



**UNIVERSIDADE EVANGÉLICA DE GOIÁS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**

VITÓRIA ALCÂNTARA BORGES NAVES

**EFEITO DE AGENTES DESINFECTANTES SOBRE BIOFILME FORMADO
EM GUIAS DE CORES DENTÁRIAS**

Anápolis-GO

2026

VITÓRIA ALCÂNTARA BORGES NAVES

**EFEITO DE AGENTES DESINFECTANTES SOBRE BIOFILME FORMADO
EM GUIAS DE CORES DENTÁRIAS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Evangélica de Goiás - UniEVANGÉLICA, para obtenção do título de Mestre em Odontologia, na área de Clínica Odontológica.

Orientadora: Prof.^a Dra. Cyntia R. A. Estrela.

Anápolis-GO

2026

N323

Naves, Vitória Alcântara Borges .

Avaliação de diferentes protocolos para remoção de resina após a descolagem de braquetes./ Vitória Alcântara Borges Naves - Anápolis: Universidade Evangélica de Goiás, 2026.

40 p.; il.

Orientadora: Prof^a. Dra. Cyntia R. A. Estrela.

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós - Graduação em Odontologia – Universidade Evangélica de Goiás, 2026.

1. Desinfecção 2. Álcool a 70% 3. Ácido peracético a 0,2%; 4. Hipoclorito de sódio a 1% 5. Biofilme. 6. Candida albicans 7. Streptococcus mutans 8. Guias de curso odontológico I Estrela, Cyntia R. A. II Tóledo

Catálogo na Fonte

Elaborado por Hellen Lisboa de Souza CRB1/1570



ASSOCIAÇÃO EDUCATIVA
EVANGÉLICA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

FOLHA DE APROVAÇÃO

EFEITO DE AGENTES DESINFECTANTES SOBRE O BIOFