EUA) para uso contínuo, na qualidade da água e na prevenção e remoção do biofilme, utilizando um sistema computadorizado, que simulava equipos odontológicos. Cinco equipos-controle, com mangueiras novas tiveram seus reservatórios independentes abastecidos com água da rede de abastecimento público. Seis equipos, também com mangueiras novas, e outros dois equipos com mangueiras em uso por dois anos, foram abastecidos continuamente com solução de ICX, preparada com água destilada esterilizada. Durante os 28 dias de duração do experimento foi simulado o atendimento de oito pacientes por dia, com períodos em que a água corria pelas linhas e períodos de descanso. Os resultados microbiológicos revelaram que após sete dias de funcionamento, os equipos

controle já apresentavam média de $5,0 \times 10^4$ ufc/mL, enquanto que nos equipos novos tratados com ICX, não foi observada contaminação, nem a formação de biofilme em fragmentos de mangueira analisados por meio de MEV. Entretanto, nos equipos com biofilme estabelecido, cuja contaminação inicial era de $1,0 \times 10^4$ a $1,0 \times 10^5$ ufc/mL, somente após catorze dias de tratamento com o desinfetante a contaminação deixou de ser detectada. Os autores concluíram que o produto mostrou-se efetivo em inibir a formação de biofilme em equipos novos e é capaz de reduzir a contaminação em equipos em uso, mas para um resultado mais rápido em equipos muito contaminados, sugeriram a adoção de um tratamento de choque inicial à base de cloro ou produtos concentrados de uso intermitente.

McDowell, Paulson e Mitchell (2004), testando o mesmo produto, encontraram resultados semelhantes quanto à inibição da formação de biofilme pelo ICX. Um sistema computadorizado simulou por quase quatro meses a rotina diária de dez equipos, com o atendimento de dez pacientes e períodos de estagnação. A MEV mostrou que, enquanto no grupo controle abastecido com água de torneira, após dez semanas o estabelecimento de biofilme foi evidente, no grupo tratado com ICX nenhuma adesão microbiana foi observada nas mangueiras.

Outra substância que tem merecido atenção é o ácido peracético. O ácido peracético é um componente de uma solução em equilíbrio, formada por peróxido de hidrogênio, ácido acético e água. O peróxido de hidrogênio libera íons que reagem com o ácido acético para formar ácido peracético. A molécula de ácido peracético é instável e se decompõe em ácido acético e água, liberando oxigênio. A reação continua até que todo o peróxido de hidrogênio tenha sido consumido e o produto final seja somente ácido acético e água (ITALIAN DENTAL ASSOCIATION, 2000).

Suas propriedades bactericidas são conhecidas desde 1902, mas por 25 anos nunca foi utilizado como desinfetante. No fim da década de 80 começou a ser utilizado, em um sistema automatizado, para a esterilização de endoscópios que apresentavam longos e finos lumens, e na metade da década de 90, uma solução a 0,35% foi proposta para a esterilização de instrumental odontológico. O ácido peracético é um dos biocidas mais eficazes, com rápido efeito e amplo espectro de ação, apesar da série de efeitos adversos como a instabilidade, levando a uma vida útil extremamente curta; a impossibilidade de concentrar a solução, devido à inflamabilidade; o odor desagradável; a corrosão de metais e a acidez. Dentre todas as classes de agentes antimicrobianos em uso corrente, as fórmulas

baseadas em peróxidos figuram entre as mais aceitáveis em termos de impacto ambiental, entretanto, as moléculas até então disponíveis ou perdiam rapidamente sua eficácia, como é o caso do peróxido de hidrogênio ou apresentavam risco na sua utilização como o ácido peracético (ITALIAN DENTAL ASSOCIATION, 2000). Mas uma combinação de tetraacetil-etilenodiamina (TAED) com sais tem gerado ácido peracético *in situ*, sem os efeitos adversos. O TAED foi produzido pela 1ª vez no início dos anos 70 e utilizado, inicialmente, em procedimentos de lavanderia, juntamente com perborato e percarbonato de sódio para a remoção de manchas, sendo depois aplicado no setor de detergentes para lava-louças. A reação entre TAED e peróxidos ocorre em pH neutro e não causa corrosão. Em solução aquosa, um mol de TAED reage com dois mols de peróxido para formar um mol de DAED (di-acetil-etilenodiamina) e dois mols de íons peracéticos (ITALIAN DENTAL ASSOCIATION, 2000).

Montebugnoli e Dolci (2002) avaliaram o efeito de um desinfetante à base de TAED e sais peroxidantes (Ster-4-spray, Farmec, Bolonha, Itália) na descontaminação da água de cinco equipos, entre o tratamento de pacientes. O protocolo de desinfecção, realizado cinco vezes ao dia, consistiu na manutenção da substância por cinco minutos nas linhas, seguida de fluxo de água. A substância manteve o número de ufc/mL abaixo de 500.

A possibilidade de que substâncias utilizadas na descontaminação da água do equipo, em protocolos contínuos de tratamento, interfiram na adesão de materiais restauradores tem preocupado a comunidade científica e levado ao desenvolvimento de pesquisas. A adesão ao esmalte apresenta poucos problemas quando a superfície é adequadamente condicionada, mas a adesão à dentina é mais complexa devido ao grande conteúdo de água e matriz orgânica. O mercado odontológico apresenta uma série de produtos que promovem a adesão. Existem sistemas multiuso, nos quais o ácido é utilizado para condicionamento de esmalte e dentina e então são aplicados um primer e uma resina fluida e sistemas únicos, nos quais estes últimos são combinados em um único frasco. Para ambos os sistemas, qualquer contaminação da dentina antes ou após a utilização de primer e resina fluida pode ter um impacto negativo na qualidade final da restauração, integridade marginal e resistência ao deslocamento (von FRAUNHOFER et al., 2004).

Roberts, Karpay e Mills (2000) verificaram o efeito do tratamento contínuo das linhas d'água com quatro substâncias antimicrobianas na força de adesão de uma resina composta. Amostras de água adicionadas de Listerine, hipoclorito de sódio, clorexidina e

ácido cítrico foram utilizadas para a lavagem da dentina durante os procedimentos operatórios e em todos os casos houve redução significativa da força de adesão.

O ICX foi testado por von Fraunhofer et al., em 2004, para se verificar sua interferência na força de adesão de dois sistemas adesivos de frasco único, Prime e Bond NT (Dentsply Caulk, Milford, DE, EUA) e OptiBond SoloTM Plus (Kerr-SDS, Orange, Califórnia, EUA). Cinquenta dentes humanos, extraídos por razões ortodônticas ou periodontais e continuamente armazenados em água foram utilizados no trabalho. Os dentes tiveram a dentina exposta por desgaste, condicionada com ácido fosfórico a 37% por quinze segundos e então passaram por um dos cinco tratamentos: 1-enxágüe por trinta segundos com água, aplicação de Prime e Bond NT por vinte segundos, remoção de excesso com ar e fotopolimerização por trinta segundos; 2-enxágüe por trinta segundos com solução de ICX, seguido do mesmo protocolo de aplicação de Prime e Bond NT realizado no tratamento 1; 3-controle negativo: enxágüe por trinta segundos com solução contendo 0,01% de óleo mineral, seguido do mesmo protocolo de aplicação de Prime e Bond NT realizado nos tratamento 1 e 2; 4-enxágüe por trinta segundos com água, aplicação de OptiBond SoloTM Plus por vinte segundos, remoção de excesso com ar e fotopolimerização por trinta segundos; 5-enxágüe por trinta segundos com solução de ICX, seguido do mesmo protocolo de aplicação de OptiBond SoloTM Plus realizado no tratamento 4. Sobre as superfícies dentinárias condicionadas foi aplicada resina Prisma[®] TPH[®] (Dentsply Caulk, Milford, DE, EUA) formando um cilindro de 4mm de altura e todos os corpos de prova foram levados à máquina de testes universal para a determinação da resistência ao cisalhamento. Não houve diferenças estatisticamente significantes entre o uso de água ou solução de ICX para ambos os sistemas adesivos, enquanto que o grupo controle negativo apresentou resistência mínima. Como o ICX não contém qualquer tipo de óleo ou outra substância não polar, a exposição de dentina à solução não poderia determinar a deposição de substâncias impermeabilizantes ou hidrofóbicas na superfície dentinária. Na verdade, há sugestão de que pelo menos para o OptiBond SoloTM Plus, o uso de ICX poderia beneficiar a adesão porque a ação oxidante do percarbonato, combinada com os surfactantes catiônicos promoveria uma melhor penetração do adesivo nos túbulos dentinários pela diminuição da tensão superficial, enquanto que o nitrato de prata teria efeito bacteriostático e aumentaria a reatividade superficial da dentina. Segundo os autores, estas suposições deveriam ser confirmadas por testes de infiltração marginal.

Sherman et al. (1997) compararam a presença de metais na água de equipamentos tratados com hipoclorito de sódio a 500 e 5000ppm por seis meses a seis anos, com equipamentos sem tratamento por meio de espectroscopia de emissão de plasma. Os resultados, de acordo com os autores, permitiram concluir que o tratamento produziu menor corrosão do que a utilização de água da rede de abastecimento municipal.

Montebugnoli e Dolci (2000) utilizaram, na Itália, um sistema automático de desinfecção de mangueiras de equipamentos odontológicos. O sistema realiza ciclos de 7,5 e 12,5 minutos em que há a alternância de drenagem de glutaraldeído a 2%, com estagnação do agente nas linhas, por períodos de tempo pré-programados, seguidos de um ciclo de enxágüe de sessenta segundos com água esterilizada. Após quatro ciclos de desinfecção avaliaram a presença dos metais Fe, Zn, Cu, Cr, Ni, dissolvidos na água dos equipamentos e que poderiam ser resultantes da ação do desinfetante nos componentes do equipamento. Utilizando espectroscopia de absorção atômica, verificaram que a concentração de metais estava dentro dos limites estabelecidos pela European Union (1998), o que sugeriu que o desinfetante não causou efeitos deletérios significativos aos equipamentos odontológicos. Por meio de HPLC (high pressure liquid chromatography) investigaram a presença de resíduos do biocida utilizado e detectaram que sua concentração era mais de mil vezes inferior ao tolerado no país.

Com base nos artigos levantados, soluções para a redução da contaminação da água e eliminação do biofilme das mangueiras do equipamento precisam ser desenvolvidas e pesquisadas com vistas a garantir a biossegurança de profissionais e pacientes, levando-se em consideração todas as implicações que a sanitização pode ocasionar.

3. PROPOSIÇÃO

O objetivo deste trabalho é testar três substâncias químicas, detergente de mamona (CHIÉRICE, 1994), Amonex T.A. (Ourofino, Ribeirão Preto, S.P., Brasil) e Ster-4-spray (Farmec, Bolonha, Itália) para a desinfecção de linhas d'água de equipos odontológicos verificando :

- redução do número de ufc/mL;
- efeito no biofilme da mangueira de água;
- presença de resíduos na água efluente;
- presença de elementos inorgânicos na água;
- a dinâmica da recontaminação e recolonização.

4. MATERIAL E MÉTODO

4.1. EQUIPOS-TESTE

O trabalho foi desenvolvido na Clínica do Centro de Formação de Recursos Humanos Especializados no Atendimento Odontológico de Pacientes Especiais da Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo, em doze equipos odontológicos, marca Dabi Atlante, modelo Cartflex SX, com seis anos de instalação, dotados de reservatórios de água independentes (garrafas de plástico tipo PET-polietileno tereftalato), com capacidade para 500,0mL. Os equipos eram submetidos à desinfecção mensal com hipoclorito de sódio na diluição 1:10 (aproximadamente 5.000ppm) e abastecidos com água de torneira proveniente do poço da USP, acrescida de uma gota de hipoclorito de sódio comercial para cada 750,0mL de água, resultando numa solução de aproximadamente 3ppm, protocolo que foi interrompido durante a realização deste estudo.

4.2. MEIOS DE CULTURA

Utilizou-se um sistema de meios de cultura prontos, produzido pela 3M (St. Paul, MN, EUA), o sistema Petrifilm™, em três versões: Petrifilm™ AC, para contagem de microrganismos aeróbios; Petrifilm™ YM, para fungos e leveduras, e Petrifilm™ HSCC, de alta sensibilidade para a contagem de coliformes.

As placas Petrifilm™ consistem de um cartão de papel quadriculado (filme inferior), onde estão o meio de cultura desidratado e um agente gelificante solúvel em água fria, protegido por um filme plástico superior, que além de ser revestido internamente pelo mesmo gel contém um corante indicador (SANT'ANA; CONCEIÇÃO; AZEREDO, 2002).

No Petrifilm™ AC o meio de cultura contém os nutrientes do ágar padrão de contagem e o corante indicador do potencial de óxido-redução presente é o cloreto de trifeniltetrazólio (TTC). O TTC oxidado é incolor e quando reduzido por microrganismos origina formazana, de cor vermelha, que fica acumulada em grânulos nas células, facilitando a enumeração de colônias (BELOTI et al., 1999). As placas YM apresentam meio de cultura com nutrientes suplementados com antibióticos e um indicador de fosfatase para facilitar a contagem de bolores e leveduras. E o Petrifilm™ HSCC contém nutrientes de meio bile vermelho-violeta (VRB) modificado e TTC como indicador.

4.3. SUBSTÂNCIAS-TESTE

A) Detergente de mamona (CHIÉRICE, 1994)

O detergente de mamona é um produto natural derivado da mamona (*Ricinus communis*), vegetal de clima tropical, muito comum no Brasil e que apresenta um grande potencial oleoquímico. Este detergente foi desenvolvido no Instituto de Química de São Carlos (USP) pelo Prof. Dr. Gilberto Chiérice e mostrou atividade antibacteriana *in vivo*, inclusive na desagregação do biofilme (FERREIRA et al., 1999).

B- Amonex T.A.

O Amonex T.A. (Ourofino, Ribeirão Preto, S.P., Brasil) é um desinfetante à base de cloreto de benzalcônio, com característica anfotérica polar e apolar, capaz de formar emulsões entre substâncias de cargas positivas e negativas. Segundo o fabricante, por ser um agente catiônico de atividade em superfície, é capaz de desintegrar o biofilme e apresenta ação germicida contra microrganismos como: *E. coli*, *Pseudomonas* spp, *Klebsiella* spp, *Staphylococcus* spp, permitindo uma desinfecção completa e profunda (MODESTO, 2000).

C- Ster-4-spray

É um desinfetante em pó à base de perborato de sódio e TAED (tetra-acetil-etilenodiamina), que em solução aquosa gera ácido peracético em concentração de 0,26% e pH-8. É ativo em baixas concentrações, mesmo na presença de material orgânico e apresenta em sua formulação inibidores de corrosão. O componente ativo é completamente biodegradável e se decompõe em ácido acético, oxigênio e água.

4.4. AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

Determinação do número de ufc/mL inicial (*Baseline*)

No início de um dia de trabalho, foram coletados, em tubos de ensaio tamponados e esterilizados de 18x180mm, cerca de 15,0mL de água das duas torneiras utilizadas para o abastecimento dos equipos e das seringas tríplices e das linhas d' água de alta rotação, sem as canetas, dos doze equipos odontológicos teste. As amostras foram armazenadas em contêiner térmico com gelo, levadas ao laboratório de Microbiologia da Faculdade de

Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto-USP e processadas em tempo inferior a duas horas. Em câmara de fluxo laminar, as amostras foram adicionadas de 50µL de tiosulfato de sódio a 2,0%, para neutralização de cloro residual, uma vez que a água utilizada para abastecimento dos equipamentos é clorada, homogêneas com auxílio de um agitador, submetidas à diluição decimal até 10^{-5} e semeadas nas placas Petrifilm™ devidamente codificadas. O filme superior do Petrifilm™ foi suspenso e, com pipeta automática e ponteiros esterilizados, a água foi depositada no centro do filme inferior. Para o Petrifilm™ AC e YM foram depositados 1,0mL de água. O filme superior foi deixado cair sobre a amostra inoculada, com cuidado, para se evitar o aprisionamento de ar e o difusor de plástico, presente no kit, pressionado delicadamente no centro da placa. Após cerca de dez segundos, o difusor foi removido e o Petrifilm™ mantido em repouso por um minuto para a solidificação do gel. As placas foram colocadas na posição horizontal, em pilhas de até vinte unidades, em contêiner do tipo *tupperware*. No contêiner das placas AC foram colocados chumaços de algodão embebidos em água para se evitar o ressecamento (câmara úmida) e incubado em estufa bacteriológica a 35°C por 48 horas. As placas YM foram incubadas a 25°C por cinco dias, em estufa BOD (Fanem, São Paulo, S.P., Brasil). O Petrifilm™ HSCC foi inoculado com alíquotas de 5,0mL de água, de acordo com as instruções do fabricante e após o pressionamento do difusor, mantido em repouso por período de dois a cinco minutos. Colocado em câmara úmida em pilhas de não mais de dez placas, procedeu-se à incubação por 24 horas a 32°C.

Após cada período de incubação, foi realizada a contagem das unidades formadoras de colônias nas diluições com o auxílio de estereomicroscópio sob luz refletida e calculado o número de ufc/mL de cada amostra.

Tratamento

No final do dia de trabalho, foi implantado um protocolo intermitente de desinfecção, realizado uma vez por mês, por um período de dois meses (oito semanas). Os doze equipamentos-teste foram aleatoriamente divididos em quatro grupos:

- Grupo detergente de mamona

Foi realizado o esvaziamento das garrafas PET dos três equipamentos deste grupo e a água remanescente nas linhas drenada pelo acionamento da seringa triplice e linha d'água do alta

rotação. Após o preenchimento dos reservatórios com detergente de mamona as seringas tríplice e linhas de alta rotação foram acionadas de modo que o agente fluísse pelas mangueiras, preenchendo-as. Após catorze horas de contato, o desinfetante estagnado nas linhas foi purgado. Os reservatórios foram preenchidos com água de torneira e realizada a drenagem de 500,0mL de água na linha da seringa tríplice e 500,0mL na linha do alta rotação para a remoção de resíduos de detergente.

- Grupo Amonex T.A.

Da mesma forma que para o Grupo 1, toda a água dos equipos deste grupo, foi drenada pelo acionamento da seringa tríplice e linha d'água do alta rotação. Os reservatórios de água foram abastecidos com Amonex T.A., diluído na proporção de 1,0mL de desinfetante para 500,0mL de água e preenchidas com o desinfetante. Após catorze horas o agente foi purgado. Com os reservatórios abastecidos de água de torneira, 500,0mL foram drenados na linha da seringa tríplice e 500,0mL na linha do alta rotação para a remoção de resíduos do desinfetante.

- Grupo Ster-4-spray

Após o esvaziamento das linhas de água como nos outros grupos, o desinfetante foi preparado pela diluição de 10,0g do produto em 500,0mL de água morna (35°C), seguida de agitação. Após tempo de espera de cinco minutos, até a solução ficar límpida, as garrafas PET foram conectadas aos equipos e o desinfetante circulado nas mangueiras, permanecendo por catorze horas. No dia seguinte, foi realizada a drenagem do desinfetante, seguida da drenagem de 500,0mL de água de torneira para cada linha.

- Grupo controle

Como o objetivo deste trabalho é avaliar o efeito das substâncias químicas na descontaminação da água, no grupo controle, foram realizados os mesmos procedimentos de drenagem realizados para o Grupo 1, 2 e 3, mas sem a adição de nenhum desinfetante. As mangueiras foram preenchidas com água de torneira por catorze horas e procedeu-se à drenagem de 500,0mL em cada linha.

Determinação do número de ufc/mL pós-tratamentos

Após as drenagens para remoção de resíduos, os reservatórios foram abastecidos com água de torneira e cerca de 15,0mL de água coletados em tubos de ensaio tamponados e esterilizados de 18x180mm para a quantificação do número de ufc/mL pós-tratamentos, seguindo a metodologia descrita para a determinação da contaminação inicial. A partir de então, os equipos tiveram o nível de contaminação monitorado uma vez por semana, com o objetivo de se observar a dinâmica da recontaminação. As avaliações foram realizadas até a 4ª semana após a 1ª desinfecção, quando os equipos foram submetidos à 2ª desinfecção e, então, novamente passaram pelo monitoramento semanal. O protocolo de avaliação pode ser resumido de acordo com o esquema abaixo:

Baseline- determinação da contagem de ufc/mL antes de qualquer tratamento.

↓

T₁- 1º tratamento dos equipos.

↓

PT₁- determinação de ufc/mL após o 1º tratamento.

↓

1S₁- determinação da contagem de ufc/mL uma semana após o 1º tratamento.

↓

2S₁- determinação da contagem de ufc/mL duas semanas após o 1º tratamento.

↓

3S₁- determinação da contagem de ufc/mL três semanas após o 1º tratamento.

↓

4S₁- determinação da contagem de ufc/mL quatro semanas após o 1º tratamento.

↓

T₂- 2º tratamento dos equipos.

↓

PT₂- determinação de ufc/mL pós-tratamento.

↓

1S₂- determinação da contagem de ufc/mL uma semana após o 2º tratamento.

↓

2S₂- determinação da contagem de ufc/mL duas semanas após o 2º tratamento.

↓

3S₂- determinação da contagem de ufc/mL três semanas após o 2º tratamento.

↓

4S₂- determinação da contagem de ufc/mL quatro semanas após o 2º tratamento.

Durante a realização do estudo os equipamentos foram utilizados normalmente para o atendimento de pacientes e tiveram seus reservatórios abastecidos com água de torneira pelos funcionários da clínica, quando necessário, como de costume.

4.5. AVALIAÇÃO DO EFEITO DA DESINFECÇÃO NO BIOFILME POR MEV

Para a avaliação do efeito dos desinfetantes utilizados no biofilme aderido às paredes das mangueiras, amostras das linhas de água da seringa tríplice e alta rotação de um equipo de cada grupo foram examinadas em microscópio eletrônico de varredura (MEV).

Foram cortados três fragmentos de cerca de 1cm de cada mangueira, sendo o 1º antes de qualquer tratamento, o 2º logo após a 1ª desinfecção e o último, na 4ª semana após a 1ª desinfecção e preparados pelo método descrito por Santos (1992). As amostras foram cortadas assepticamente com lâmina de bisturi nova ao meio, para exposição da face interna e introduzidas em tubos de ensaio de 12x125mm contendo glutaraldeído a 3,0%, em tampão cacodilato de sódio a 0,1M e pH 7,4, para fixação. A partir da 1ª coleta, os tubos foram armazenados em geladeira até a obtenção dos últimos fragmentos. Após a fixação, por no mínimo doze horas, as amostras foram assepticamente cortadas ao meio, para a exposição da face interna das mangueiras e desidratadas em série de álcoois a 15, 30, 50, 70, 95 e 100%, durante quinze minutos para cada concentração. Uma vez desidratados, os fragmentos foram transferidos para tubos Eppendorf perfurados, centrifugados a baixa velocidade por vinte minutos, em temperatura de 40°C para secagem e armazenados em contêiner com sílica, a fim de se evitar a incorporação de água.

As amostras foram levadas ao Instituto de Química da UNESP em Araraquara, onde a microscopia eletrônica de varredura foi realizada. Após secagem em secador de ponto crítico utilizando CO₂, procedeu-se à metalização da superfície interna das mangueiras com ouro (20KV, 15mAp, dois minutos), no aparelho Denton Vacuum DeskII, para torná-las condutoras, os fragmentos foram montados em suporte, analisados no microscópio eletrônico de varredura JEOL, modelo JSM-T330A e fotografados.

4.6. AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE RESÍDUOS DOS DESINFETANTES NA ÁGUA

Foram coletadas amostras de água (cerca de 5,0mL) das seringas tríplex e linhas de alta rotação de todos os equipos antes do tratamento e após o enxágue de cada linha com 500,0mL de água que se seguiu à 1ª desinfecção. Água de torneira utilizada para abastecer os equipos serviu como controle negativo e alíquotas dos desinfetantes em diluições que variaram de 0,001 a 10,0% foram utilizadas como controles positivos.

As amostras foram analisadas utilizando espectroscopia de absorção de luz ultravioleta/visível (varredura $\lambda=200$ a 800nm) em espectrofotômetro U-3501 (Hitachi, Tóquio, Japão) no Laboratório de Química Inorgânica, Geral e Analítica da FCFRP-USP.

4.7. AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE ELEMENTOS INORGÂNICOS NA ÁGUA

Determinou-se a presença de elementos inorgânicos de número atômico (Z) maior que 14 na água efluente dos equipos em função da exposição aos desinfetantes. Foram coletadas amostras de 10,0mL de água em tubos com tampa de borracha antes, após a 1ª desinfecção e depois de uma semana, assim como amostras das substâncias-teste em concentrações de uso e amostras de água da torneira utilizada no abastecimento dos equipos. A caracterização dos elementos inorgânicos emissores de raios X-K e L foi realizada por fluorescência de raios X por reflexão total com excitação por luz síncrotron (SRTXRF), no Laboratório Nacional de Luz Síncrotron (LNLS), Campinas, São Paulo, linha XRF (PÉREZ et al., 1999), procedendo à análise qualitativa para $Z>14$ e quantitativa para $14\leq Z\leq 42$. Todas as amostras foram analisadas em quadruplicata e utilizou-se o elemento gálio como padrão interno (SALVADOR et al., 2003).

4.8. ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística dos resultados foi realizada com o programa GMC versão 2002 (MAIA CAMPOS, 2002).

Para a comparação do número de ufc/mL antes e após as desinfecções foi empregado o teste não-paramétrico de Wilcoxon para o grupo detergente de mamona e o teste de sinais

para os grupos controle, Amonex T.A. e Ster-4-spray (SIEGEL, 1975). Para a comparação da porcentagem de redução da contaminação entre todos os grupos foi utilizado o teste não-paramétrico de Kruskal-Wallis (SIEGEL, 1975). O nível de significância adotado para todos os testes foi de 5%.

5. RESULTADOS

5.1. AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

As amostras de água coletadas das torneiras da clínica apresentaram contaminação nunca superior a 3ufc/mL durante todo o curso do experimento (tabela 1) e não foram detectados fungos, nem coliformes.

Tabela 1- Número de ufc/mL de bactérias aeróbias presentes na água de torneiras da Clínica de Pacientes Especiais da FORP-USP.

	B	PT ₁	1S ₁	2S ₁	3S ₁	4S ₁	PT ₂	1S ₂	2S ₂	3S ₂	4S ₂
Torneira 1	2	3	0	1	0	2	1	2	0	1	0
Torneira 2	1	3	1	0	1	1	0	2	1	0	0

B, *baseline*; PT₁: após a 1ª desinfecção; 1S₁, 1 semana após a 1ª desinfecção; 2S₁, 2 semanas após a 1ª desinfecção; 3S₁, 3 semanas após a 1ª desinfecção; 4S₁, 4 semanas após a 1ª desinfecção; PT₂, após a 2ª desinfecção; 1S₂, 1 semana após a 2ª desinfecção; 2S₂, 2 semanas após a 2ª desinfecção; 3S₂, 3 semanas após a 2ª desinfecção; 4S₂, 4 semanas após a 2ª desinfecção.

Nos equipos odontológicos em nenhuma das amostras coletadas foram detectados microrganismos do grupo coliforme.

Os valores de contaminação obtidos, tanto para microrganismos aeróbios, quanto para fungos e leveduras foram tabulados (Apêndice A) e as médias dos logaritmos em base 10 do número de ufc/mL dos grupos foram calculadas para as diversas fases do trabalho (tabelas 2 a 9). Para melhor visualização dos resultados os dados das tabelas foram também expressos em gráficos (figuras 1 a 8).

A contaminação inicial (*baseline*) foi maior do que o recomendado pela ADA em todos os equipos odontológicos, atingindo o nível de $3,94 \times 10^7$ ufc/mL.

No grupo controle (tabela 2, figura 1), houve redução estatisticamente significativa da contaminação inicial ($p < 0,05$), reduzida a zero tanto para seringa tríplice, quanto para a linha do alta rotação após a drenagem. O tempo decorrido para a drenagem de 500,0mL de água nestes equipos foi registrado e apresentou média de oito minutos para a seringa tríplice e quatro minutos para o alta rotação. Mas, na coleta da 3ª semana, níveis inaceitáveis voltaram a ser detectados. A 2ª drenagem foi capaz de reduzir a contagem de

microrganismos aeróbios a zero, mas na 2ª semana após a 2ª desinfecção a água da seringa tríplice já apresentava contaminação superior a 200ufc/mL. O número de ufc/mL para a água das seringas, na 4ª semana, chegou a $4,17 \times 10^3$ ufc/mL em média e a $5,37 \times 10^3$ ufc/mL para as linhas de alta rotação.

Tabela 2 - Média dos log de ufc/mL de bactérias aeróbias da água de seringas tríplices e linhas de alta rotação do grupo controle.

	B	PT ₁	1S ₁	2S ₁	3S ₁	4S ₁	PT ₂	1S ₂	2S ₂	3S ₂	4S ₂
Seringa tríplice	4,46	0	0,53	1,87	4,31	4,44	0	1,59	2,47	3,04	3,62
Alta rotação	2,84	0	0	2,33	3,81	5,05	0	0,70	1,78	3,32	3,73

B, *baseline*; PT₁, após a 1ª desinfecção; 1S₁, 1 semana após a 1ª desinfecção; 2S₁, 2 semanas após a 1ª desinfecção; 3S₁, 3 semanas após a 1ª desinfecção; 4S₁, 4 semanas após a 1ª desinfecção; PT₂, após a 2ª desinfecção; 1S₂, 1 semana após a 2ª desinfecção; 2S₂, 2 semanas após a 2ª desinfecção; 3S₂, 3 semanas após a 2ª desinfecção; 4S₂, 4 semanas após a 2ª desinfecção.

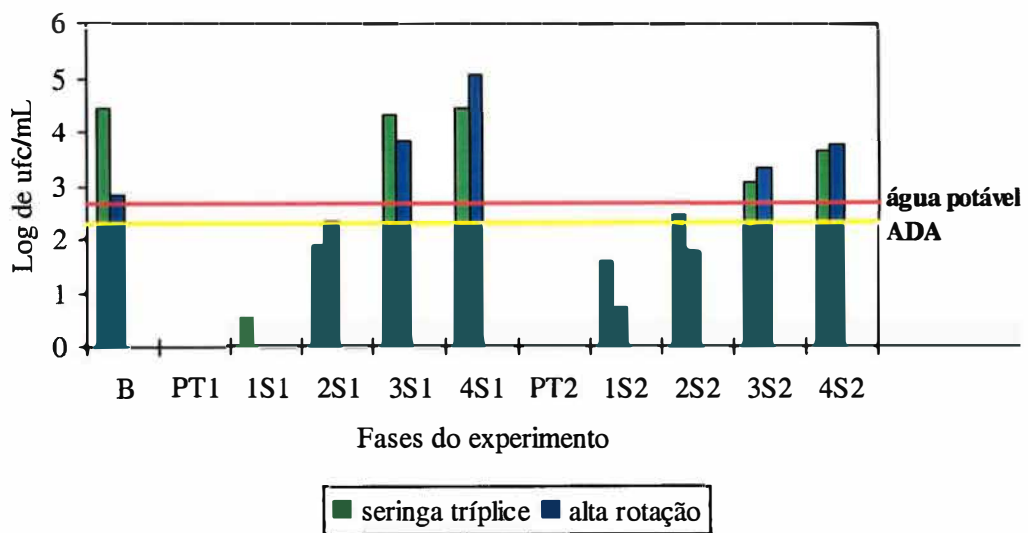


Figura 1. Média dos log de ufc/mL de bactérias aeróbias da água de seringas tríplices e linhas de alta rotação do grupo controle.

No grupo detergente de mamona (tabela 3, figura 2), a contaminação inicial por bactérias aeróbias sofreu uma redução estatisticamente não significativa ($p>0,05$), após a 1ª desinfecção, de apenas 2,89% nas seringas tríplexes e 4,85% nas linhas de alta rotação resultando num número de ufc/mL que continuou a exceder o padrão da ADA e da potabilidade da água. A contaminação foi crescente nas 2ª, 3ª e 4ª semanas, só sendo reduzida a níveis aceitáveis após a 2ª desinfecção. Mas, na 1ª semana após a 2ª desinfecção embora os valores de ufc/mL para as seringas tríplexes tenham se apresentado dentro dos limites, para o alta rotação atingiram o valor máximo permitido para a contaminação da água de consumo humano. Na 4ª semana ambas as linhas apresentaram contaminação maior que o dobro em log do que o recomendado pela ADA.

Tabela 3- Média dos log de ufc/mL de bactérias aeróbias da água de seringas tríplexes e linhas de alta rotação do grupo detergente de mamona.

	B	PT ₁	1S ₁	2S ₁	3S ₁	4S ₁	PT ₂	1S ₂	2S ₂	3S ₂	4S ₂
Seringa tríplex	3,80	3,69	3,86	4,96	6,15	7,52	0,88	2,21	2,03	3,89	5,11
Alta rotação	3,09	2,94	3,48	4,54	4,90	6,10	1,33	2,69	3,78	4,62	4,92

B, *baseline*; PT₁, após a 1ª desinfecção; 1S₁, 1 semana após a 1ª desinfecção; 2S₁, 2 semanas após a 1ª desinfecção; 3S₁, 3 semanas após a 1ª desinfecção; 4S₁, 4 semanas após a 1ª desinfecção; PT₂, após a 2ª desinfecção; 1S₂, 1 semana após a 2ª desinfecção; 2S₂, 2 semanas após a 2ª desinfecção; 3S₂, 3 semanas após a 2ª desinfecção; 4S₂, 4 semanas após a 2ª desinfecção.

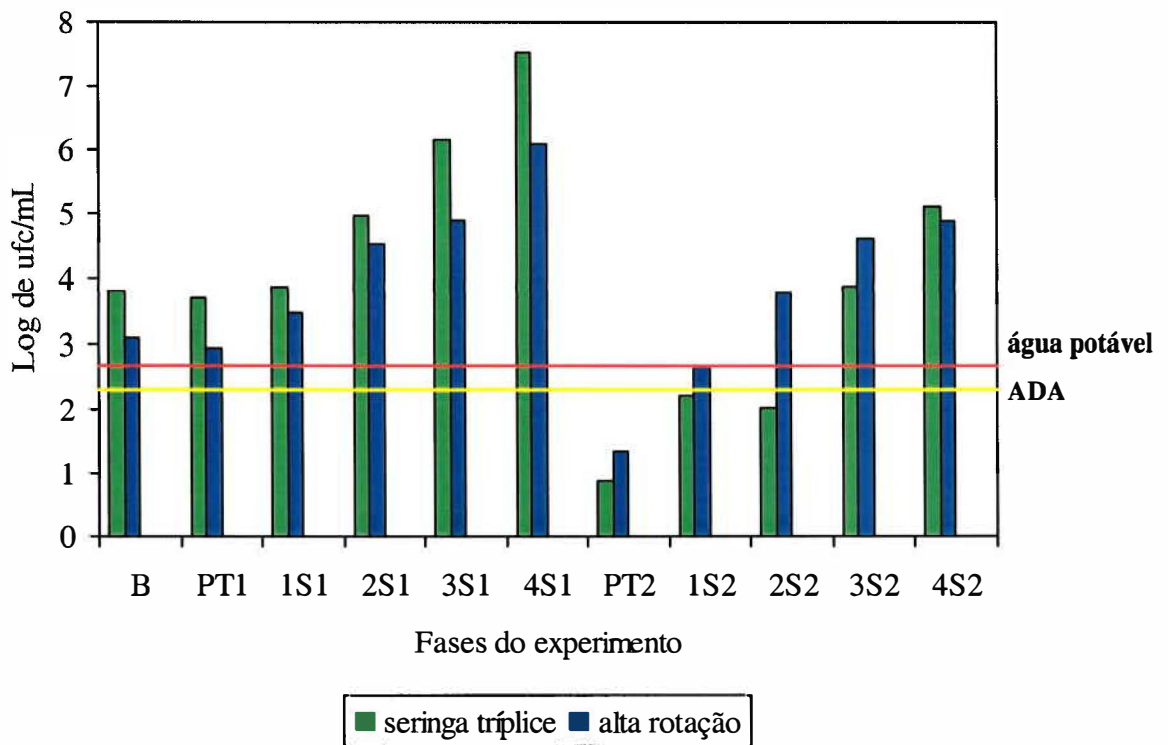


Figura 2. Média dos log de ufc/mL de bactérias aeróbias da água de seringas tríplices e linhas de alta rotação do grupo detergente de mamona.

No grupo Amonex T.A. (tabela 4, figura 3), a contagem de microrganismos, reduzida a zero, após o 1º tratamento permaneceu abaixo dos limites até a 2ª semana após a desinfecção. Após a 2ª desinfecção os níveis de contaminação retornaram a zero e permaneceram abaixo dos 200ufc/mL até a 2ª semana. Na 3ª semana a carga microbiana na água das seringas apresentava-se próxima do limite descrito pela ADA e acima de 500ufc/mL na água que supria as canetas de alta rotação.

Tabela 4- Média dos log de ufc/mL de bactérias aeróbias da água de seringas tríplex e linhas de alta rotação do grupo Amonex T.A.

	B	PT ₁	1S ₁	2S ₁	3S ₁	4S ₁	PT ₂	1S ₂	2S ₂	3S ₂	4S ₂
Seringa tríplex	3,03	0	0	1,52	3,97	4,65	0	0,10	1,20	2,26	2,91
Alta rotação	5,70	0	0	1,60	4,33	5,26	0	0	0,20	2,80	3,70

B, *baseline*; PT₁, após a 1ª desinfecção; 1S₁, 1 semana após a 1ª desinfecção; 2S₁, 2 semanas após a 1ª desinfecção; 3S₁, 3 semanas após a 1ª desinfecção; 4S₁, 4 semanas após a 1ª desinfecção; PT₂, após a 2ª desinfecção; 1S₂, 1 semana após a 2ª desinfecção; 2S₂, 2 semanas após a 2ª desinfecção; 3S₂, 3 semanas após a 2ª desinfecção; 4S₂, 4 semanas após a 2ª desinfecção.

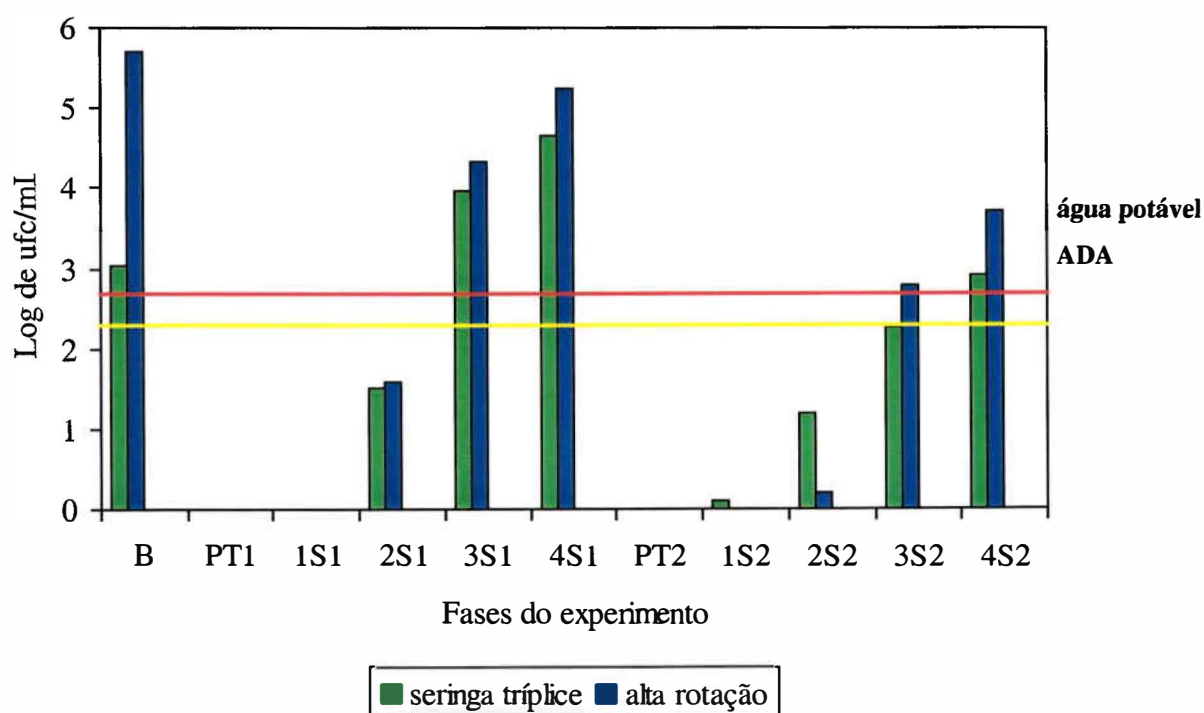


Figura 3. Média dos log de ufc/mL de bactérias aeróbias da água de seringas tríplex e linhas de alta rotação do grupo Amonex T.A.

No grupo Ster-4-spray (tabela 5, figura 4) o número de microrganismos foi reduzido a valores abaixo de 200ufc/mL, uma redução estatisticamente significativa ($p < 0,05$), mas a contaminação não zerou. A porcentagem de redução de log foi de 96,55% para as seringas e 88,85% para as linhas de alta rotação. Na 4ª semana a contaminação em ambas as linhas

apresentou níveis inaceitáveis. Após a 2ª desinfecção não foram detectados microrganismos na água e a boa qualidade foi mantida na semana seguinte. Na 2ª semana ambas as linhas apresentaram mais de 200ufc/mL, mas somente a seringas extrapolaram os limites para a água potável.

Tabela 5- Média dos log de ufc/mL de bactérias aeróbias da água de seringas tríplex e linhas de alta rotação do grupo Ster-4-spray.

	B	PT ₁	1S ₁	2S ₁	3S ₁	4S ₁	PT ₂	1S ₂	2S ₂	3S ₂	4S ₂
Seringa tríplex	2,96	0,10	0	0	0,17	2,81	0	0,38	2,75	4,66	6,31
Alta rotação	2,87	0,32	0	0	2,35	3,34	0	0,84	2,51	4,39	6,38

B, *baseline*; PT₁, após a 1ª desinfecção; 1S₁, 1 semana após a 1ª desinfecção; 2S₁, 2 semanas após a 1ª desinfecção; 3S₁, 3 semanas após a 1ª desinfecção; 4S₁, 4 semanas após a 1ª desinfecção; PT₂, após a 2ª desinfecção; 1S₂, 1 semana após a 2ª desinfecção; 2S₂, 2 semanas após a 2ª desinfecção; 3S₂, 3 semanas após a 2ª desinfecção; 4S₂, 4 semanas após a 2ª desinfecção.

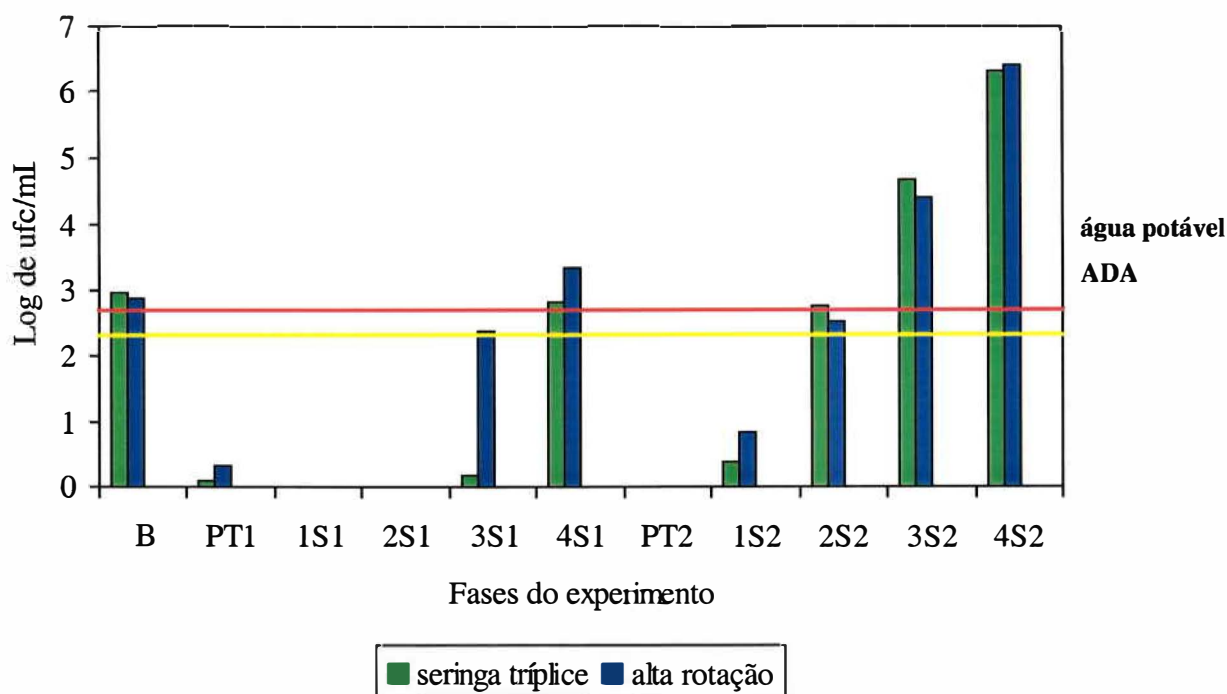


Figura 4. Média dos log de ufc/mL de bactérias aeróbias da água de seringas tríplex e linhas de alta rotação do grupo Ster-4-spray.

A comparação da porcentagem de redução da contaminação por microrganismos aeróbios na água de seringas tríplices, após a 1ª desinfecção, entre todos os grupos revelou diferenças estatisticamente significantes entre os grupos controle e detergente de mamona, detergente de mamona e Amonex T.A. e detergente de mamona e Ster-4-spray ($p < 0,05$). Não houve diferença estatística entre os grupos controle e Amonex T.A., controle e Ster-4-spray e Amonex T.A. e Ster-4-spray.

Para a água das linhas de alta rotação não houve diferença estatística na redução da contaminação entre os grupos controle e Amonex T.A.

A contaminação por fungos nos quatro grupos não apresentou um padrão definido principalmente nas semanas subsequentes às desinfecções, quando o número de ufc/mL aumentou em alguns grupos, diminuindo na semana seguinte e vice-versa e chegou a zerar em uma semana e voltar a ser detectado em outra (tabelas 6 a 9 e figuras 5 a 8). Foram detectados, no *baseline*, fungos e leveduras na água de todos os grupos menos nas seringas tríplices do grupo Ster-4-spray, que continuaram a não ser detectados após a 1ª desinfecção. Estes microrganismos não foram encontrados nos grupos controle e Amonex T.A., após o 1º tratamento, enquanto que no grupo detergente de mamona foi observado um aumento de 83,5% na média do log de ufc/mL para as seringas tríplices, embora tenha havido uma redução de 5,08% para o alta rotação.

O 2º tratamento das linhas foi capaz de reduzir a zero o número de fungos e leveduras em todos os grupos, menos no detergente de mamona.

Tabela 6- Média dos log de ufc/mL de fungos e leveduras da água de seringas tríplex e linhas de alta rotação do grupo controle.

	B	PT ₁	1S ₁	2S ₁	3S ₁	4S ₁	PT ₂	1S ₂	2S ₂	3S ₂	4S ₂
Seringa tríplex	0,77	0	0	0,32	1,06	0,20	0	0	0,67	0,78	0
Alta rotação	1,32	0	0	1,11	1,28	0	0	0,10	0,45	0,62	0,32

B, *baseline*; PT₁, após a 1ª desinfecção; 1S₁, 1 semana após a 1ª desinfecção; 2S₁, 2 semanas após a 1ª desinfecção; 3S₁, 3 semanas após a 1ª desinfecção; 4S₁, 4 semanas após a 1ª desinfecção; PT₂, após a 2ª desinfecção; 1S₂, 1 semana após a 2ª desinfecção; 2S₂, 2 semanas após a 2ª desinfecção; 3S₂, 3 semanas após a 2ª desinfecção; 4S₂, 4 semanas após a 2ª desinfecção.

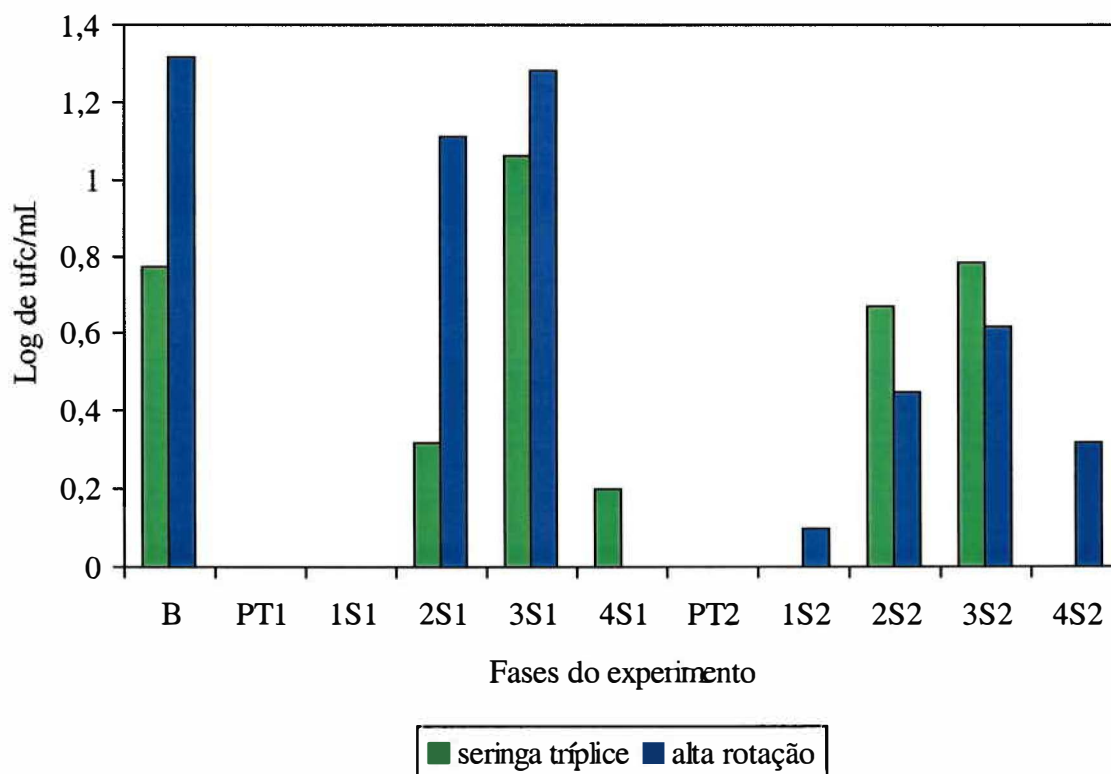


Figura 5. Média dos log de ufc/mL de fungos e leveduras da água de seringas tríplex e linhas de alta rotação do grupo controle.

Tabela 7- Média dos log de ufc/mL de fungos e leveduras da água de seringas tríplices e linhas de alta rotação do grupo detergente de mamona.

	B	PT ₁	1S ₁	2S ₁	3S ₁	4S ₁	PT ₂	1S ₂	2S ₂	3S ₂	4S ₂
Seringa tríplice	0,16	0,97	1,22	0,26	0,99	1,70	0,20	1,07	1,00	1,09	0,52
Alta rotação	0,59	0,56	0,66	0	1,07	1,72	0,30	1,65	1,93	1,94	1,41

B, *baseline*; PT₁, após a 1ª desinfecção; 1S₁, 1 semana após a 1ª desinfecção; 2S₁, 2 semanas após a 1ª desinfecção; 3S₁, 3 semanas após a 1ª desinfecção; 4S₁, 4 semanas após a 1ª desinfecção; PT₂, após a 2ª desinfecção; 1S₂, 1 semana após a 2ª desinfecção; 2S₂, 2 semanas após a 2ª desinfecção; 3S₂, 3 semanas após a 2ª desinfecção; 4S₂, 4 semanas após a 2ª desinfecção.

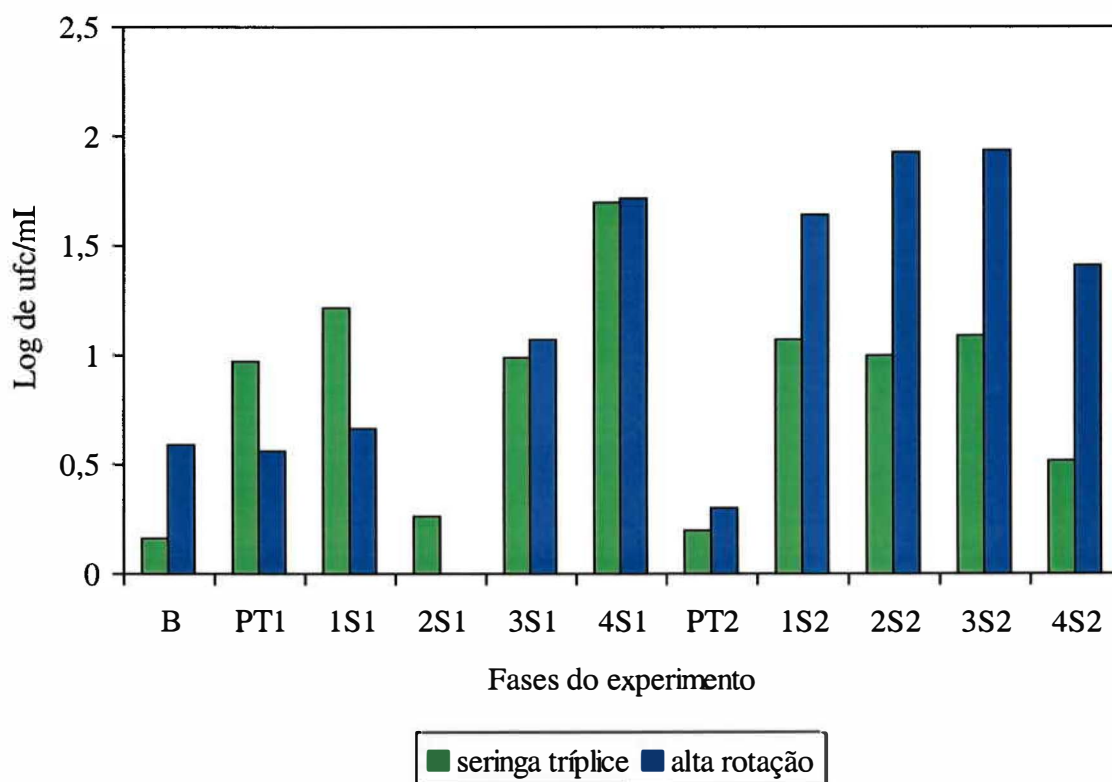


Figura 6. Média dos log de ufc/mL de fungos e leveduras da água de seringas tríplices e linhas de alta rotação do grupo detergente de mamona.

Tabela 8- Média dos log de ufc/mL de fungos e leveduras da água de seringas tríplices e linhas de alta rotação do grupo Amonex T.A.

	B	PT ₁	1S ₁	2S ₁	3S ₁	4S ₁	PT ₂	1S ₂	2S ₂	3S ₂	4S ₂
Seringa tríplice	0,69	0	0	0	1,41	0,26	0	0,20	0,26	0	0
Alta rotação	2,08	0	0	0	1,04	0,51	0	0,40	0,26	0	0,48

B, *baseline*; PT₁, após a 1^a desinfecção; 1S₁, 1 semana após a 1^a desinfecção; 2S₁, 2 semanas após a 1^a desinfecção; 3S₁, 3 semanas após a 1^a desinfecção; 4S₁, 4 semanas após a 1^a desinfecção; PT₂, após a 2^a desinfecção; 1S₂, 1 semana após a 2^a desinfecção; 2S₂, 2 semanas após a 2^a desinfecção; 3S₂, 3 semanas após a 2^a desinfecção; 4S₂, 4 semanas após a 2^a desinfecção.

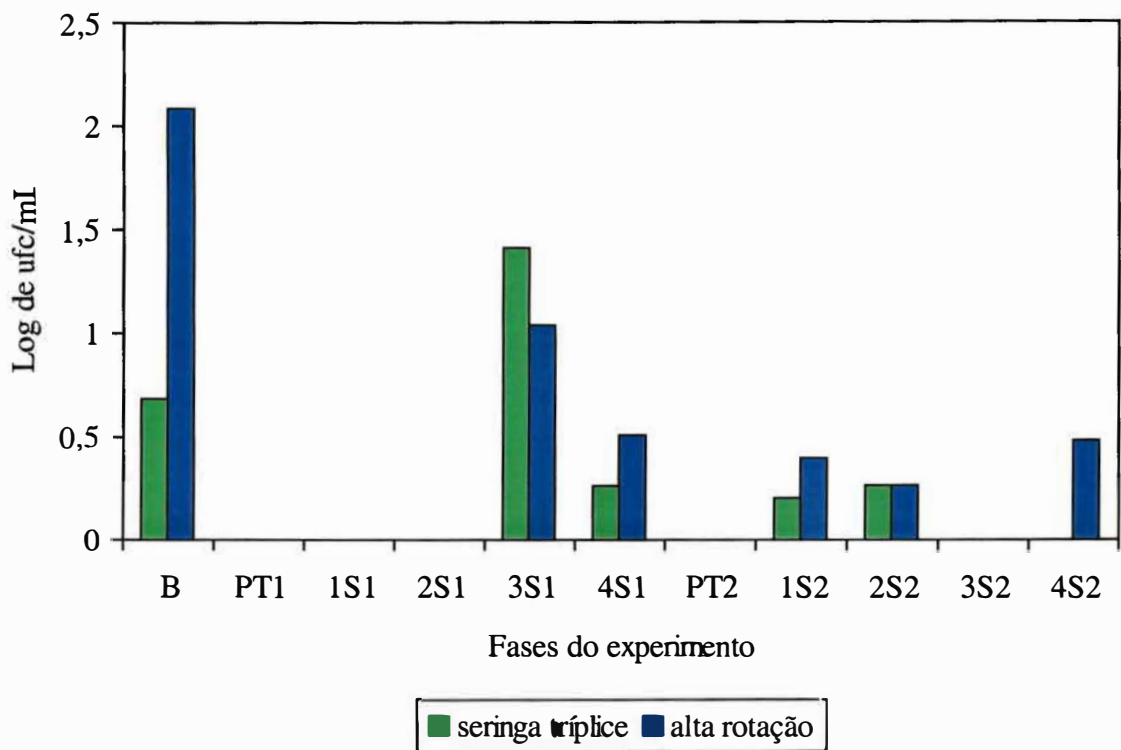


Figura 7. Média dos log de ufc/mL de fungos e leveduras da água de seringas tríplices e linhas de alta rotação do grupo Amonex T.A.

Tabela 9- Média dos log de ufc/mL de fungos e leveduras da água de seringas tríplex e linhas de alta rotação do grupo Ster-4-spray.

	B	PT ₁	1S ₁	2S ₁	3S ₁	4S ₁	PT ₂	1S ₂	2S ₂	3S ₂	4S ₂
Seringa tríplex	0	0	0	0,20	0,35	0,70	0	0	0	0,46	0,49
Alta rotação	0,33	0,26	0	0,75	1,32	1,37	0	0,16	1,16	2,56	3,20

B, *baseline*; PT₁, após a 1^a desinfecção; 1S₁, 1 semana após a 1^a desinfecção; 2S₁, 2 semanas após a 1^a desinfecção; 3S₁, 3 semanas após a 1^a desinfecção; 4S₁, 4 semanas após a 1^a desinfecção; PT₂, após a 2^a desinfecção; 1S₂, 1 semana após a 2^a desinfecção; 2S₂, 2 semanas após a 2^a desinfecção; 3S₂, 3 semanas após a 2^a desinfecção; 4S₂, 4 semanas após a 2^a desinfecção.

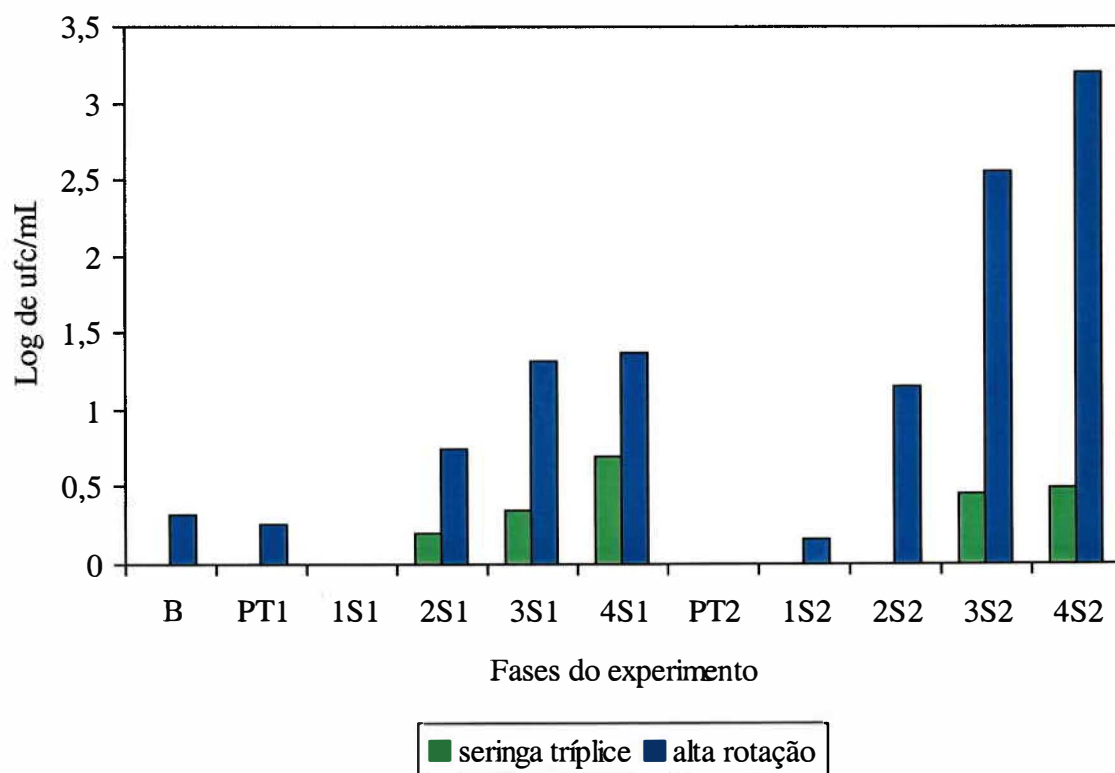


Figura 8. Média dos log de ufc/mL de fungos e leveduras da água de seringas tríplex e linhas de alta rotação do grupo Ster-4-spray.

As figuras 9 e 10 mostram a dinâmica da descontaminação e recontaminação da água dos equipamentos por microrganismos aeróbios.

De maneira geral, a análise dos resultados de todos os grupos para bactérias aeróbias na água de seringas, ao longo do experimento (figura 9) mostrou que a água do grupo detergente de mamona manteve-se acima do padrão de potabilidade nas cinco coletas após a 1ª desinfecção. Os grupos Amonex T.A. e controle apresentaram contaminação dentro do limite preconizado pela ADA até a 2ª semana após a 1ª desinfecção, e o Ster-4-spray até a 3ª semana. Após a 2ª desinfecção todos os grupos atingiram a meta da ADA, mas o Ster-4-spray exibiu um padrão de recontaminação mais acelerado do que após o 1º tratamento.

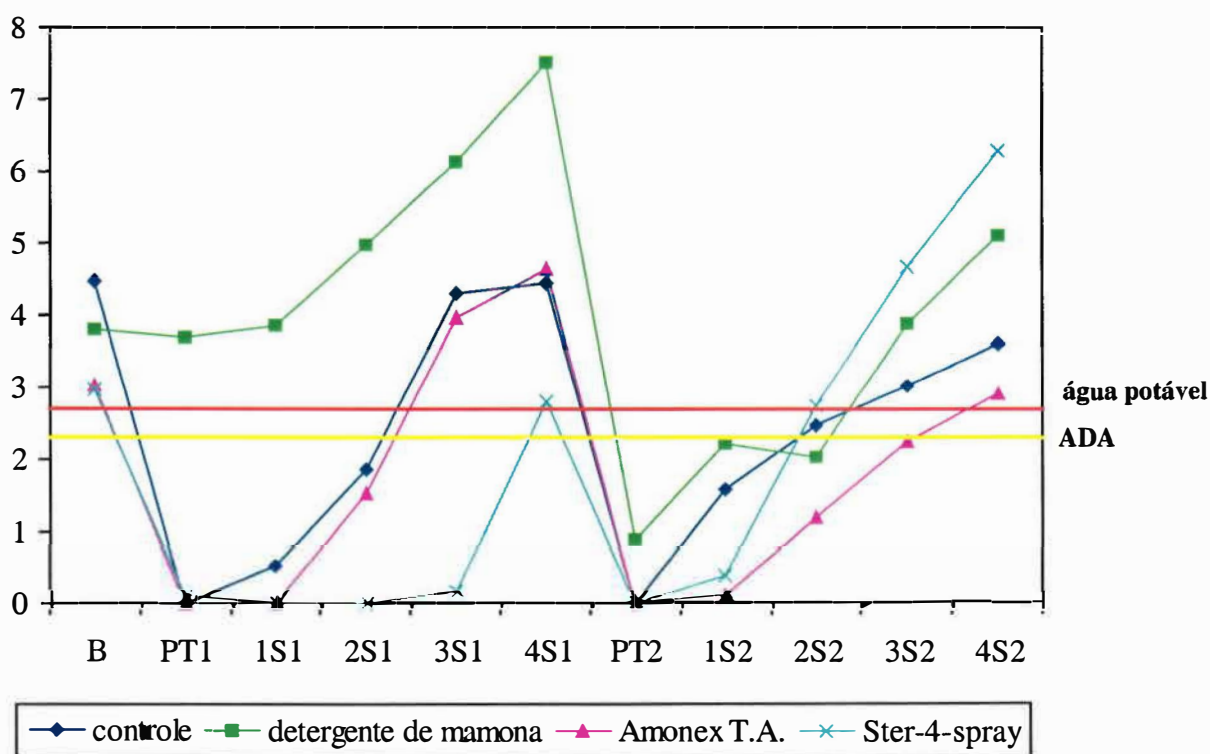


Figura 9. Médias dos log de ufc/mL de bactérias aeróbias presentes na água de seringas tríplices dos quatro grupos do experimento.

Na figura 10 a comparação dos log de ufc/mL nas linhas de água de alta rotação mostrou um padrão semelhante ao das seringas na 1ª etapa do experimento, com a diferença de que o grupo controle excedeu as 200ufc/mL na 2ª semana e o Ster-4-spray na 3ª. Da mesma forma o padrão de recontaminação do grupo Ster-4-spray foi mais acelerado do que após o 1º tratamento.

Ao final da 8ª semana do estudo, os grupos detergente de mamona e Ster-4-spray contabilizaram maior número de ufc/mL do que o determinado no *baseline* tanto para seringas tríplices, quanto para as linhas de alta rotação.

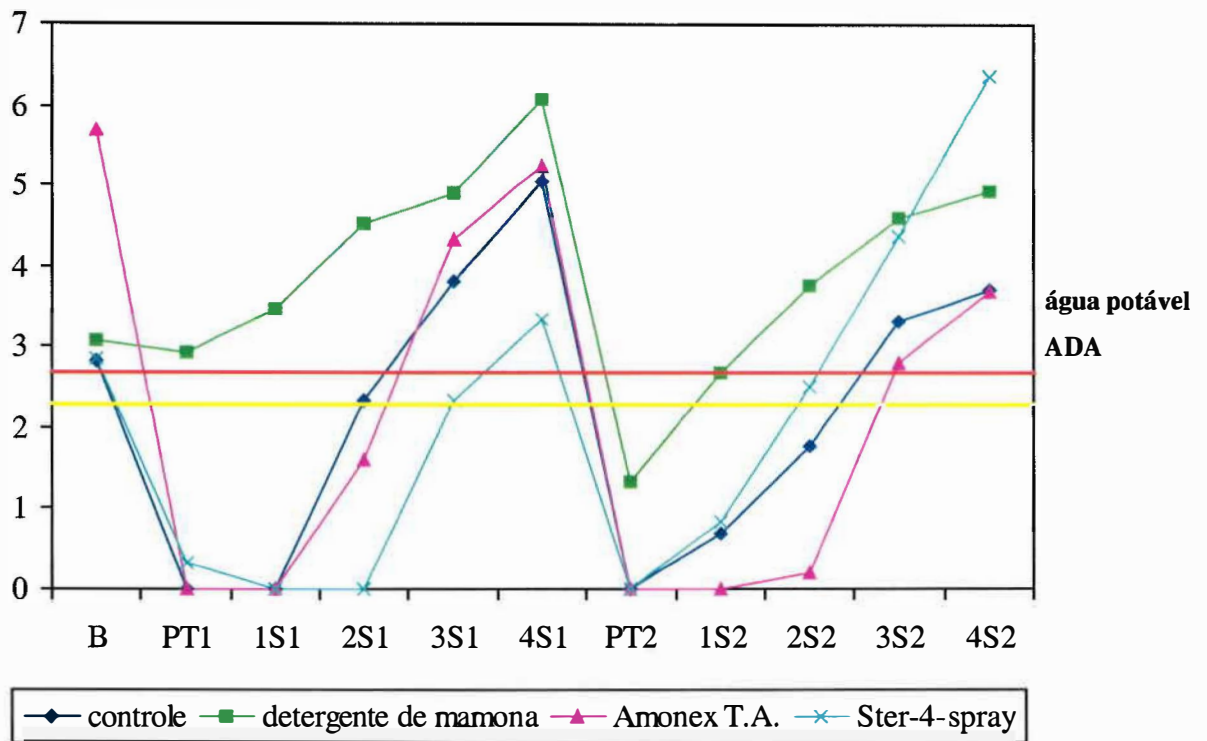


Figura 10. Médias dos log de ufc/mL de bactérias aeróbias presentes na água de linhas de alta rotação dos quatro grupos do experimento.

5.2. AVALIAÇÃO DO EFEITO DA DESINFECÇÃO NO BIOFILME POR MEV

O exame dos fragmentos de mangueiras ao microscópio eletrônico de varredura (MEV) antes dos tratamentos mostrou a presença de um biofilme denso com predominância de formas alongadas semelhantes a bacilos e presença de aglomerados de microrganismos, hifas de fungos e esporos de leveduras.

Nos grupos controle (figuras 11) e detergente de mamona (figuras 12), os tratamentos não foram capazes de eliminar o biofilme. No grupo Ster-4-spray (figuras 13), embora o tratamento não tenha removido o biofilme, observou-se uma redução na massa microbiana, com a eliminação do aspecto aglomerado, mas que foi novamente observado na 4ª semana após o tratamento.

No grupo Amonex T.A. (figuras 14), para a seringa tríplice também foi notada a redução do biofilme após o tratamento, sendo que em alguns pontos a superfície da mangueira ficou exposta. Para a linha de água do alta rotação a redução do biofilme foi ainda mais evidente, com a presença de apenas alguns microrganismos isolados após o tratamento. Entretanto, no exame dos corpos de prova coletados quatro semanas após o tratamento, novamente pode-se observar a presença de biofilme “maduro”.

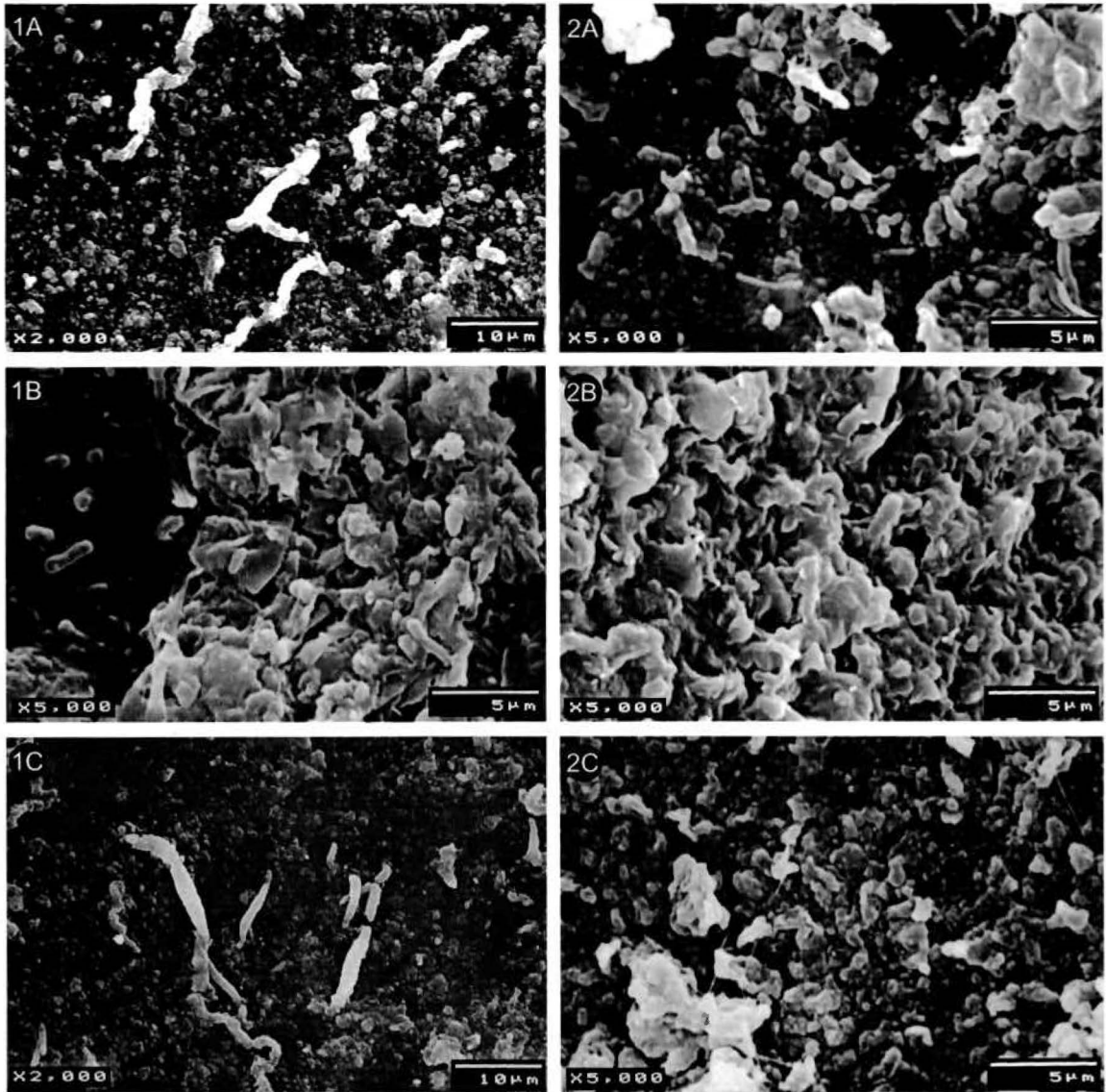


Figura 11. Fotomicrografias das linhas d'água de equipo odontológico do grupo controle. 1A, seringa tríptica antes da 1a desinfeção; 1B, seringa após a 1a desinfeção; 1C, seringa um mês após a 1a desinfeção. 2A, alta rotação antes; 2B, depois; 2C, um mês depois.

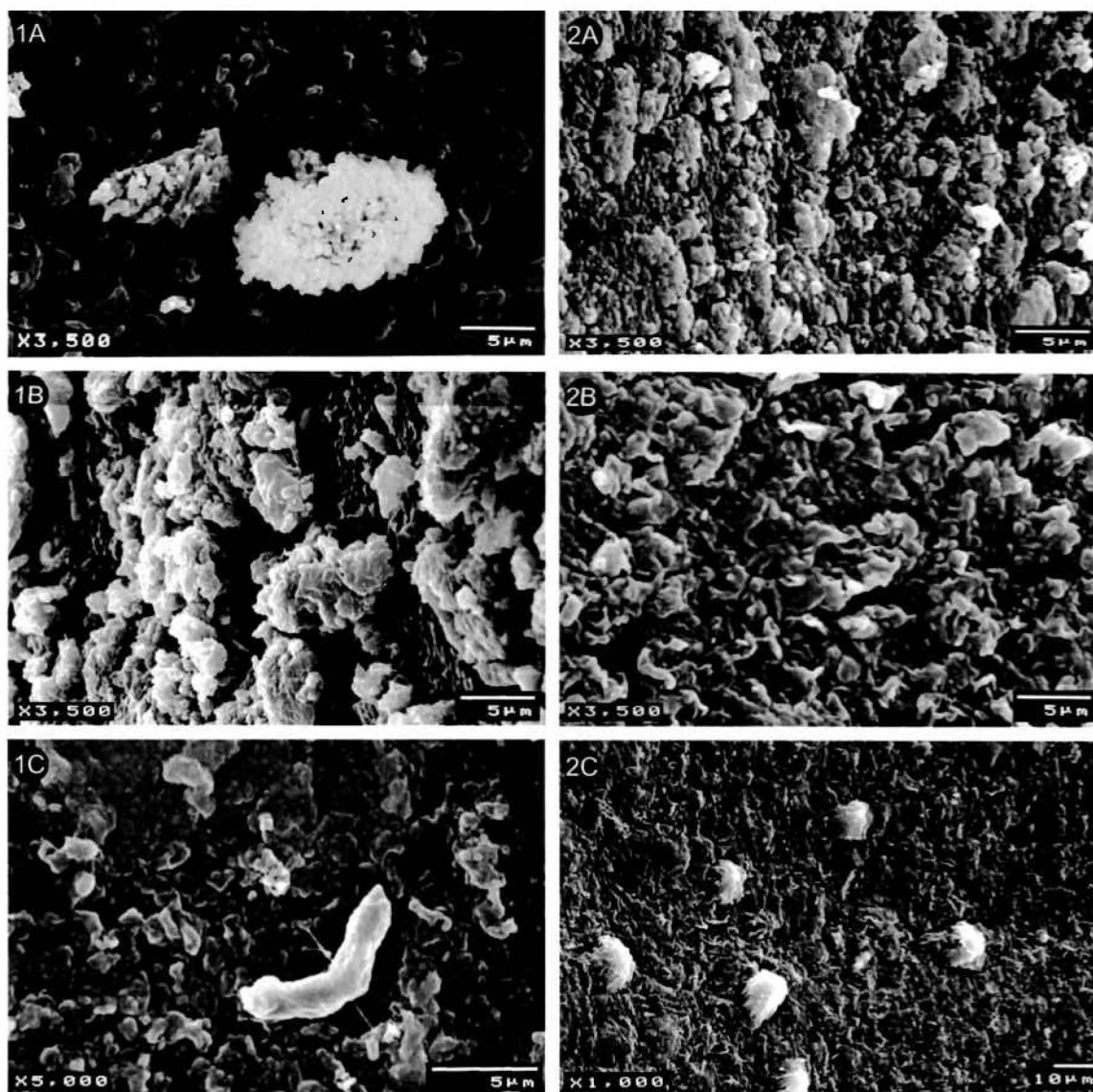


Figura 12. Fotomicrografias das linhas d'água de equipo odontológico do grupo detergente de mamona. 1A, seringa tríptica antes da 1a desinfeção; 1B, seringa após a 1a desinfeção; 1C, seringa um mês após a 1a desinfeção. 2A, alta rotação antes; 2B, depois; 2C, um mês depois.

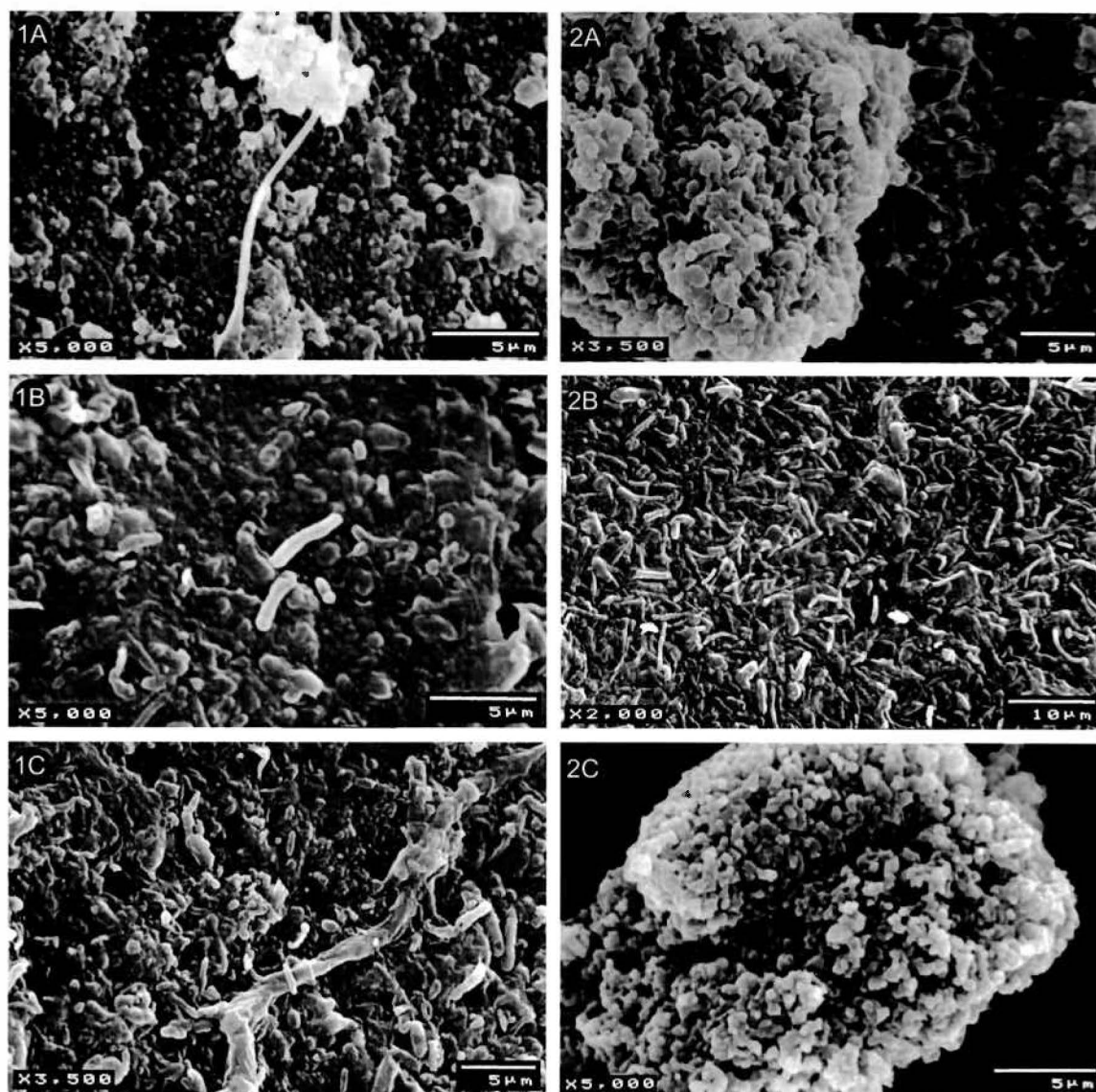


Figura 13. Fotomicrografias das linhas d'água de equipo odontológico do grupo Ster-4-spray. 1A, seringa tríptica antes da 1a desinfeção; 1B, seringa após a 1a desinfeção; 1C, seringa um mês após a 1a desinfeção. 2A, alta rotação antes; 2B, depois; 2C, um mês depois.

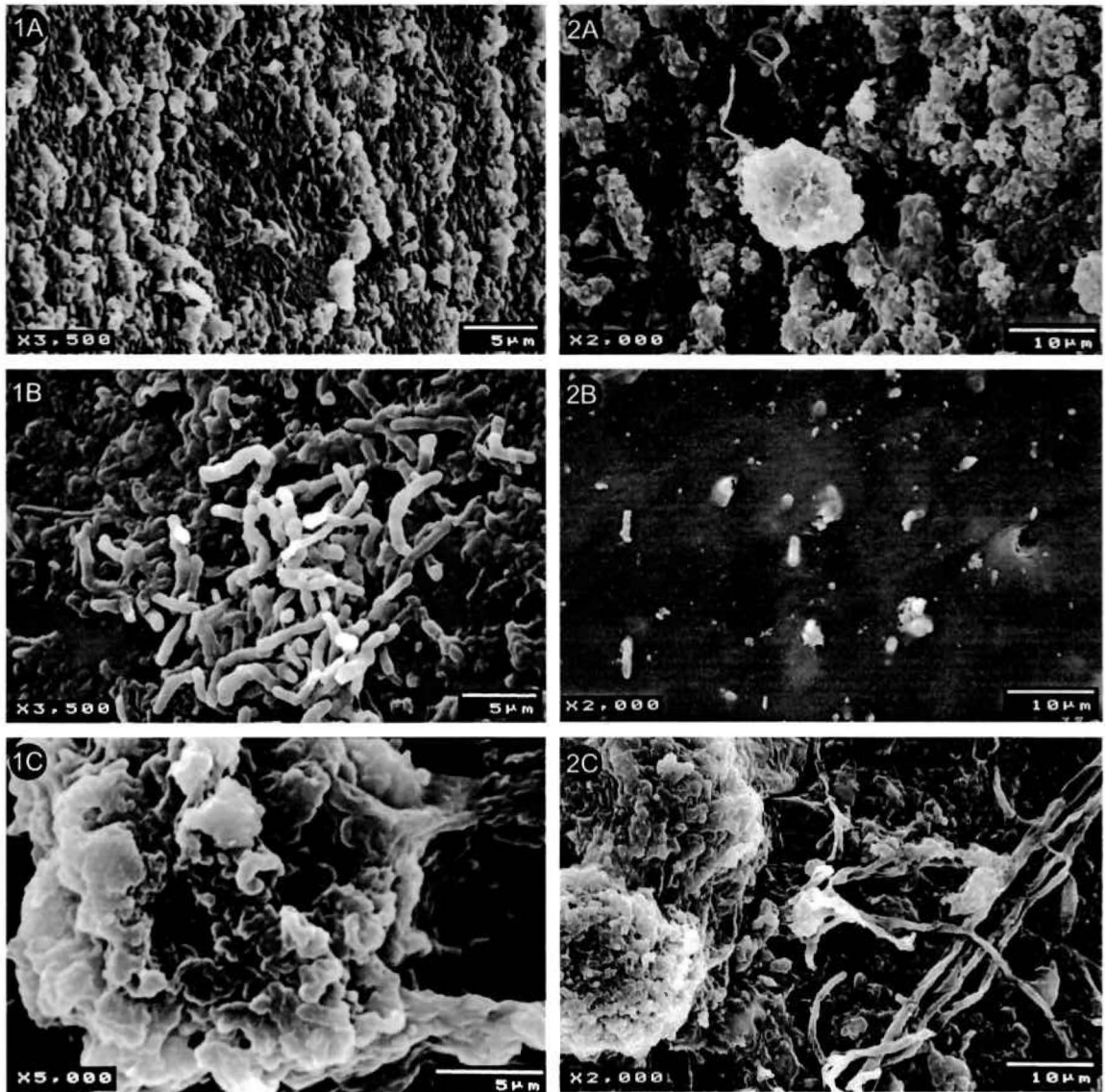


Figura 14. Fotomicrografias das linhas d'água de equipo odontológico do grupo Amonex T.A. 1A, seringa tríptica antes da 1ª desinfeção; 1B, seringa após a 1ª desinfeção; 1C, seringa um mês após a 1ª desinfeção. 2A, alta rotação antes; 2B, depois; 2C, um mês depois.

5.3. AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE RESÍDUOS DOS DESINFETANTES NA ÁGUA

A espectrometria de absorção de luz ultravioleta/visível não detectou a presença de resíduos dos desinfetantes em nenhuma das amostras dos três grupos experimentais. A análise dos espectros da água dos grupos detergente de mamona, Amonex T.A. e Ster-4-spray, exemplificados nas figuras 19, 20 e 21, respectivamente, mostraram que as amostras não apresentaram bandas de absorção características dos agentes desinfetantes.

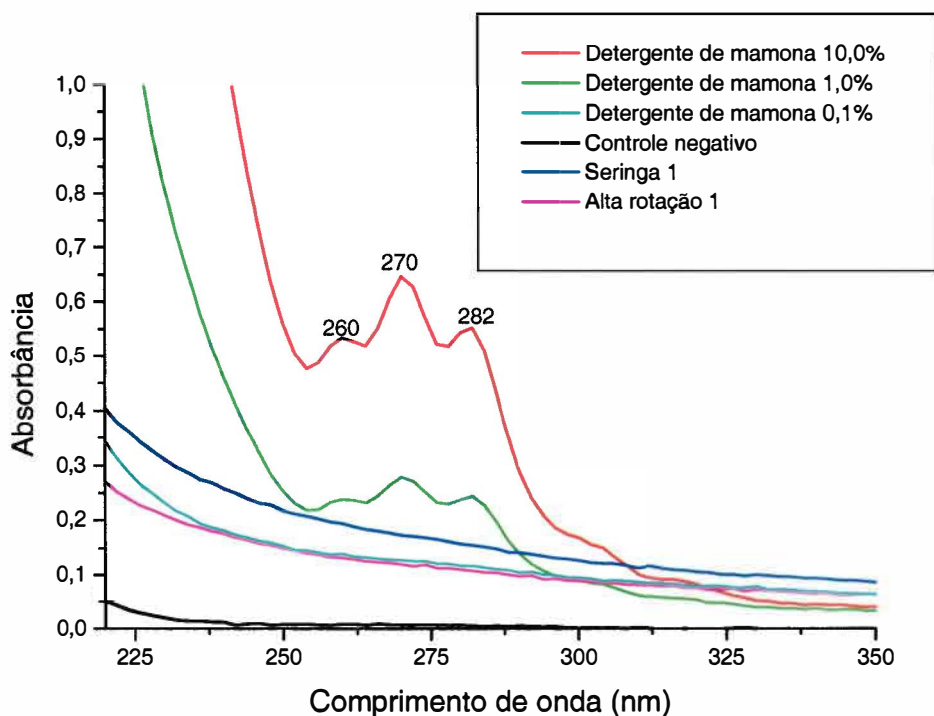


Figura 19. Gráfico de absorbância da água do equipamento 1, tratado com detergente de mamona.

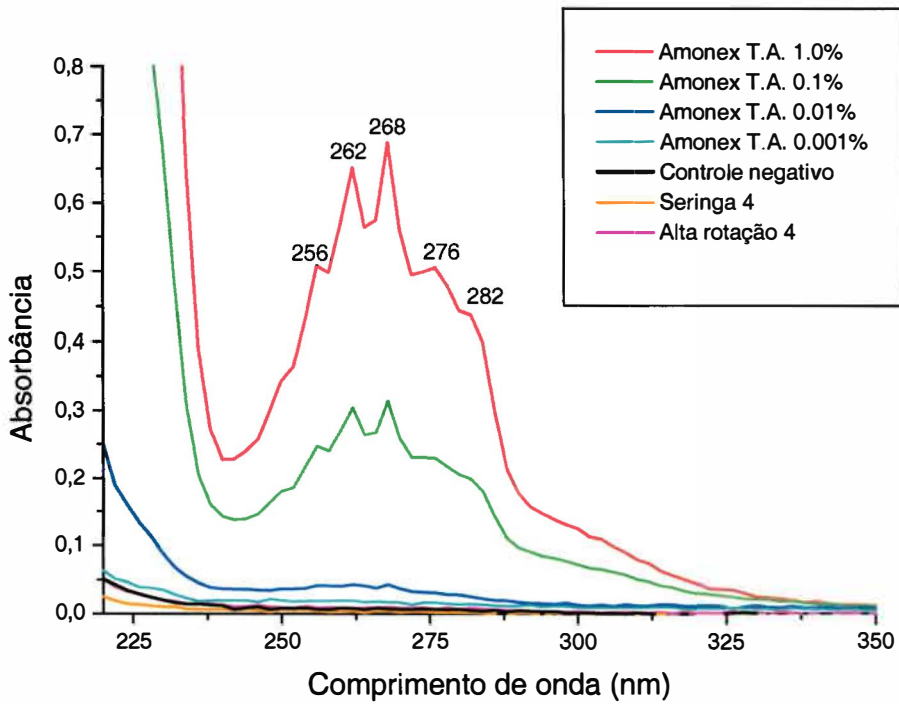


Figura 20. Gráfico de absorvância da água do equipamento 4, tratado com Amonex T.A.

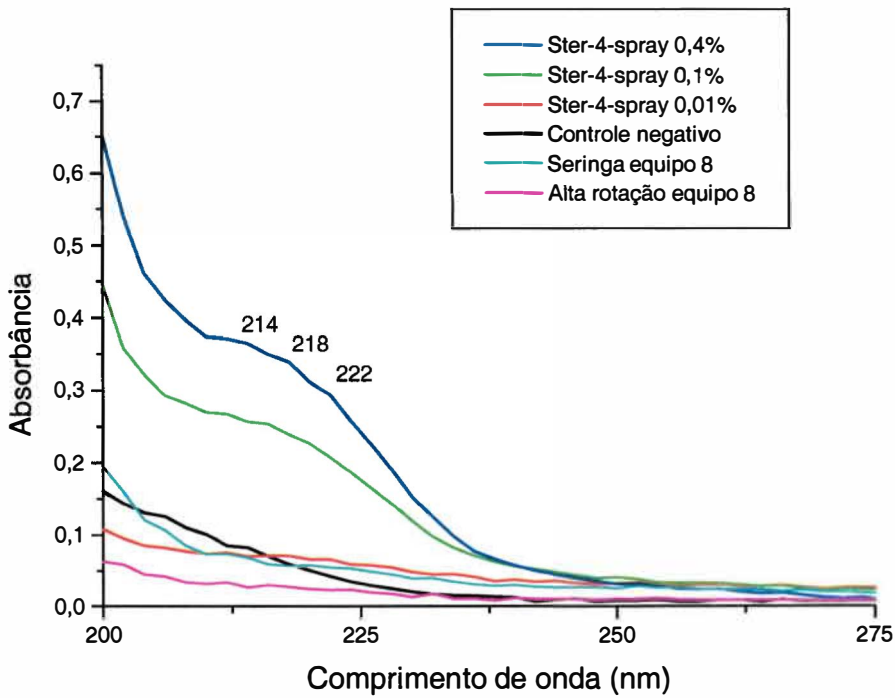


Figura 21. Gráfico de absorvância da água do equipamento 8, tratado com Ster-4-spray.

5.4. AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE ELEMENTOS INORGÂNICOS NA ÁGUA

Os resultados estão expressos nas tabelas 10 a 16 e devem ser comparados com os resultados expressos na tabela 17, que contém os valores máximos dos metais permitidos para a água de consumo humano.

Tabela 10- Limites de detecção médios (n=59) em mg/L dos elementos inorgânicos presentes nas amostras analisadas.

Elemento (Z)	mg/L
Si (14)	0,690
P (15)	2,220
S (16)	0,200
Cl (17)	0,130
K (19)	0,060
Ca (20)	0,040
Ti (22)	0,010
Cr (24)	0,010
Fe (26)	0,004
Ni (28)	0,004
Cu (29)	0,004
Zn (30)	0,007
Br (35)	0.310

Tabela 11- Média das concentrações (n=4) de elementos inorgânicos em mg/L na água da torneira utilizada para abastecer os equipamentos.

Elemento (Z)	Torneira	
	<i>Baseline</i>	1 Semana após
Si (14)	5,19	6,18
S (16)	0,33	0,77
Cl (17)	0,28	0,17
K (19)	3,70	3,82
Ca (20)	7,17	11,75
Fe (26)	0,08	0,16
Ni (28)	0,03	0,02
Cu (29)	0,29	0,09
Zn (30)	0,33	0,39

Tabela 12- Média das concentrações (n=4) de elementos inorgânicos em mg/L nos desinfetantes utilizados.

Elemento (Z)	Detergente de mamona	Amonex	Ster-4-spray
Si (14)	-	-	-
P (15)	-	-	102,94
S (16)	-	1,22	109,90
Cl (17)	21,51	0,94	8,52
K (19)	1,78	0,35	0,99
Ca (20)	4,21	1,02	2,45
Cr (24)	0,05	-	0,03
Fe (26)	0,17	0,19	0,34
Ni (28)	0,10	0,02	0,02
Cu (29)	0,22	0,02	-
Zn (30)	0,30	0,04	0,05
Br (35)	-	0,12	-

-, elemento não detectado.

Tabela 13- Média das concentrações (n=12) de elementos inorgânicos em mg/L na água de equipos do grupo controle.

Elemento (Z)	Seringa			Alta rotação		
	B	PT ₁	1S ₁	B	PT ₁	1S ₁
Si (14)	7,41	5,55	5,03	7,03	7,38	7,47
S (16)	0,70	0,66	0,54	0,71	0,56	0,57
Cl (17)	0,62	0,54	0,67	0,76	0,49	0,50
K (19)	4,44	5,04	5,43	4,00	4,19	4,04
Ca (20)	8,09	9,60	9,90	7,50	8,08	8,75
Fe (26)	0,08	0,05	0,16	0,16	0,09	0,12
Ni (28)	0,03	0,02	0,03	0,12	0,06	0,07
Cu (29)	0,05	0,05	0,02	0,05	0,04	0,02
Zn (30)	0,24	0,20	0,32	0,28	0,20	0,27

B, *baseline*; PT₁, após a 1^a desinfecção e enxágüe das linhas; 1S₁, uma semana após a 1^a desinfecção.

Tabela 14- Média das concentrações (n=12) de elementos inorgânicos em mg/L na água de equipos do grupo detergente de mamona.

Elemento (Z)	Seringa			Alta rotação		
	B	PT ₁	1S ₁	B	PT ₁	1S ₁
Si (14)	7,41	7,32	3,65	7,03	7,24	7,83
S (16)	0,70	0,62	0,55	0,71	0,56	0,80
Cl (17)	0,62	0,20	0,74	0,76	0,26	1,23
K (19)	4,44	4,21	4,45	4,00	4,71	6,68
Ca (20)	8,09	8,06	8,61	7,50	8,21	9,11
Ti (22)	-	0,20	-	-	0,02	-
Fe (26)	0,08	0,18	0,24	0,16	0,18	0,15
Ni (28)	0,03	0,03	1,26	0,12	0,09	0,06
Cu (29)	0,05	0,21	0,15	0,05	0,2	0,13
Zn (30)	0,24	0,20	0,32	0,28	0,15	0,77

B, *baseline*; PT₁, após a 1^a desinfecção e enxágüe das linhas; 1S₁, uma semana após a 1^a desinfecção; -, elemento não detectado.

Tabela 15- Média das concentrações (n=12) de elementos inorgânicos em mg/L na água de equipos do grupo Amonex.

Elemento (Z)	Seringa			Alta rotação		
	B	PT ₁	1S ₁	B	PT ₁	1S ₁
Si (14)	7,41	4,58	14,68	7,03	10,42	8,41
S (16)	0,70	0,44	1,76	0,71	0,85	1,93
Cl (17)	0,62	0,36	1,19	0,76	0,62	1,51
K (19)	4,44	6,65	3,64	4,00	4,84	4,22
Ca (20)	8,09	7,91	7,09	7,50	10,09	9,35
Ti (22)	-	0,07	-	-	-	-
Fe (26)	0,08	0,17	0,15	0,16	0,10	0,16
Ni (28)	0,03	0,51	0,16	0,12	0,04	0,62
Cu (29)	0,05	0,09	0,05	0,05	0,07	0,13
Zn (30)	0,24	0,23	0,38	0,28	0,31	1,06

B, *baseline*; PT₁, após a 1ª desinfecção e enxágüe das linhas; 1S₁, uma semana após a 1ª desinfecção; -, elemento não detectado.

Tabela 16- Média das concentrações (n=12) de elementos inorgânicos em mg/L na água de equipos do grupo Ster-4-spray.

Elemento (Z)	Seringa			Alta rotação		
	B	PT ₁	1S ₁	B	PT ₁	1S ₁
Si (14)	7,41	8,31	9,50	7,03	10,02	5,67
S (16)	0,70	0,63	1,30	0,71	0,78	0,87
Cl (17)	0,62	0,36	1,05	0,76	0,42	0,75
K (19)	4,44	4,42	4,38	4,00	4,00	5,26
Ca (20)	8,09	8,96	8,02	7,50	8,43	9,80
Fe (26)	0,08	0,10	0,16	0,16	0,13	0,18
Ni (28)	0,03	0,04	0,49	0,12	0,22	0,25
Cu (29)	0,05	0,40	0,57	0,05	0,48	0,14
Zn (30)	0,24	0,39	0,74	0,28	0,42	1,01

B, *baseline*; PT₁, após a 1ª desinfecção e enxágüe das linhas; 1S₁, uma semana após a 1ª desinfecção.

Tabela 17- Concentrações máximas permitidas de elementos inorgânicos em mg/L na água para consumo humano em diversos países e Organização Mundial da Saúde (OMS).

Elemento (Z)	Brasil	Japão	EUA	União Européia	OMS
Cl (17)	5,00	*	4,00	*	5,00
Fe (26)	0,30	0,30	*	0,20	*
Ni (28)	*	*	*	0,02	0,03
Cu (29)	2,00	1,00	1,30	2,00	2,00
Zn (30)	5,00	1,00	*	*	5,00

*, limite não estabelecido.

6. DISCUSSÃO

Numerosos estudos sobre a contaminação da água de equipos odontológicos têm sido publicados, entretanto, a metodologia empregada nos laboratórios de microbiologia não é padronizada. Diferentes meios de cultura têm sido utilizados para a recuperação de microrganismos como ágar sangue de cavalo (FITZGIBBON et al., 1984), ágar triptona soja -TSA (WILLIAMS et al., 1993), ágar infusão de cérebro-coração (PREVOST et al., 1995), R2A ágar (MARAIS; BRÖZEL, 1999), ágar padrão de contagem -Plate Count Agar (NOCE; DI GIOVANNI; PUTNINS, 2000), assim como diferentes técnicas como a de tubos múltiplos para a detecção de coliformes (AGUIAR; PINHEIRO, 1999), semeadura em superfície (PUTNINS; DI GIOVANNI; BHULLAR, 2001), técnica da membrana filtrante (KETTERING et al., 2002) Pour Plate (SOUZA-GUGELMIN et al., 2003), além de métodos prontos como o Simplate® Total Plate Count-Color Indicator-TPC-CI produzido pela Idexx em Westbrook, EUA (WATANABE et al., 2001) e Petrifilm™ (AGOSTINHO et al., 2003).

Além disso, as temperaturas de incubação têm variado de 20 a 37°C e tempos de incubação de dois a 28 dias têm sido padronizados (NOCE; DI GIOVANNI; PUTNINS, 2000).

Segundo Marais e Brözel (1999), o uso de ágar enriquecido e temperatura de incubação de 37°C não deveria ser encorajado, uma vez que alguns microrganismos oportunistas podem não ser recuperados e por outro lado, várias espécies podem não estar sendo identificadas devido à necessidade de recursos técnicos mais sofisticados para seu crescimento.

O sistema Petrifilm™, utilizado neste estudo, foi aplicado para a detecção de microrganismos na água de equipos odontológicos pela primeira vez, em 1999, por Ito et al. e tem sido sistematicamente empregado pelo grupo de pesquisas liderado pela Prof^a Dr^a Izabel Yoko Ito da FCFRP-USP, desde então.

Dentre as vantagens de sua utilização estão a economia de tempo, uma vez que não há a necessidade de preparo prévio do meio de cultura; a simplicidade de semeadura; a economia de espaço na estufa para incubação, em armários, geladeiras e autoclaves; a facilidade de transporte; a possibilidade de ser armazenado em refrigerador para contagem posterior ou reanálise; o fato de não quebrar e a facilidade de descarte. De acordo com Serikaku et al. (1999), outra vantagem é que microrganismos invasivos, de crescimento muito rápido sobre a superfície de meios de cultura não apresentam esta característica no

PetrifilmTM, possivelmente pela barreira física e também menor difusão de O₂ promovida pelo filme plástico superior.

Dentre as desvantagens Serikaku et al. (1999), que utilizaram o sistema para o controle microbiológico de cosméticos, atentaram para o fato de que a superfície em que se realiza a semeadura deve estar perfeitamente plana para se evitar o escorrimento da amostra para um dos lados e a perda do material inoculado por extravasamento. Embora durante a semeadura da água dos equipos não tenha havido problemas com a superfície de apoio, foi necessária especial atenção na aplicação do difusor nas placas HSCC, uma vez que, se realizada com muita pressão resultava em extravasamento.

Sant'Ana, Conceição e Azeredo (2002) relataram a liquefação do gel de placas AC, dificultando a interpretação dos resultados, quando da análise de amostras de sorvete, fato que não foi constatado neste estudo, com a semeadura de água. Outra desvantagem levantada é o custo do produto, que segundo os autores é de duas a três vezes maior que a utilização de métodos convencionais em placas. Mas, a relação custo/benefício deve ser levada em consideração, uma vez que, principalmente quando da análise de várias amostras, como é o caso da água de equipos odontológicos, a economia de tempo e pessoal na preparação de meios e vidraria e no posterior processamento do material contaminado é grande, fato com o qual os autores concordam.

Quanto à confiabilidade do método, tanto na análise de sorvete (SANT'ANA; CONCEIÇÃO; AZEREDO, 2002), quanto na de cosméticos (SERIKAKU et al., 1999), a comparação com os métodos tradicionais de contagem em placa não revelaram diferenças estatisticamente significantes.

A adição de tiosulfato de sódio às amostras de água para neutralizar o cloro, segundo Noce, Di Giovanni e Putnins (2000) é muito importante, uma vez que a recuperação de microrganismos em amostras de água de equipos neutralizadas com a substância a 1,8% foi quase o dobro de amostras não neutralizadas. A água proveniente do poço da USP é adicionada de cloro, assim, foi adicionado à água efluente dos equipos, tiosulfato de sódio a 2,0%. Este procedimento também foi realizado por Larsen e Fiehn (2003) e Porteus e Cooley (2004), embora não tenham citado a concentração empregada. Outros citaram a utilização da substância em concentrações variadas: Fiehn e Henriksen (1988) utilizaram 0,8%, enquanto que Fantinato et al. (1992), assim como Aguiar e Pinheiro (1999), 10,0%.

A utilização de água nos procedimentos odontológicos para a refrigeração dos elementos dentais e enxágüe da cavidade oral do paciente, a partir do início dos anos 50 representou uma grande evolução no tratamento odontológico, mas a não esperada elevada contaminação da água têm preocupado profissionais em todo o mundo (MILLS; KARPAY, 2002).

No Canadá, Inglaterra e EUA, as organizações de classe e governamentais elaboram guias para informar os profissionais sobre o problema da formação do biofilme e contaminação da água e orientá-los quanto às medidas necessárias para seu controle (BARBEAU, 2000; BRITISH DENTAL ASSOCIATION, 2000; CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2003; ORGANIZATION FOR SAFETY AND ASSEPSIS PROCEDURES, 2004). No Brasil, o manual de segurança disponibilizado pelo Conselho Federal de Odontologia (1999) sequer cita a importância da qualidade da água utilizada no tratamento odontológico. O Centro de Vigilância Sanitária de São Paulo, órgão governamental que regulamenta e fiscaliza as condições para o atendimento odontológico, faz uma única menção sobre a qualidade da água, mesmo assim sem considerar a água efluente, na Resolução SS-15 de 18 de janeiro de 1999 (SÃO PAULO, 1999), quando trata das unidades odontológicas móveis e transportáveis, estabelecendo que o reservatório deve ser limpo e desinfetado periodicamente, não deve contaminar a água e deve permitir o armazenamento de água potável em quantidade suficiente. Como resultado, a grande maioria dos profissionais brasileiros desconhece o problema do biofilme nas linhas de água do equipo odontológico e os alarmantes níveis de contaminação da água e por isso não adotam qualquer medida de descontaminação.

Em razão dos parâmetros de qualidade da água tanto para consumo humano, quanto para o equipo (CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 2003), no que se refere a bactérias heterotróficas mesófilas, se basearem na redução do número de microrganismos, foi realizada neste estudo uma análise quantitativa e não qualitativa.

A contaminação inicial de bactérias aeróbias detectada superou em mais de dez vezes o limite proposto pela ADA e em mais de seis vezes o tolerado para a água de consumo humano e revela uma condição inaceitável para utilização em um tratamento de saúde. Patamares tão elevados de contaminação na água para tratamento odontológico podem representar sério risco a pacientes com algum tipo de comprometimento imunológico permanente ou transitório, como é o caso dos pacientes da Clínica de Pacientes Especiais,

que apresentam deficiências sérias e problemas crônicos de saúde, além de colocar em risco a equipe odontológica que está exposta a aerossóis diariamente ao longo dos anos. Não bastasse a elevada carga microbiana a que são submetidos pacientes e profissionais, é importante ressaltar que as bactérias presentes no biofilme são milhares de vezes mais resistentes a antibióticos e biocidas do que suas formas planctônicas (COSTERTON et al., 1987).

Valores semelhantes de contaminação têm sido detectados desde a década de 60, quando Blake realizou o 1º trabalho sobre a contaminação da água e continuam a ser observados em todas as partes do mundo, quer seja em Universidades (AGOSTINHO et al. 2003), quer seja em consultórios particulares (MONTEBUGNOLI et al., 2004). As contagens de ufc/mL presentes na água de seringas foram semelhantes à das linhas de alta rotação, o que discordou dos trabalhos apresentados por Gross, Devine e Cutright (1976), que encontraram uma contaminação cerca de dez vezes maior nas linhas de alta rotação do que da seringa, de Barbeau et al. (1996), no qual também a água da linha de alta rotação era mais contaminada e de Noce, Di Giovanni e Putnins (2000), em que esta relação chegava a ser o dobro.

Outro fato observado neste estudo foi a grande variação no número de microrganismos no *baseline*, entre equipos. Valores de $2,4 \times 10^2$ a $3,94 \times 10^7$ ufc/mL foram detectados, achado que foi igualmente relatado por Putnins, Di Giovanni e Bhullar (2001), que encontraram de $6,3 \times 10^2$ a $1,0 \times 10^5$ ufc/mL, num grupo de equipos de uma mesma clínica. Esta variabilidade encontrada na Clínica de Pacientes Especiais, apesar dos equipos serem da mesma marca, apresentarem o mesmo tempo de instalação e serem abastecidos com a mesma água pode ser decorrente da variável frequência com que as linhas são acionadas, já que o tratamento dos pacientes é diverso, resultando em períodos de estagnação diferentes. Segundo Linger et al. (2001), as diferenças entre as amostras são decorrentes da variabilidade inerente à amostra ou à quantidade de biofilme deslocada no momento da coleta. Já Barbeau et al. (1996) acreditam que a variação é dada pela distribuição heterogênea das células bacterianas em uma amostra. Para minimizar este problema, Noce, Di Giovanni e Putnins (2000) sugerem que cada unidade deveria ser testada várias vezes para se estabelecer a média geométrica de microrganismos.

A microscopia eletrônica de varredura dos fragmentos de mangueiras, antes dos tratamentos, revelou a existência de um biofilme contínuo, condizente com equipos em

serviço por muitos anos e constituído por microrganismos filamentosos, com forma semelhante a bacilos, agregados microbianos e estruturas ovaladas, semelhantes às descritas por Doggett (2000) e Cobb et al. (2002) e classificadas por eles como esporos de fungos.

O isolamento de fungos, neste estudo, não apresentou um padrão, em função das desinfecções em nenhum dos grupos estudados, nem para a água das seringas tríplices, nem para a das linhas de alta rotação. No grupo Ster-4-spray, onde, inicialmente, não haviam sido detectados fungos na água da seringa tríplice, estes passaram a ser detectados na 2ª semana após a 1ª desinfecção. Este comportamento também foi observado por Porteus et al., em 2003. Avaliando o efeito do uso contínuo de um composto à base de dióxido de cloro verificaram, após nove semanas de tratamento, o crescimento de pequenas colônias negras, identificadas por meio de testes moleculares como fungos da espécie *Exophiala mesophila*, que não foram identificados na água de abastecimento. Ainda, a frequência com que o fungo foi isolado variou, não sendo detectado em todas as linhas, nem em todas as amostras coletadas. Os autores especularam que o uso contínuo do produto pode ter alterado a microbiota natural da água o suficiente para promover condições favoráveis para o crescimento do fungo presente no biofilme. Nagy e Olson (1982) observaram que em um sistema de água com adição de cloro, o nível bacteriano foi menor do que no sistema não clorado, mas os fungos estavam presentes quase duas vezes mais. A justificativa encontrada foi a de que tanto a comunidade bacteriana quanto a fúngica apresentavam as mesmas necessidades nutricionais, mas comportamentos antagonistas, assim, quando a população bacteriana diminuiu, resultou em condições nutricionais favoráveis para o desenvolvimento dos fungos.

Há grande variedade de espécies de fungos na água e sua frequência é atribuída à origem, temperatura, condições de tratamento e distribuição da água (DOGGETT, 2000), mas em comparação com as bactérias, os fungos têm sido relativamente negligenciados como habitantes do ecossistema de água potável (NAGY; OLSON, 1982), tanto que não há parâmetros para fungos na legislação sobre água destinada a consumo humano. Apesar disto, a exposição a fungos além de representar sério problema para pacientes imunossuprimidos, pode colocar em risco, particularmente cirurgiões-dentistas, auxiliares e pacientes durante o uso de aparelhos que promovem a geração de aerossóis como alta rotação, ultra-som e jatos de bicarbonato.

Existem alguns relatos sobre fungos em biofilmes, mas não estudos detalhados, apesar de eles se apresentarem como excelentes colonizadores de superfícies. O limo das hifas de fungos apresentam função semelhante ao PEC das bactérias, servindo para ancoragem do micélio ao substrato, impedindo seu ressecamento, promovendo locais para adesão de outros microrganismos e atuando como fonte nutricional (JONES, 1994).

Esporos de fungos e estruturas semelhantes a hifas foram detectadas em várias amostras de biofilme analisadas por MEV, caracterizando a existência de biofilmes complexos, que segundo Elvers et al. (1998) são freqüentemente mais espessos e estáveis.

O biofilme das mangueiras de água faz parte da série de biofilmes não desejáveis como os responsáveis pelo aparecimento de doenças, os biofilmes formados nas tubulações de indústrias farmacêuticas, usinas de leite, dentre outros, o que torna a sua eliminação uma meta para a comunidade científica e indústria. No equipo odontológico, devido à inacessibilidade das mangueiras, sua remoção mecânica, único método comprovadamente eficaz, é impraticável, o que faz com que se busque outros métodos capazes de eliminar o problema.

O desenvolvimento e a utilização de substâncias químicas com elevada atividade antimicrobiana tem sido o método mais pesquisado na atualidade. Embora alguns resultados positivos na manutenção dos níveis de microrganismos planctônicos dentro do tolerável tenham sido conseguidos, os biocidas não têm sido capazes de eliminar o biofilme. A razão para a não efetiva remoção de biofilme por desinfetantes é que ambos apresentam carga negativa, o que resulta em eletro-repulsão (SHEPHERD et al., 2001) e há uma inativação da substância pela interação com matéria orgânica (PANKHURST; JOHNSON; WOODS, 1998) ou substâncias neutralizadoras (STEWART et al., 2000).

Stewart (1996) discutiu que os biocidas não chegavam a se difundir no biofilme devido a uma reação de neutralização na superfície, que ocorreria mais rápido do que sua velocidade de difusão. Por exemplo, o coeficiente de difusão do hipoclorito de sódio e do peróxido de hidrogênio no biofilme é cerca de metade dos valores da água pura (STEWART, 1998). Em 2000, Stewart et al. mediram por meio de microeletrodos a penetração de peróxido de hidrogênio em biofilmes de cepas de campo de *P. aeruginosa* e mutantes, que não produziam catalase e comprovaram que a penetração do desinfetante era maior estatisticamente nos mutantes.

Além da não remoção do biofilme, somam-se aos biocidas desvantagens inerentes ao seu uso, como a exposição dos membros da equipe odontológica e pacientes e os possíveis danos aos equipamentos. O hipoclorito de sódio, por exemplo, tem sido criticado pelo efeito danoso nos equipamentos, determinando que não seja mantido mais do que dez minutos nas linhas e exigindo avaliação constante para a detecção de sinais de corrosão. Além disso, a produção de trihalometanos, pelo contato com matéria orgânica, o potencial irritante e o odor e sabor desagradáveis, demandam a drenagem com grande quantidade de água e o uso de equipamentos de proteção individual para reduzir a exposição de pacientes e equipe (KIM; CEDERBERG; PUTTAIAH, 2000).

O uso de álcool a 2% como tratamento contínuo das mangueiras apesar dos bons resultados apresentados por Eleazer, Schuster e Weathers (1997), preocupa porque sem o uso de um suctor de alta potência, o paciente poderia deglutir um volume substancial do irrigante, o que seria problemático no caso de pacientes dependentes e também daqueles que fazem uso de medicamentos capazes de interagir com álcool. Outra substância testada por eles, um anti-séptico, da mesma forma pode representar problemas para os procedimentos restauradores devido ao óleos essenciais e agentes flavorizantes presentes em sua fórmula.

No Brasil não são encontrados produtos especificamente desenvolvidos para a desinfecção das linhas d'água em equipos odontológicos e sim, sistemas, nos próprios equipos, desenvolvidos pelos fabricantes e que permitem a utilização de biocidas.

Os equipos testados apresentavam o Sistema Flush, que segundo o fabricante tem a função de realizar a desinfecção interna das peças de mão e das mangueiras, mas que não era acionado na Clínica de Pacientes Especiais. No Sistema Flush, uma solução de hipoclorito de sódio a 1:500ppm, armazenada em reservatório próprio ligado em paralelo com o reservatório de água deve ser drenado por vinte a trinta segundos pelo acionamento de uma válvula localizada no equipo. Entretanto, Cardoso et al. (1999) verificaram que, apesar de uma redução estatisticamente significativa na contaminação, a água após o acionamento do sistema continuou a exceder o limite recomendado pela ADA em mais de trezentas vezes. Aguiar e Pinheiro (1999) também não observaram os supostos efeitos bactericidas do Sistema ao encontrar na cidade de Recife 32 amostras contaminadas por coliformes após sua utilização contra 36 amostras contaminadas inicialmente.

As substâncias utilizadas, neste estudo, foram selecionadas pela atividade antimicrobiana divulgada pelos fabricantes ou em estudos científicos (Ster-4-spray) e que ainda não tivessem sido testadas em equipos odontológicos, como é o caso do Amonex T.A. e do detergente de mamona.

O detergente de mamona foi um produto de fácil utilização, mas seu odor desagradável, notado principalmente na fase de drenagem após as catorze horas de contato, chamou a atenção. O desinfetante não produziu redução de microrganismos a nível tolerado pela ADA após a 1ª desinfecção e em uma das amostras de água da seringa houve um aumento no número de ufc/mL. Um resultado semelhante foi descrito por Walker et al. (2000), que coletaram água e amostras de biofilme de cinco equipos antes e após a desinfecção e verificaram que embora a quantidade de biofilme nas mangueiras tivesse diminuído, em todos a contaminação da água apresentava-se maior. O resultado apresentado após o tratamento com detergente de mamona pode ter duas explicações: a primeira, uma possível remoção de fragmentos de biofilme, por ação na matriz orgânica, promovendo a sua ruptura, embora a MEV das linhas d'água após o tratamento tenha demonstrado, que o detergente não foi capaz de eliminar o biofilme. De acordo com Walker et al. (2000), o uso de detergentes ou ácidos inorgânicos pode levar à liberação de microrganismos do biofilme e, assim, aumentar o número de bactérias planctônicas na água. A segunda explicação seria uma falta de ação do desinfetante contra a microbiota das mangueiras. Como discutido por Leonardo et al. (2001), que testaram o efeito do detergente de mamona *in vitro* em microrganismos freqüentemente isolados de infecções endodônticas, o detergente de mamona só teria efeito contra microrganismos gram-positivos e não contra gram-negativos, que correspondem aos maiores componentes do biofilme das mangueiras do equipo.

Entretanto, o uso do detergente de mamona foi capaz de reduzir a contaminação de acordo com as metas propostas pela ADA após a 2ª desinfecção, o que pode levar ao questionamento de se o uso freqüente pode reduzir a contaminação a longo prazo.

O Amonex T.A., embora necessite ser diluído para utilização nos equipos odontológicos, tem preparo simples e não apresentou odores desagradáveis durante a fase de drenagem e pelos resultados apresentados, mostrou-se um produto promissor para o controle da contaminação da água e minimização do biofilme. É um quaternário de amônio de última geração, que apresenta bom desempenho na presença de matéria orgânica e é

capaz de eliminar microrganismos gram-negativos, gram-positivos, fungos e algas (MODESTO, 2000).

A análise dos fragmentos de mangueira, através de MEV, mostrou a remoção da matriz de biofilme, que pode ser explicada pela característica catiônica do produto (MODESTO, 2000), que não promoveria repulsão da substância em contato com o biofilme, que apresenta carga negativa (SHEPHERD et al., 2001). Assim como o detergente de mamona, apresentou um comportamento superior na segunda desinfecção, o que também leva ao questionamento de uma maior eficácia com tratamentos repetidos.

Surpreendentemente, no grupo controle, onde apenas a drenagem foi instituída, a água manteve-se dentro dos padrões da ADA por várias semanas, embora o problema do biofilme nas mangueiras tenha permanecido. Zanetti et al., que realizaram um trabalho, em 2003, no qual o grupo controle de maneira semelhante era drenado sem a adição de desinfetantes, comentaram que a drenagem por si só foi capaz de reduzir e controlar a contaminação.

A associação de TAED com uma fonte de peróxido em um pH próximo do neutro, como no produto Ster-4-spray, é considerada uma forma não perigosa de geração de ácido peracético *in situ*. Os íons peracéticos apresentam ação biocida comparável com a de todos os agentes oxidantes, mas muito mais efetiva, levando a uma rápida destruição das pontes sulfúrica e sulfidrídica das proteínas da parede celular dos microrganismos. Ao final da reação, ambos TAED e sub-produtos da reação, incluindo DAED são atóxicos, não causam reação de hipersensibilidade e são totalmente biodegradáveis (ITALIAN DENTAL ASSOCIATION, 2000). O Ster-4-spray é fácil de preparar, não apresenta odores desagradáveis e, de acordo com Montebugnoli et al. (2004), apresenta baixo custo, não danifica os equipamentos e não libera gases irritantes. O produto mostrou-se capaz de reduzir a contaminação a níveis esperados após as duas desinfecções, mas não foi capaz de remover o biofilme. Montebugnoli et al. (2004) utilizaram Ster-4-spray em quatro equipos com biofilme estabelecido e em apenas um houve completa remoção de biofilme, em dois equipos a espessura da matriz não foi alterada e no 4º um pequeno decréscimo foi observado.

Um dado que mereceu atenção, sobre a utilização do Ster-4-spray, foi o rápido aumento no número de microrganismos observado nos equipos, após a 2ª desinfecção. Este fato associado com a observação das fotomicrografias, que mostraram que não houve

remoção completa do biofilme, pode ser resultado da rápida recuperação do biofilme após a agressão imposta.

Quanto à dinâmica da recontaminação da água e recolonização da mangueiras, tanto os grupos controle e detergente de mamona, a partir da 1ª semana após a 1ª desinfecção começaram a apresentar crescentes níveis de microrganismos na água, pois a fonte de contaminação, o biofilme, examinado por meio de MEV não foi removido e após um mês apresentou-se como uma massa microbiana heterogênea e bem estabelecida. No grupo Ster-4-spray, apesar da recontaminação da água ter sido mais lenta após a 1ª desinfecção, quando comparada com os outros grupos, a análise das fotomicrografias revelou que, da mesma forma, após um mês do tratamento o biofilme era semelhante ao visualizado no *baseline*. Entretanto, após a 2ª desinfecção, a recontaminação da água deste grupo foi mais rápida do que nos demais e ao final da 4ª semana os níveis de microrganismos detectados eram maiores que o *baseline*. Brannan (2000) explicou que mesmo quando todos os microrganismos são mortos, a carcaça orgânica não removida serve de matriz para a nova colonização de microrganismos, que ocorre em tempo menor e em muitas vezes em níveis maiores que os iniciais.

De acordo com Meiller et al. (1999) a taxa de reincidência do biofilme depende do grau de remoção da matriz, mas mesmo com a remoção total do biofilme, como observado no grupo Amonex T.A., a recolonização das linhas após um mês do tratamento foi comprovada por MEV, o que deixa claro que uma atenção constante deve ser destinada à descontaminação das linhas, pois a formação do biofilme é um processo dinâmico, que volta a ocorrer em curto espaço de tempo. Ainda segundo Meiller et al. (1999), as taxas de recolonização após a desinfecção também são afetadas pelo agente químico utilizado e pelo tipo de bactéria que colonizava as mangueiras. Fiehn e Henriksen (1988), verificaram que cinco dias após um protocolo de cloração instituído para a água do equipo, os valores de contaminação eram semelhantes aos iniciais. Mas, diferente destes resultados, Epstein et al. (2002), após a utilização de um desinfetante à base de clorexidina uma única vez e monitoramento das linhas por oito semanas, não detectaram recolonização em dez dos onze equipos tratados e atribuíram a taxa reduzida de recolonização ao uso de água esterilizada para o abastecimento dos equipos ou a um efeito residual do produto.

A forma de abastecimento de água dos equipos odontológicos e o tipo de reservatório dependem do modelo do equipo. Muitos deles, apesar de não serem mais fabricados, ainda

podem ser encontrados em funcionamento. No Brasil, um tipo de equipo antigo, apresentava conexão direta com o sistema de abastecimento público tanto para a seringa tríplice, quanto para o alta rotação. Certo tipo apresentava conexão direta com o sistema de abastecimento para a linha de água da seringa tríplice e um reservatório metálico separado para a caneta de alta rotação, de cerca de dois litro de capacidade, que era abastecido pelo profissional ou auxiliares. E outro ainda possuía um reservatório único de metal para o suprimento tanto do alta rotação como da seringa triplice. Os antigos reservatórios metálicos, localizados no chão ou no próprio equipo eram inacessíveis à inspeção e à limpeza e a adição de biocidas poderia claramente promover problemas de corrosão. Fantinato et al. (1992) chegaram a descrever reservatórios em que resíduos e limbo verde eram visíveis a olho nu.

Os equipos odontológicos atuais apresentam reservatórios separados da água de abastecimento na forma de garrafas de plástico do tipo PET (polietileno tereftalato), com capacidade para 500,0mL, que são abastecidas conforme a necessidade. Estes reservatórios independentes, que estavam presentes nos equipos estudados, apresentam vários aspectos positivos como possibilitar que biocidas sejam empregados no tratamento; podem ser removidos e lavados facilmente; são transparentes, facilitando a visualização de sujidades; apresentam baixo custo, podendo ser repostos com frequência e apresentam pequeno volume (500,0mL), o que faz com que haja o reabastecimento periódico, impedindo a estagnação da água por longos períodos. Entretanto, conforme discutido por Mills (2000), o procedimento de reabastecimento do equipo é crítico pois a lavagem de mãos inadequada, o pouco critério no manuseio e limpeza das garrafas e no momento do reabastecimento pode resultar na contaminação da água por bactérias da microbiota da pele ou mesmo entéricas.

A não detecção de coliformes na água das torneiras, utilizada para o abastecimento, nem na água de equipos é um achado satisfatório, uma vez que estes microrganismos, são indicadores de condições higiênico-sanitárias (MACEDO, 2001). A presença deste tipo de microrganismo na água destinada ao tratamento odontológico, como publicada por Aguiar e Pinheiro (1999), é muito séria e pode traduzir a falta de condições de saneamento básico do local ou a falta de higiene no manejo e abastecimento dos reservatórios.

A cooperação dos funcionários é um fator chave na obtenção e manutenção da qualidade da água de equipos odontológicos. Shepherd et al. (2001), ao instituírem um

tratamento com produto à base de peróxidos verificaram que a água de equipos de consultórios particulares demandou mais tempo para atingir o padrão de potabilidade do que a de equipos da Universidade de Louisville e creditaram o problema à falta de adesão do pessoal auxiliar ao protocolo de desinfecção.

Sem se considerar o método ou a substância utilizada para a descontaminação das linhas d'água, uma premissa básica que não pode ser esquecida é que a água que sai do equipo não irá apresentar boa qualidade se a água utilizada para abastecê-lo for de qualidade ruim (MILLS, 2000).

A recomendação de dois dos maiores fabricantes de equipos odontológicos no Brasil (Dabi-Atlante e Kavo) é de que o abastecimento seja feito com água filtrada, mas esta recomendação parece muito mais estar baseada na prevenção do entupimento de válvulas, mecanismos do equipo e peças de mão em função da remoção parcial de minerais da água filtrada, do que na preocupação com a qualidade da água.

Embora a água de torneira utilizada rotineiramente para o abastecimento dos equipos tenha apresentado excelente qualidade microbiológica durante todo o curso do experimento, sabe-se que mesmo água de tão bom padrão é suficiente para o desenvolvimento de biofilme no interior das mangueiras (MARAIS; BRÖZEL, 1999).

De acordo com Kettering et al. (2002), a seleção da fonte de água tem um papel fundamental na manutenção da qualidade da água após a desinfecção das mangueiras, uma vez que mesmo água com baixa contaminação encontra nas mangueiras um ambiente propício para a formação e proliferação de biofilme. Equipos tratados diariamente com gluconato de clorexidina a 0,12% e depois abastecidos com água destilada esterilizada, mantiveram a contagem de ufc/mL abaixo de duzentas durante as seis semanas de experimento, enquanto que equipos da mesma clínica, que receberam o mesmo tratamento, mas foram abastecidos com água de torneira, excederam em mais de 10.000 vezes a contaminação tolerada (KETTERING et al., 2002).

A desinfecção mensal não foi capaz de garantir, com os produtos testados, uma boa qualidade da água. Em alguns grupos, após uma semana já foi observada contaminação, o que leva à necessidade de se observar para estes produtos um protocolo mais freqüente de descontaminação, como por exemplo semanal. Walker et al. (2003) em uma extensa pesquisa, avaliou 21 produtos destinados à redução da contaminação da água de equipos odontológicos, comparando-os com a drenagem de água e utilizando um grupo controle

sem qualquer tratamento. Verificaram que o crescimento de biofilme podia ser reiniciado de sete a quatorze dias após a desinfecção e sugeriram que o tratamento semanal pode não ser suficiente para o controle da contaminação e que um protocolo diário ou de uso contínuo seria mais indicado. Entretanto, ponderaram que a aplicabilidade de um tratamento diário precisa ser avaliada em termos de tempo e pessoal necessários para a sua instituição e por outro lado, um tratamento contínuo selecionado precisa garantir que não haverá prejuízo para os procedimentos restauradores, nem toxicidade ou alergia em profissionais e pacientes, nem deterioração do equipamento. Um sistema automatizado com ciclos de desinfecção ou esterilização pré-programados em que o desinfetante é armazenado em reservatório próprio e compreende fases de drenagem do biocida, estagnação e enxágüe como descrito por Montebugnoli e Dolci (2000) poderia representar uma solução para o aspecto do número de pessoas necessário para a implementação de protocolos de descontaminação das mangueiras em clínicas com muitos equipos, como é o caso das Faculdades.

A sanitização das linhas de água de equipos odontológicos não pode ser avaliada apenas do ponto de vista microbiológico. Outros aspectos devem ser avaliados para que uma substância possa ser empregada para desinfecção, por exemplo a análise da presença de resíduos na água e sua compatibilidade com os materiais que compõem o equipo.

A fase de enxágüe das linhas após o tratamento é de extrema importância e precisa ser realizada de maneira criteriosa para que não restem resíduos de desinfetantes na água que será utilizada para o tratamento de pacientes. Isto porque, geralmente quando o tratamento é intermitente o desinfetante utilizado apresenta elevada concentração e a presença de resíduos pode levar a intoxicações de profissionais e pacientes por inalação, ingestão ou aspiração de aerossóis, determinar gosto ou odor desagradável na água ou interferir negativamente nos procedimentos restauradores.

A quantidade de água utilizada para a lavagem de cada linha (500,0mL), indicada para o produto Ster-4-spray, foi padronizada para as outras duas substâncias. Nos trabalhos que empregam agentes químicos, a fase de enxágüe das linhas é descrita em termos de volume, que varia de 150,0mL (BARBEAU et al., 1996) a 1000mL (LARSEN; FIEHN, 2003) e tempo, de trinta segundos (MONTEBUGNOLI; DOLCI, 2000) a dois minutos (WALKER et al., 2003).

A espectroscopia de luz ultravioleta, realizada neste trabalho, indicou que a drenagem realizada foi adequada uma vez que resíduos dos agentes desinfetantes não foram detectados. O único trabalho encontrado na literatura que analisou a presença de resíduos de biocida na água de equipos odontológicos após a desinfecção foi o de Montebugnoli e Dolci (2000), o que revela que este aspecto do tratamento não tem recebido a devida atenção por parte dos pesquisadores. Esta avaliação é de fundamental importância uma vez que é necessário garantir que a equipe odontológica e pacientes não sejam expostos a aerossóis tóxicos e que não haja risco de prejuízo nos procedimentos restauradores por interações químicas entre o desinfetante e os materiais odontológicos ou por contaminação dos tecidos dentários.

Segundo CRITCHLEY et al. (2001) a compatibilidade de um agente desinfetante com os materiais que compõem um sistema de linhas de água precisa ser averiguada, principalmente com relação aos componentes metálicos que são utilizados como conectores, e a conduta não deve ser diferente para equipos odontológicos. Isto se apresenta de fundamental importância porque se a substância sanitizante estiver promovendo corrosão dos componentes da rede, a água que é levada à boca do paciente poderá conter metais em quantidade que pode exceder o padrão de potabilidade estabelecido. Além disso, em função de uma possível deterioração dos equipamentos, quer seja das partes metálicas, quer seja das plásticas, que apresentam custo elevado, a desinfecção se tornaria inviável.

A legislação brasileira sobre a potabilidade da água (BRASIL, 2004) estabelece limites para apenas alguns dos elementos inorgânicos identificados nas amostras dos equipos, como Cu, Fe, Zn e Cl. A concentração detectada na água efluente apresentou-se dentro dos padrões de potabilidade, tanto antes, quanto logo após a 1ª desinfecção e depois de uma semana, não colocando em risco a saúde de pacientes e profissionais. Resultados semelhantes foram encontrados por Sherman et al. (1997) e Montebugnoli e Dolci (2000), embora com técnicas diferentes.

A técnica de fluorescência de raios X por reflexão total com luz síncrotron é uma técnica analítica sensível que permitiu a análise multielementar de elementos inorgânicos de $Z > 14$, mesmo quando estes elementos se encontravam a nível de traços (ppm, ppt).

Para os outros elementos detectados como Si, S, K, Ca e P não há regulamentação quanto a valores máximos permitidos no Brasil, nem nas regulamentações da Organização

Mundial da Saúde (OMS) ou de países desenvolvidos como Japão e EUA e Comunidade Européia.

Um resultado que chamou a atenção foi a concentração de Ni encontrada em algumas amostras, tanto de água de torneira, quanto dos equipos. Embora no Brasil não haja regulamentação quanto ao limite máximo de Ni permitido para a água de consumo, para a OMS (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2004), a água potável deve conter um máximo de 0,03mg/L de Ni, enquanto que para a Comunidade Européia este valor deve ser ainda mais baixo, 0,02mg/L. A água de torneira mostrou concentração de 0,03mg/L no dia da 1ª desinfecção e 0,02mg/L uma semana após. Já das médias das 24 amostras de água coletadas dos equipos, uma única apresentou-se com 0,02mg/L, seis com 0,03mg/L e dezessete acima dos padrões estabelecidos, chegando a quatro vezes o valor aceito pela OMS. A concentração de Ni em todas as amostras de água de Montebugnoli e Dolci (2000) após a descontaminação das mangueiras com glutaraldeído a 2% estava abaixo de 0,02mg/L, mas Sherman et al. (1997) também detectaram valores impróprios do elemento em quinze das dezoito amostras analisadas.

O Ni é um metal considerado carcinogênico para o homem, embora exista falta de evidência de risco por exposição oral. Entretanto, aumentos na mortalidade perinatal dose-relacionadas foram observados em estudos conduzidos em ratos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2004).

A origem dos elevados níveis de contaminação por Ni nestas amostras não é clara, mas é importante considerar que o biofilme presente nas mangueiras pode agir como uma esponja captadora e concentradora de elementos presentes na água utilizada para o abastecimento e nos próprios desinfetantes utilizados e que podem ser paulatinamente liberados. Sherman, Mills e Plamondon (1995) avaliaram a presença de elementos inorgânicos no próprio biofilme de linhas de água de equipos odontológicos e encontraram depósitos de Ni, Zn, Cu, Fe, Si e Al, entre outros.

Quando se discute a ação dos agentes sobre os metais componentes do circuito de mangueiras dos equipos, embora sua concentração tenha apresentado variações após a introdução dos desinfetantes nas linhas, a existência ou não de corrosão, caracterizada pelo aumento de Cu e Fe, ou a dissolução de ligas contendo Ni e Zn só poderia ser comprovada por um estudo a longo prazo e que levasse em consideração o fato de que os próprios microrganismos do biofilme causam biocorrosão (LO et al., 1996). Das substâncias

testadas o Ster-4-spray por ser um ácido apresenta grande potencial oxidante, sendo capaz de promover corrosão em ferro galvanizado, cobre, latão e bronze, mas apresenta em sua formulação agentes anti-corrosivos (ITALIAN DENTAL ASSOCIATION, 2000).

De acordo com McDowell, Paulson e Mitchell (2004) os métodos destinados à melhoria da qualidade da água de equipos odontológicos podem ser classificados em preventivos e de remediação.

Os tratamentos até hoje preconizados tem sido de remediação dos altos níveis de contaminação e de um biofilme já instalado. Assim, é coerente considerar que métodos que previnam a formação do biofilme desde a instalação dos equipos podem ser mais bem sucedidos.

Idealmente o tratamento preventivo deveria impedir o desenvolvimento do biofilme e oferecer proteção contínua, inclusive nos períodos de não uso, como os fins de semana e período noturno (MCDOWELL; PAULSON; MITCHELL, 2004).

A solução a longo prazo para o problema da contaminação da água e formação de biofilme nas linhas d'água pode ser a modificação do design do sistema de mangueiras dos equipos, evitando-se a estagnação de água e o desenvolvimento de novos materiais que impeçam a adesão microbiana. Dentro desta filosofia, a educação dos profissionais e a cooperação entre indústria, cirurgiões-dentistas e microbiologistas é fundamental para o progresso científico e tecnológico na compreensão e controle dos biofilmes.

7. CONCLUSÕES

Os dados obtidos permitem concluir que:

- A água efluente dos equipos apresenta qualidade inaceitável para o tratamento odontológico, assim como as manguueiras encontram-se colonizadas por biofilme;
- Os tratamentos instituídos foram capazes de manter a qualidade dentro dos padrões da ADA transitoriamente, retornando aos patamares iniciais poucos dias após;
- O produto Amonex T.A. foi capaz de remover o biofilme do lumen da manguueira;
- A recontaminação da água e a recolonização das linhas d'água por biofilme é um processo dinâmico, que ocorre rapidamente se o protocolo de desinfecção é descontinuado;
- Após os procedimentos de enxágüe das linhas não foi possível detectar resíduos dos desinfetantes;
- A concentração de elementos inorgânicos na água efluente apresentou-se dentro dos limites aceitáveis para consumo humano, exceto para o níquel.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABEL, L. C.; MILLER, R. L.; MICK, R. E.; RYGE, G. Studies on dental aerobiology: IV. Bacterial contamination of water delivered by dental units. **J. Dent. Res.**, Chicago, v.50, n.6, p.1567-1569, Nov./Dec. 1971.

AGOSTINHO, A. M.; WATANABE, E.; MATSUMOTO, W.; ITO, I. Y. Dental unit water: the effect of flushing in old and new dental units. **J. Dent. Res.**, Chicago, v.82, n.6, p.B-79, Jun. 2003. Special Issue (IADR Abstracts).

AGUIAR, C. M.; PINHEIRO, J. T. Avaliação bacteriológica da qualidade da água utilizada nos equipos odontológicos. **Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.**, São Paulo, v.53, n.3, p.228-235, mai./jun. 1999.

AMERICAN DENTAL ASSOCIATION. Council on Dental Materials and Devices. Council on Dental Therapeutics. Infection control recommendations in the dental office. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.97, n.4, p.673-677, Oct. 1978.

AMERICAN DENTAL ASSOCIATION. Council on Scientific Affairs and ADA Council on Dental Practice. Infection control recommendations for the dental office and the dental laboratory. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.127, n.5, p.672-680, May 1996.

AMERICAN DENTAL ASSOCIATION. ADA statement on dental unit waterlines. Jul. 2004. Disponível em: <http://www.ada.org/prof/resources/positions/statements/lines.asp>. Acesso em: 16 set. 2003.

BARBEAU, J. Waterborne biofilms and dentistry: the changing face of infection control. **J. Can. Dent. Assoc.**, Ottawa, v.66, n.10, p.539-541, Nov. 2000.

BARBEAU, J.; NADEAU, C. Dental unit waterline microbiology: a cautionary tale. **J. Can. Dent. Assoc.**, Ottawa, v.63, n.10, p.775-779, Nov. 1997.

BARBEAU, J.; BUHLER, T. Biofilms augment the number of free-living amoebae in dental unit waterlines. **Res. Microbiol.**, New York, v.152, n.8, p.753-760, Oct. 2001.

BARBEAU, J.; GAUTHIER, C.; PAYMENT, P. Biofilms, infectious agents, and dental unit waterlines: a review. **Can. J. Microbiol.**, Ottawa, v.44, n.11, p.1019-1028, Nov. 1998.

BARBEAU, J.; TANGUAY, R.; FAUCHER, E.; AVEZARD, C.; TRUDEL, L.; CÔTÉ, L.; PRÉVOST, A. P. Multiparametric analysis of waterline contamination in dental units. **Appl. Environ. Microbiol.**, Washington, v.62, n.11, p.3954-3959, Nov. 1996.

* De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT)-NBR 6023, ago. 2000.

- BELOTI, V.; BARROS, M. A. F.; FREITAS, J. C.; NERO, L. A.; SOUZA, J. A.; SANTANA, E. H. W.; FRANCO, B. D. G. M. Frequency of 2,3,5-triphenylterazolium chloride (TTC) non-reducing bacteria in pasteurized milk. **Rev. Microbiol.**, São Paulo, v.30, n.2, p.137-140, Apr. 1999.
- BERNARDE, M. A.; SNOW, W. B.; OLIVIERI, V. P.; DAVIDSON, B. Kinetics and mechanism of bacterial disinfection by chlorine dioxide. **Appl. Microbiol.**, Washington, v.15, n.2, p.257-265, Mar. 1967.
- BLAKE, G. C. The incidence and control of bacterial infection in dental spray reservoirs. **Br. Dent. J.**, London, v.115, n.3, p.413-416, Nov. 1963.
- BLOCK, S. S. **Disinfection, sterilization and preservation**. 4.ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991. 1504p.
- BODEY, G. P. The emergence of fungi as major hospital pathogens. **J. Hosp. Infect.**, London, v.11, p.411-426, 1988. Supplement A.
- BRANNAN, D. K. Control of biofilms in manufacturing plant water systems. **Cosmet. Toiletries**, Carol Stream, v.115, n.5, p.59-65, May 2000.
- BRASIL. Ministério da Saúde. **Portaria nº 518 de 25 de março de 2004**. Estabelece os procedimentos e responsabilidades relativos ao controle e vigilância da qualidade da água para consumo humano e seu padrão de potabilidade e dá outras providências. Disponível em: <http://e-legis.bvs.br/leisref>. Acesso em: 13 abr. 2004.
- BRITISH DENTAL ASSOCIATION. **Infection control in dentistry**. Advice sheet A12, p.6, 2000.
- BRUNET, P.; BERLAND, Y. Water quality and complications of haemodialysis. **Nephrol. Dial. Transplant.**, Berlin, v.15, n.5, p.578-580, May 2000.
- BULL, R. J.; BIRNBAUM, L. S.; CANTOR, K. P.; ROSE, J. B.; BUTTERORTH, B. E.; PEGRAM, R.; TUOMISTO, J. Water chlorination: essential process or cancer hazard? **Fundam. Appl. Toxicol.**, Akron, v.28, n.2, p.155-166, Dec. 1995.
- CARDOSO, M. L.; FERREIRA, E. L.; VICENTE, V. A.; CARNEIRO, E. Qualidade microbiológica da água utilizada em turbinas de alta rotação em três condições clínicas diferentes. **Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.**, São Paulo, v.53, n.5, p.387-393, set./out. 1999.
- CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Recommended infection control practices for dentistry. **Morb. Mortal. Wkly. Rep.**, Atlanta, v.42, n.RR-8, p.1-12, Jun. 1993.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Guidelines for infection control in dental health-care settings-2003. **Morb. Mortal. Wkly. Rep.**, Atlanta, v.52, n.RR-17, p.1-168, Dec. 2003.

CHIÉRICE, G. O. **Projeto PADCT**: Pesquisa e desenvolvimento de biomateriais baseados em poliuretana derivada do óleo de mamona. Edital SNM02 194-04. São Carlos: Departamento de Química e Física Molecular. Instituto de Química de São Carlos, Universidade de São Paulo, 1994.

CLARK, K. A. Bacterial colonisation of dental units and the nasal flora of dental personnel. **Proc. R. Soc. Med.**, London, v.67, n.12, p.1269-1270, Dec. 1974.

COBB, C. M.; MARTEL, C. R.; McKNIGHT, S. A.; PASLEY-MOWRY, C.; FERGUSON, B. L.; WILLIAMS, K. How does time-dependent dental unit waterline flushing affect planktonic bacteria levels? **J. Dent. Educ.**, Washington, v.66, n.4, p.549-555, Apr. 2002.

CONSELHO FEDERAL DE ODONTOLOGIA. **Biossegurança**. Rio de Janeiro, 1999. 30p.

COSTERTON, J. W. Overview of microbial biofilms. **J. Ind. Microbiol.**, Amsterdam, v.15, n.3, p.137-140, Sep. 1995.

COSTERTON, J. W.; LEWANDOWSKI, Z.; CALDWELL, D. E.; KORBER, D. R.; LAPPIN-SCOTT, H. M. Microbial biofilms. **Annu. Rev. Microbiol.**, Palo Alto, v.49, p.711-745, 1995.

COSTERTON, J. W.; CHENG, K. J.; GEESEY, G. G.; LADD, T. I.; NICKEL, J. C.; DASGUPTA, M.; MARRIE, T. J. Bacterial biofilms in nature and disease. **Annu. Rev. Microbiol.**, Palo Alto, v.41, p.435-464, Oct. 1987.

CRITCHLEY, M. M.; CROAR, N. J.; McCLURE, N. FALLOWFIELD, H. J. Biofilms and microbially influenced cuprosolvency in domestic copper plumbing systems. **J. Appl. Microbiol.**, Oxford, v.91, n.4, p.646-651, Oct. 2001.

DAYOUB, M. B.; RUSILKO, D. J.; GROSS, A. A method of decontamination of ultrasonic scalers and high-speed handpieces. **J. Periodontol.**, Chicago, v.49, n.5, p.261-265, May 1978.

DOGGETT, M. S. Characterization of fungal biofilms within a municipal water distribution system. **Appl. Environ. Microbiol.**, Washington, v.66, n.3, p.1249-1251, Mar. 2000.

DONLAN, R. M.; COSTERTON, J. W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. **Clin. Microbiol. Rev.**, Washington, v.15, n.2, p.167-19, Apr. 2002.

DOUGLAS, C. W.; ROTHWELL, P. S. Evaluation of a dental unit with a built-in decontamination system. **Quintessence Int.**, Berlin, v.22, n.9, p.721-726, Sep. 1991.

DOUGLAS, C. W. I.; van NOORT, R. Control of bacteria in dental water supplies. **Br. Dent. J.**, London, v.174, n.5, p.167-174, Mar. 1993.

ELEAZER, P. D.; SCHUSTER, G. S.; WEATHERS, D. R. A chemical treatment regimen to reduce bacterial contamination in dental waterlines. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.128, n.5, p.617-623, May 1997.

ELVERS, K. T.; LEEMING, K.; MOORE, C. P.; LAPPIN-SCOTT, H. M. Bacterial-fungal biofilms in flowing waterphoto-processing tanks. **J. Appl. Microbiol.**, Oxford, v.84, n.4, p.607-618, Apr. 1988.

EPSTEIN, J. B.; DAWSON, J. R.; BUIIDS, I. A.; WONG, B.; LE, N. D. The effect of a disinfectant/coolant irrigant on microbes isolated from dental unit waterlines. **Spec. Care Dent.**, Chicago, v.22, n.4, p.137-141, Jul./Aug. 2002.

EUROPEAN UNION. **Council directive 98/83/EC on the quality of water intended for human consumption.** Adopted by the Council on November 3 1998. Disponível em: <http://www.dwi.gov.uk/papers/newreg.htm>. Acesso em: 14 set. 2003.

FANTINATO, V.; SILVA, M. V.; ALMEIDA, N. Q.; JORGE, A. O. C.; SHIMIZU, M. T. Exame bacteriológico da água em clínica odontológica. **Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent.**, São Paulo, v.46, n.4, p.829-831, jul./ago. 1992.

FAYLE, S. A.; POLLARD, M. A. Decontamination of dental unit water systems: a review of current recommendations. **Br. Dent. J.**, London, v.181, n.10, p.369-372, Nov. 1996.

FERREIRA, C. M.; BONIFÁCIO, K. C.; FRÖNER, I. C.; ITO, I. Y. Evaluation of the antimicrobial activity of three irrigating solutions in teeth with pulpal necrosis. **Braz. Dent. J.**, Ribeirão Preto, v.10, n.4, p.15-21, 1999.

FIEHN, N. -E.; HENRIKSEN, K. Methods of disinfection of the water system of dental units by water chlorination. **J. Dent. Res.**, Chicago, v.67, n.12, p.1499-1504, Dec. 1988.

FIEHN, N. -E.; LARSEN, T. The effect of drying dental unit waterline biofilms on the bacterial load of dental unit water. **Int. Dent. J.**, London, v.52, n.4, p.251-254, Aug. 2002.

FITZGIBBON, E. J.; BARTZOKAS, C. A.; MARTIN, M. V.; IBSON, M. F.; GRAHAM, R. The source, frequency and extent of bacterial contamination of dental unit water systems. **Br. Dent. J.**, London, v.157, n.3, p.98-101, Aug. 1984.

FOTOS, P. G.; WESTFALL, H. N.; SNYDER, I. S.; MILLER, R. W.; MUTCHER, B. M. Prevalence of *Legionella*-specific IgG and IgM antibody in a dental clinic population. **J. Dent. Res.**, Chicago, v.64, n.12, p.1382-1385, Dec. 1985.

GARVEY, L. H.; ROED-PETERSEN, J.; HUSUM, B. Anaphylatic reactions in anaesthetised patients- four cases of chlorhexidine allergy. **Acta Anaesthesiol. Scand.**, Copenhagen, v.45, n.10, p.1290-1294, Nov. 2001.

GROSS, A.; DEVINE, M. J.; CUTRIGHT, D. E. Microbial contamination of dental units and ultrasonic scalers. **J. Periodontol.**, Chicago, v.47, n.11, p.670-673, Nov. 1976.

HARF, C.; MONTEIL, H. Interactions between free-living amoebae and *Legionella* in the environment. **Water Sci. Technol.**, Oxford, v.20, n.3, p.235-239, 1988.

ITALIAN DENTAL ASSOCIATION. **Recent advances in dental research in Italy: the cross infection control in medical devices for dentistry.** Roma: Studio Fontana, 2000. v.2, 240p.

ITO, I. Y.; MIAN, H.; PIMENTA, F. C.; GONÇALVES M.; AGOSTINHO, A. M. "PetrifilmTM": evaluation of dental water quality. **J. Dent. Res.**, Chicago, v.79, n.5, p.1069, May 2000.

JAPAN. Ministry of Health, Labour and Welfare. **Annual report on health and welfare 1998-1999.** Disponível em: <http://www.jwwa.org.jp/water-e07.html>. Acesso em: 14 set. 2003.

JONES, E. B. G. Fungal adhesion. **Mycol. Res.**, Cambridge, p.961-981, 1994.

KARPAY, R. I.; PLAMONDON, T. J.; MILLS, S. E.; DOVE, S. B. Combining periodic and continuous sodium hypochlorite treatment to control biofilms in dental unit water systems. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.130, n.7, p.957-965, Jul. 1999.

KELLETT, M.; HOLBROOK, W. P. Bacterial contamination of dental handpieces. **J. Dent.**, Bristol, v.8, n.3, p.249-253, Sep. 1980.

KETTERING, J. D.; STEPHENS, J. A.; MUNOZ-VIVEROS, C. A.; NAYLOR, W. P. Reducing bacterial counts in dental unit waterlines: tap waters vs. distilled water. **J. Contemp. Dent. Pract.**, Cincinnati, v.3, n.3, p.1-11, Aug. 2002.

KIM, P. J.; CEDERBERG, R. A.; PUTTAIAH, R. A pilot study of 2 methods for control of dental unit biofilms. **Quintessence Int.**, Berlin, v.31, n.1, p.41-48, Jan. 2000.

KOHNO, S.; KAWATA, T.; KAKU, M.; FUJITA, T.; TSUTSUI, K. OHTANI, J.; TENJO, K.; MOTOKAWA, M.; TOHMA, Y.; SHIGEKA, W. A. M.; KAMATA, H.; TANNE, K. Bactericidal effects of acidic electrolyzed water on dental unit waterline. **Jpn. J. Infect. Dis.**, Tokyo, v.57, n.2, p.52-54, Apr. 2004.

LARSEN, T.; FIEHN, N. -E. The effect of Sterilex Ultra^R for disinfection of dental unit waterlines. **Int. Dent. J.**, Lowestoft, v.53, n.4, p.249-254, Aug. 2003.

LEONARDO, M. R.; SILVA, L. A. B.; TANOMARU FILHO, M.; BONIFÁCIO, K. C.; ITO, I. Y. *In vitro* evaluation of the antimicrobial activity of a castor oil-based irrigant. **J. Endod.**, Chicago, v.27, n.12, p.717-719, Dec. 2001.

LINGER, J. B.; MOLINARI, J. A.; FORBES, W. C.; FARTHING, C. F.; WINGET, W. J. Evaluation of a hydrogen peroxide disinfectant for dental unit waterlines. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.132, n.9, p.1287-1291, Sep. 2001.

LO, W.; NELSON, Y. M.; LION, L. W.; SHULER, M. L.; GHIORSE, W. C. Determination of iron colloid size distribution in the presence of suspended cells: application to iron deposition onto a biofilm surface. **Water Res.**, Oxford, v.30, n.10, p.2413-2423, Oct. 1996.

LONGLEY, K. E.; MOORE, B. E.; SORBER, C. A. Comparison of chlorine and chlorine dioxide as disinfectants. **J. Water Pollut. Control Fed.**, Washington, v.52, p.2098-2105, 1980.

MACEDO, J. A. B. **Águas e águas**. São Paulo: Varela, 2001. 505p.

MAIA CAMPOS, G. M. **GMC**: pesquisa biológica [programa de computador]. Versão 2002. Disponível em: <http://www.forp.usp.br/restauradora/gmc/gmc.html>. Acesso em: 20 jul. 2004.

MARTIN, M. V. The significance of the bacterial contamination of dental unit water systems. **Br. Dent. J.**, London, v.163, n.5, p.152-154, Sep. 1987.

MARAIS, J. T. Investigations into the application of electrochemically activated water in dentistry. **S. A. D. J.**, Houghton, v.55, n.7, p.381-386, Jul. 2000.

MARAIS, J. T.; BRÖZEL, V. S. Electro-chemically activated water in dental unit water lines. **Br. Dent. J.**, London, v.187, n.3, p.154-158, Aug. 1999.

- MAYO, J. A.; BROWN, C. E. Effect of in-line bacteriological filters on numbers of heterotrophic bacteria in water emitted from non-autoclavable dental air-water syringes. **Am. J. Dent.**, San Antonio, v.12, n.5, p.256-260, Oct. 1999.
- MAYO, J. A.; OERTLING, K. M.; ANDRIEU, S. C. Bacterial biofilm: A source of contamination in dental air-water syringes. **Clin. Prev. Dent.**, Philadelphia, v.12, n.2, p.13-20, Jun./Jul. 1990.
- McDOWELL, J. W.; PAULSON, D. S.; MITCHELL, J. A. A simulated-use evaluation of a strategy for preventing biofilm formation in dental unit waterlines. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.135, n.6, p.799-805, Jun. 2004.
- MEILLER, T. F.; BAQUI, A.; DEPAOLA, L.; OVERHOLSER, C. D. Disinfection of dental unit waterlines using Listerine antiseptic. **J. Dent. Res.**, Chicago, v.74, p.153, 1995. Special Issue-Abstracts.
- MEILLER, T. F.; KELLEY, J. I.; ZHANG, M.; DEPAOLA, L. G. Efficacy of A-dec's ICX™ dental unit waterline treatment solution in the prevention and treatment of microbial contamination in dental units. **J. Clin. Dent.**, Yardley, v.15, n.1, p.17-21, 2004.
- MEILLER, T. F.; DEPAOLA, L. G.; KELLEY, J. I.; BAQUI, A. A. M. A.; TURNG, B. F.; FALKLER JR, W. A. Dental unit waterlines: biofilms, disinfection and recurrence. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.130, n.1, p.65-72, Jan. 1999.
- MICHEL, R.; JUST, H. M. *Acanthamoebae*, *Naegleria* and other free-living amoebae in cooling and rinsing water of dental treatment units. **Zentralb. Bakteriolog. Mikrobiol. Hyg.**, Stuttgart, v.179, n.1, p.56-72, Mar. 1984.
- MILLER, L. A.; BEEBE, J. L.; BUTLER, J. C.; MARTIN, W.; BENSON, R.; HOFFMAN, R. E.; FIELDS, B. S. Use of polymerase chain reaction in epidemiological investigation of Pontiac fever. **J. Infect. Dis.**, Chicago, v.168, n.3, p.769-772, Sep. 1993.
- MILLS, S. E. The dental unit waterline controversy: defusing the myths, defining the solutions. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.131, n.9, p.1427-1441, Oct. 2000.
- MILLS, S. E. More about waterlines. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.132, n.2, p.142-144, Feb. 2001.
- MILLS, S. E. Waterborne pathogens and dental waterlines. **Dent. Clin. North Am.**, Philadelphia, v.47, n.3, p.545-557, Jul. 2003.
- MILLS, S. E.; KARPAY, R. I. Dental waterlines and biofilm-searching for solutions. **Compend. Cont. Educ. Dent.**, Jamesburg, v.23, n.3, p.237-258, Mar. 2002.

- MILLS, S. E.; LAUDERDALE, P. W.; MAYHEW, R. B. Reduction of microbial contamination in dental units with povidone-iodine 10%. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.113, n.2, p.280-284, Aug. 1986.
- MODESTO, C. E. F. **Amonex T.A.:** a importância do controle microbiológico. Manual técnico, 26p. 2000.
- MOGHADAM, B. K.; DRISKO, C. L.; GIER, R. E. Chlorhexidine mouthwash-induced fixed drug eruption: case report and review of the literature. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v.71, n.4, p.431-434, Apr. 1991.
- MONTEBUGNOLI, L.; DOLCI, G. Chemical evaluation of the biocompatibility of an automatic system for disinfecting dental unit waterlines. In: ITALIAN DENTAL ASSOCIATION. **Recent advances in dental research in Italy:** the cross infection control in medical devices for dentistry. Roma: Studio Fontana, 2000. V.2, p.135-138.
- MONTEBUGNOLI, L.; DOLCI, G. A new chemical formulation for control of dental unit water line contamination: an "in vitro" and "clinical" study. **B.M.C. Oral Health**, London, v.2, n.1, p.1-4, Mar. 2002.
- MONTEBUGNOLI, L.; CHERSONI, S.; PRATI, C.; DOLCI, G. A between-patient disinfection method to control water line contamination and biofilm inside dental units. **J. Hosp. Infect.**, London, v.56, n.4, p.297-304, Apr. 2004.
- MORRIS, G. K.; PATTON, C. M.; FEELEY, J. C.; JOHNSON, S. E.; GORMAN, G. Isolation of the Legionnaire's disease bacterium from environmental samples. **Ann. Intern. Med.**, Philadelphia, v.90, n.4, p.664-666, Apr. 1979.
- NAGY, L. A.; OLSON, B. H. The occurrence of filamentous fungi in drinking water distribution systems. **Can. J. Microbiol.**, Ottawa, v.28, n.6, p.667-671, Jun. 1982.
- NIEMI, R. M.; KNUTH, S.; LUNDSTRÖM, F. Actinomycetes and fungi in surface waters and in potable water. **Appl. Environ. Microbiol.**, Washington, v.43, n.2, p.378-388, Feb. 1982.
- NOCE, L.; DI GIOVANNI, D.; PUTNINS, E. E. An evaluation of sampling and laboratory procedures for determination of heterotrophic plate counts in dental unit waterlines. **J. Can. Dent. Assoc.**, Ottawa, v.66, n.5, p.262-268, May 2000.
- NUCCI, M.; AKITI, T.; BARREIROS, G. Nosocomial fungemia due to *Exophiala jeanselmei* var *jeanselmei* and *Rhinocladiella* species newly described causes of blood-stream infection. **J. Clin. Microbiol.**, Washington, v.39, n.2, p.514-518, Feb. 2001.

ORGANIZATION FOR SAFETY AND ASSEPSIS PROCEDURES. Biofilm and dental unit waterlines. **Infection control in practice**, Annapolis, v.3, n.2, p.1-6, Feb. 2004.

PANKHURST, C. L.; JOHNSON, N. W.; WOODS, R. G. Microbial contamination of dental unit waterlines: the scientific argument. **Int. Dent. J.**, London, v.48, n.4, p.359-368, Aug. 1998.

PARSEK, M. R.; SINGH, P. K. Bacterial biofilms: an emerging link to disease pathogenesis. **Annu. Rev. Microbiol.**, Palo Alto, v.57, p.677-701, 2003.

PÉREZ, C. A.; RADTKE, M.; SÁNCHEZ, H. J.; TOLENTINO, H.; NEUENSSHWANDER, R. T.; BARG, W.; RUBIO, M.; BUENO, M. I. S.; RAIMUNDO, I. M.; ROHWEDDER, J. R. Synchrotron radiation X-ray fluorescence at the LNLS: beamline instrumentation and experiments. **X-Ray Spectrom.**, Indianapolis, v.28, n.5, p.320-326, Sep./Oct.1999.

PETERS, E.; MCGAW, W. T. Dental unit water contamination. **J. Can. Dent. Assoc.**, Ottawa, v.62, n.6, p.494-495, Jun. 1996.

PORTEUS, N. B.; COOLEY, R. L. Reduction of bacterial levels in dental unit waterlines. **Quintessence Int.**, Carol Stream, v.35, n.8, p.630-634. Sep. 2004.

PORTEUS, N. B.; REDDING, S. W.; THOMPSON, E. H.; GROOTERS, A. M.; DEHOOG, S.; SUTTON, D. A. Isolation of an unusual fungus in treated dental unit waterline. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.134, n.7, p.853-858, Jul. 2003.

PREVOST, A. P.; ROBERT, M.; CHARLAND, R.; BARBEAU, J. Doctor, would you drink water from your dental unit? **N. Y. State Dent. J.**, New York, v.61, n.12, p.22-28, Dec. 1995.

PUTTAIAH, R.; CEDERBERG, R. A. Assessment of endotoxin levels in dental effluent water. **J. Dent. Res.**, Chicago, v.77, p.263, 1998. Special Issue A (AADR Abstracts).

PUTNINS, E. E.; DI GIOVANNI, D.; BHULLAR, A. S. Dental unit waterline contamination and its possible implications during periodontal surgery. **J. Periodontol.**, Chicago, v.72, n.3, p.393-400, Mar. 2001.

REED, C. E. ; MILTON, D. K. Endotoxin-simulated innate immunity: a contributing factor for asthma. **J. Allergy Clin. Immunol.**, St. Louis, v.108, n.2, p.157-166, Aug. 2001.

REINTHALER, F. F.; MASCHER, F.; STUNZNER, D. Serological examinations for antibodies against *Legionella* species in dental personnel. **J. Dent. Res.**, Chicago, v.67, p.942-943, 1988.

ROBERTS, H. W.; KARPAY, R. I.; MILLS, S. E. Dental unit waterline antimicrobial agents': effect on dentin bond strenght. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.131, n.2, p.179-183, Feb. 2000.

ROWLAND, B. M. Bacterial contamination of dental unit waterlines: what is your dentist spraying into your mouth? **Clin. Microbiol. Newsletter**, New York, v.25, n.10, p.73-77, May 2003.

SALVADOR, M. J.; DIAS, D. A.; MOREIRA, S.; ZUCCHI, O. L. A. Analysis of medicinal plants and crude extracts by synchrotron radiation total reflection X-ray fluorescence. **J. Trace Microprobe Tech.**, New York, v.21, n.2, p.377-388, 2003.

SANTOS, J. M. **Microscopia eletrônica de varredura aplicada às Ciências Biológicas**. Jaboticabal: FUNEP/CAVJ (UNESP), 1992. 27p. (Apostila).

SANT'ANA, A. S.; CONCEIÇÃO, C.; AZEREDO, D. R. P. Comparação entre os métodos rápidos Simplate[®] TCI-CI e Petrifilm[®] AC e os métodos convencionais de contagem em placas, para a enumeração de aeróbios mesófilos em sorvetes. **Rev. Hig. Aliment.**, São Paulo, v.16, n.95, p.82-87, abr. 2002.

SÃO PAULO (Estado). Resolução SS-15 de 18 de janeiro de 1999. Aprova norma técnica que estabelece condições para a instalação e funcionamento de estabelecimento de assistência odontológica e dá providências correlatas. **Diário Oficial do Estado de São Paulo**, São Paulo, 20 jan. 1999. Seção I, v.109, n.13, p.21.

SCAT, Y.; MORIN, Y.; MOREL, C.; HAUT, J. Retinal vein occlusion and resistance to activated protein C. **J. Fr. Ophthalmol.**, Paris, v.18, n.12, p.758-762, 1995.

SCHEID, R. C.; KIM, C. K.; BRIGHT, J. S.; WHITELY, M. S.; ROSEN, S. Reduction of microbes in handpieces by flushing before use. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.105, n.10, p.658-660, Oct. 1982.

SCHULZE-RÖBBECKE, R.; FELDMANN, C.; FISCHEDER, R. JANNING, B.; EXNER, M.; WAHL, G. Dental units: an environmental study of sources of potentially pathogenic mycobacteria. **Tuber. Lung Dis.**, Edinburgh, v.76, n.4, p.38-323, Aug. 1995.

SERIKAKU, D.; OHARA, M. T.; KANEKO, T. M.; BOUCHACRA, N. A. Novo método de controle microbiológico de cosméticos. **Cosmet. Toiletries**, São Paulo, v.11, p.54-56, mar./abr. 1999.

SHEARER, B. G. Biofilm and the dental office. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.127, n.2, p.181-189, Feb. 1996.

SHEPHERD, P. A.; SHOJAEI, M. A.; ELEAZER, P. D. van STEWART, A. Clearance of biofilms from dental unit waterlines through the use of hydroperoxide ion-phase transfer catalysts. **Quintessence Int.**, Berlin, v.32, n.10, p.755-761, Nov./Dec. 2001.

SHERMAN, L. R.; MILLS, S. E.; PLAMONDON, T. J. Identification of mineralization in clean and biofilm contaminated dental unit water lines. **J. Pa. Acad. Sci.**, Easton, v.69, n.1, p.31-34, Jan. 1995.

SHERMAN, L. R.; NEMETH, J. F.; MILLS, S. E.; PLAMONDON, T. J.; PUTTAIAH, R.; KARPAY, R. I. Metal analyses of dental unit water systems. **Microchem. J.**, New York, v.56, n.1, p.130-137, May 1997.

SIEGEL, S. **Estatística não paramétrica para a ciência do comportamento**. São Paulo: McGraw-Hill do Brasil, 1975. 372p.

SMITH, A. J.; McHUGH, S.; AITKEN, I.; HOOD, J. Evaluation of efficacy of Alpron disinfectant for dental unit water lines. **Br. Dent. J.**, London, v.193, n.10, p.593-596, Nov. 2002.

SOUZA-GUGELMIN, M. C. M.; LIMA, C. D. T.; LIMA, S. N. M.; MIAN, H.; ITO, I. Y. Microbial contamination in dental unit waterlines. **Braz. Dent. J.**, Ribeirão Preto, v.14, n.1, p.55-57, Mar. 2003.

STAMPI, S.; ZANETTI, F.; BERGAMASCHI, A.; DE LUCA, G. *Comamonas acidovorans* contamination of dental unit waters. **Lett. Appl. Microbiol.**, Washington, v.29, n.1, p.52-55, Jul. 1999.

STEWART, P. S. Theoretical aspects of antibiotic diffusion into microbial biofilms. **Antimicrob. Agents Chemoter.**, Washington, v.40, n.11, p.2517-2522, Nov. 1996.

STEWART, P. S. A review of experimental measurements of effective diffusive permeabilities and effective diffusion coefficients in biofilms. **Biotechnol. Bioeng.**, New York, v.59, n.3, p.261-272, Aug. 1998.

STEWART, P. S.; ROE F.; RAYNER, J.; ELKINS, J. G.; LEWANDOWISKI, Z.; OCHSNER, U. A.; HASSETT, D. J. Effect of catalase on hydrogen peroxide penetration into *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. **Appl. Environ. Microbiol.**, Washington, v.66, n.2, p.836-838, Feb. 2000.

STOODLEY, P.; BOYLE, J. D.; LAPPIN-SCOTT, H. M. Biofilm structure and behavior: influence of hydrodynamics and nutrients. In: STOODLEY, P.; BOYLE, J. D.; LAPPIN-

- SCOTT, H. M. **Dental plaque revisited: oral biofilms in health and disease**. London, Cardiff: Bioline, 1999. p. 63-72.
- STOODLEY, P.; SAUER, K.; DAVIES, D. G.; COSTERTON, J. W. Biofilms as complex differentiated communities. **Annu. Rev. Microbiol.**, London, v.56, n.1, p.187-209, Apr. 2002.
- SUTHERLAND, I. W. Microbial exopolysaccharides: their role in microbial adhesion in aqueous systems. **Crit. Rev. Microbiol.**, Boca Raton, v.10, n.2, p.173-201, 1983.
- SZYMANSKA, J. Biofilm and dental unit waterlines. **Ann. Agric. Environ. Med.**, Lublin, v.10, n.2, p.151-157, 2003.
- TALL, B. D.; WILLIAMS, H. N.; GEORGE, K. S.; GRAY, R. T.; WALCH, M. Bacterial succession within a biofilm in water supply lines of dental air-water syringes. **Can. J. Microbiol.**, Ottawa, v.41, n.7, p.647-654, Jul. 1995.
- TONETTI-EBERLE, B.; PAULI-UHLMAN, A.; MOMBELLI, A. Quality of water of dental units: a survey in the region of Berne, Switzerland. **Schweiz. Monatsschr. Zahnmed.**, Zurich, v.111, n.10, p.1160-1164, 2001.
- UNITED STATES OF AMERICA. Environmental Protection Agency. Office of ground water and drinking water. **Current drinking water standards**. May 2000. Disponível em: <http://www.epa.gov/safewater.regs.html>. Acesso em: 14 set. 2003.
- Von FRAUNHOFER, J. A.; KELLEY, J. I.; DEPAOLA, L. G.; MEILLER, T. F. Effect of a dental unit treatment solution on composite-dentin shear bond strengths. **J Clin. Dent., Yardley**, v.15, n.1, p.28-32, 2004.
- WALKER, J. T.; BRADSHAW, D. J.; FULFORD, M. R.; MARSH, P. D. Microbiological evaluation of a range of disinfectant products to control mixed-species biofilm contamination in a laboratory model of a dental unit water system. **Appl. Environ. Microbiol.**, Washington, v.69, n.6, p.3327-3332, Jun. 2003.
- WALKER, J. T.; BRADSHAW, D. J.; BENNETT, A. M.; FULFORD, M. R.; MARTIN, M. V.; MARSH, P. D. Microbial biofilm formation and contamination of dental-unit water systems in general dental practice. **Appl. Environ. Microbiol.**, Washington, v.66, n.8, p.3363-3367, Aug. 2000.
- WATANABE, E.; AGOSTINHO, A. M.; PIMENTA, F. C.; MATSUMOTO, W.; ITO, I. Y. Dental unit water contamination level assessment. **J. Dent. Res.**, Chicago, v.80, n.3, p.621, Mar. 2001. Special Issue (IADR Abstracts).
- WHITEHOUSE, R. L. S.; PETERS, E.; LIZOTTE, J.; LILGE, C. Influence of biofilms on

microbial contamination in dental unit water. **J. Dent.**, Bristol, v.19, n.5, p.290-295, Oct. 1991.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Guidelines for drinking water**. 2004. Disponível em: http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq3/en/. Acesso em: 2 set. 2004.

WICKI, J.; DELUZE, C.; CIRAFICI, L.; DESMEULER, J. Anaphylatic shock induced by intraurethral use of chlorhexidine. **Allergy**, Copenhagen, v.54, n.7, p.768-769, Jul. 1999.

WILLIAMS, J. F.; JOHNSTON, A. M.; JOHNSON, B.; HUNTINGTON, M. K.; MACKENZIE, C. D. Microbial contamination of dental unit waterlines: prevalence, intensity and microbiological characteristics. **J. Am. Dent. Assoc.**, Chicago, v.124, n.10, p.59-65, Oct. 1993.

WIRTHLIN, M. R.; MARSHALL JR, G. Evaluation of ultrasonic scaling unit waterline contamination after use of chlorine dioxide mouthrinse lavage. **J. Periodontol.**, Chicago, v.72, n.3, p.401-410, Mar. 2001.

WIRTHLIN, M. R.; MARSHALL JR, G.; ROWLAND, R.; W. Formation and decontamination of biofilms in dental unit waterlines. **J. Periodontol.**, Chicago, v.74, n.11, p.1595-1609, Nov. 2003.

YUSOF, W. Z.; KHOO, S. P. Mucosal sensitivity to chlorhexidine mouthwash. **Singapore Dent. J.**, Singapore, v.13, n.1, p.39-40, Dec. 1988.

ZANETTI, F.; DE LUCA, G.; TARLAZZI, P.; STAMPI, S. Decontamination of dental unit water systems with hydrogen peroxide. **Lett. Appl. Microbiol.**, Washington, v.37, n.3, p.201-206, 2003.

ZANETTI, F.; STAMPI, S.; DE LUCA, G.; FATEH-MOGHADAM, P.; BUCCI SABATTINI, M. A.; CHECCHI, L. Water characteristics associated with the occurrence of *Legionella pneumophila* in dental units. **Eur. J. Oral Sci.**, Copenhagen, v.108, n.1, p.22-28, Feb. 2000.

9. APÊNDICE A

Tabela 1- Número de unidades formadoras de colônia de bactérias aeróbias por mililitro(ufc/mL) de água de equipamentos do Grupo controle.

Equipo		B	PT ₁	1S ₁	2S ₁	3S ₁	4S ₁	PT ₂	1S ₂	2S ₂	3S ₂	4S ₂
1	Seringa	1,29.10 ⁵	0	40	2,93.10 ²	6,15.10 ⁴	9,8.10 ⁴	0	1,35.10 ²	1,42.10 ²	5,13.10 ²	8,46.10 ²
	Alta rotação	2,42.10 ²	0	0	3,00.10 ³	3,85.10 ³	8,4. 10 ³	0	0	23	2,60.10 ²	6,58.10 ²
2	Seringa	3,65.10 ³	0	0	31	1,33.10 ⁴	1,76.10 ⁴	0	4,30.10 ²	5,60.10 ²	2,20.10 ³	3,71.10 ³
	Alta rotação	7,30.10 ²	0	0	25	9,86.10 ³	7,7.10 ⁴	0	0	48	1,38.10 ²	7,27.10 ²
3	Seringa	5,30.10 ⁴	0	0	44	1,01.10 ⁴	1,2.10 ⁴	0	0	3,25.10 ²	1,17.10 ³	2,36.10 ⁴
	Alta rotação	1,85.10 ³	0	0	1,33.10 ²	7,10.10 ³	2,2.10 ⁶	0	1,25.10 ²	1,92.10 ²	2,56.10 ⁵	3,19.10 ⁵

B: *baseline*; PT₁: após a 1^a desinfecção; 1S₁: 1 semana após a 1^a desinfecção; 2S₁: 2 semanas após a 1^a desinfecção; 3S₁: 3 semanas após a 1^a desinfecção; 4S₁: 4 semanas após a 1^a desinfecção; PT₂: após a 2^a desinfecção; 1S₂: 1 semana após a 2^a desinfecção; 2S₂: 2 semanas após a 2^a desinfecção; 3S₂: 3 semanas após a 2^a desinfecção; 4S₂: 4 semanas após a 2^a desinfecção.

Tabela 2- Número de unidades formadoras de colônia de fungos e leveduras por mililitro(ufc/mL) de água de equipamentos do Grupo controle.

Equipo	B	PT ₁	1S ₁	2S ₁	3S ₁	4S ₁	PT ₂	1S ₂	2S ₂	3S ₂	4S ₂
1	Seringa	2,0.10 ²	0	0	9	3,0.10 ²	1	0	0	0	0
	Alta rotação	0	0	0	4	21	0	0	0	0	0
2	Seringa	0	0	0	0	5	1	0	0	0	0
	Alta rotação	25	0	0	1	35	0	0	1	0	8
3	Seringa	0	0	0	0	0	0	0	0	1,01.10 ²	2,27.10 ²
	Alta rotação	3,8.10 ²	0	0	2,09.10 ²	8	0	0	0	21	71

B: *baseline*; PT₁: após a 1^a desinfecção; 1S₁: 1 semana após a 1^a desinfecção; 2S₁: 2 semanas após a 1^a desinfecção; 3S₁: 3 semanas após a 1^a desinfecção; 4S₁: 4 semanas após a 1^a desinfecção; PT₂: após a 2^a desinfecção; 1S₂: 1 semana após a 2^a desinfecção; 2S₂: 2 semanas após a 2^a desinfecção; 3S₂: 3 semanas após a 2^a desinfecção; 4S₂: 4 semanas após a 2^a desinfecção.

Tabela 3- Número de unidades formadoras de colônia de bactérias aeróbias por mililitro(ufc/mL) de água de equipamentos do Grupo detergente de mamona.

Equipo	B	PT ₁	1S ₁	2S ₁	3S ₁	4S ₁	PT ₂	1S ₂	2S ₂	3S ₂	4S ₂	
4	Seringa	1,98.10 ³	2,94.10 ⁴	6,20.10	6,50.10 ⁴	2,50.10 ⁵	2,70.10 ⁷	25	2,50.10 ²	3,24.10 ²	5,20.10 ³	4,40.10 ⁴
	Alta rotação	5,95.10 ²	4,00.10 ²	4,20.10 ³	7,00.10 ³	1,20.10 ⁴	2,12.10 ⁴	4	17	5,35.10 ²	2,10.10 ³	2,45.10 ³
5	Seringa	5,34.10 ⁴	2,10.10 ³	1,55.10 ⁴	2,54.10 ⁵	5,30.10 ⁶	5,9.10 ⁶	2	2,70.10 ²	3,10.10 ²	2,10.10 ⁴	2,70.10 ⁶
	Alta rotação	1,40.10 ³	1,59.10 ³	3,30.10 ³	1,10.10 ⁶	1,85.10 ⁶	3,50.10 ⁶	31	7,10.10 ⁴	6,30.10 ⁵	1,48.10 ⁷	1,85.10 ⁷
6	Seringa	2,35.10 ³	1,98.10 ³	3,95.10 ³	4,50.10 ⁴	2,20.10 ⁶	2,32.10 ⁸	9	65	1,52.10 ²	4,2.10 ³	1,86.10 ⁴
	Alta rotação	2,27.10 ³	1,08.10 ³	2,00.10 ³	5,30.10 ³	2,20.10 ⁴	2,63.10 ⁷	80	98	6,50.10 ²	2,40.10 ³	1,28.10 ⁴

B: *baseline*; PT₁: após a 1ª desinfecção; 1S₁: 1 semana após a 1ª desinfecção; 2S₁: 2 semanas após a 1ª desinfecção; 3S₁: 3 semanas após a 1ª desinfecção; 4S₁: 4 semanas após a 1ª desinfecção; PT₂: após a 2ª desinfecção; 1S₂: 1 semana após a 2ª desinfecção; 2S₂: 2 semanas após a 2ª desinfecção; 3S₂: 3 semanas após a 2ª desinfecção; 4S₂: 4 semanas após a 2ª desinfecção.

Tabela 4- Número de unidades formadoras de colônia de fungos e leveduras por mililitro(ufc/mL) de água de equipamentos do Grupo detergente de mamona.

Equipo		B	PT ₁	1S ₁	2S ₁	3S ₁	4S ₁	PT ₂	1S ₂	2S ₂	3S ₂	4S ₂
4	Seringa	0	18	27	0	1,94.10 ²	3,60.10 ²	4	5	14	19	9
	Alta rotação	0	8	16	0	1	30	1	1,55.10 ²	84	1,05.10 ²	7
5	Seringa	3	2	1,66.10 ²	6	5	3,64.10 ²	0	0	72	97	4
	Alta rotação	0	1	6	0	93	1,47.10 ²	1	33	1,94.10 ²	87	38
6	Seringa	0	22	0	0	0	0	0	3,26.10 ²	0	0	0
	Alta rotação	60	6	0	0	18	32	1	18	38	73	65

B: *baseline*; PT₁: após a 1^a desinfecção; 1S₁: 1 semana após a 1^a desinfecção; 2S₁: 2 semanas após a 1^a desinfecção; 3S₁: 3 semanas após a 1^a desinfecção; 4S₁: 4 semanas após a 1^a desinfecção; PT₂: após a 2^a desinfecção; 1S₂: 1 semana após a 2^a desinfecção; 2S₂: 2 semanas após a 2^a desinfecção; 3S₂: 3 semanas após a 2^a desinfecção; 4S₂: 4 semanas após a 2^a desinfecção.

Tabela 5- Número de unidades formadoras de colônia de bactérias aeróbias por mililitro(ufc/mL) de água de equipamentos do Grupo Amonex.

Equipo		B	PT ₁	1S ₁	2S ₁	3S ₁	4S ₁	PT ₂	1S ₂	2S ₂	3S ₂	4S ₂
7	Seringa	3,30.10 ²	0	0	30	4,20.10 ⁴	1,42.10 ⁶	0	1	10	9,92.10 ²	1,59.10 ³
	Alta rotação	1,51.10 ⁴	0	0	76	1,66.10 ⁵	2,35.10 ⁵	0	0	0	3,90.10 ³	9,61.10 ⁴
8	Seringa	1,10.10 ³	0	0	32	4,50.10 ³	6,90.10 ³	0	0	1,21.10 ²	1,63.10 ²	3,50.10 ²
	Alta rotação	2,16.10 ⁵	0	0	19	5,13.10 ³	1,78.10 ⁴	0	0	1	2,17.10 ²	3,80.10 ²
9	Seringa	3,38.10 ⁵	0	0	35	4,45.10 ³	8,95.10 ³	0	0	12	35	9,71.10 ²
	Alta rotação	3,94.10 ⁷	0	0	40	1,14.10 ⁴	1,50.10 ⁶	0	0	1	2,93.10 ²	3,57.10 ³

B: *baseline*; PT₁: após a 1ª desinfecção; 1S₁: 1 semana após a 1ª desinfecção; 2S₁: 2 semanas após a 1ª desinfecção; 3S₁: 3 semanas após a 1ª desinfecção; 4S₁: 4 semanas após a 1ª desinfecção; PT₂: após a 2ª desinfecção; 1S₂: 1 semana após a 2ª desinfecção; 2S₂: 2 semanas após a 2ª desinfecção; 3S₂: 3 semanas após a 2ª desinfecção; 4S₂: 4 semanas após a 2ª desinfecção.

Tabela 6- Número de unidades formadoras de colônia de fungos e leveduras por mililitro(ufc/mL) de água de equipamentos do Grupo Amonex.

Equipo	B	PT ₁	1S ₁	2S ₁	3S ₁	4S ₁	PT ₂	1S ₂	2S ₂	3S ₂	4S ₂	
7	Seringa	0	0	0	0	8	5	0	3	5	0	0
	Alta rotação	36	0	0	0	5	16	0	15	5	0	0
8	Seringa	1	0	0	0	2,74.10 ²	0	0	0	0	0	0
	Alta rotação	3,00.10 ²	0	0	0	4	0	0	0	0	0	0
9	Seringa	60	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0
	Alta rotação	1,60.10 ²	0	0	0	42	1	0	0	0	0	27

B: *baseline*; PT₁: após a 1^a desinfecção; 1S₁: 1 semana após a 1^a desinfecção; 2S₁: 2 semanas após a 1^a desinfecção; 3S₁: 3 semanas após a 1^a desinfecção; 4S₁: 4 semanas após a 1^a desinfecção; PT₂: após a 2^a desinfecção; 1S₂: 1 semana após a 2^a desinfecção; 2S₂: 2 semanas após a 2^a desinfecção; 3S₂: 3 semanas após a 2^a desinfecção; 4S₂: 4 semanas após a 2^a desinfecção.

Tabela 7- Número de unidades formadoras de colônia de bactérias aeróbias por mililitro(ufc/mL) de água de equipamentos do Grupo Ster-4-spray.

Equipo		B	PT ₁	1S ₁	2S ₁	3S ₁	4S ₁	PT ₂	1S ₂	2S ₂	3S ₂	4S ₂
10	Seringa	8,5.10 ²	0	0	0	4	3,20.10 ²	0	0	3,00.10 ²	4,37.10 ³	1,1.10 ⁵
	Alta rotação	3,23.10 ²	0	0	0	1,80.10 ²	3,80.10 ³	0	0	2,21.10 ²	7,00.10 ³	3,00.10 ⁴
11	Seringa	3,60.10 ³	0	0	0	1	2,15.10 ²	0	0	4,27.10 ²	6,00.10 ⁴	6,76.10 ⁶
	Alta rotação	6,54.10 ²	2	0	0	3,20.10 ²	1,30.10 ³	0	21	3,40.10 ²	5,30.10 ⁴	1,75.10 ⁷
12	Seringa	2,40.10 ²	1	0	0	3,27.10 ²	4,00.10 ³	0	13	1,43.10 ³	3,70.10 ⁵	1,22.10 ⁷
	Alta rotação	1,94.10 ³	2	0	0	1,90.10 ²	2,15.10 ³	0	14	4,50.10 ²	3,90.10 ⁴	2,70.10 ⁷

B: *baseline*; PT₁: após a 1ª desinfecção; 1S₁: 1 semana após a 1ª desinfecção; 2S₁: 2 semanas após a 1ª desinfecção; 3S₁: 3 semanas após a 1ª desinfecção; 4S₁: 4 semanas após a 1ª desinfecção; PT₂: após a 2ª desinfecção; 1S₂: 1 semana após a 2ª desinfecção; 2S₂: 2 semanas após a 2ª desinfecção; 3S₂: 3 semanas após a 2ª desinfecção; 4S₂: 4 semanas após a 2ª desinfecção.

Tabela 8- Número de unidades formadoras de colônia de fungos e leveduras por mililitro(ufc/mL) de água de equipos do Grupo Ster-4-spray.

Equipo		B	PT ₁	1S ₁	2S ₁	3S ₁	4S ₁	PT ₂	1S ₂	2S ₂	3S ₂	4S ₂
10	Seringa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Alta rotação	0	0	0	0	0	0	0	0	10	3,56.10 ²	2,11.10 ³
11	Seringa	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Alta rotação	9	3	0	19	74	1,01.10 ²	0	2	34	4,37.10 ²	1,34.10 ³
12	Seringa	0	0	0	3	10	1,33.10 ²	0	0	0	24	28
	Alta rotação	0	0	0	8	1,21.10 ²	1,29.10 ²	0	0	7	3,13.10 ²	1,40.10 ³

B: *baseline*; PT₁: após a 1^a desinfecção; 1S₁: 1 semana após a 1^a desinfecção; 2S₁: 2 semanas após a 1^a desinfecção; 3S₁: 3 semanas após a 1^a desinfecção; 4S₁: 4 semanas após a 1^a desinfecção; PT₂: após a 2^a desinfecção; 1S₂: 1 semana após a 2^a desinfecção; 2S₂: 2 semanas após a 2^a desinfecção; 3S₂: 3 semanas após a 2^a desinfecção; 4S₂: 4 semanas após a 2^a desinfecção.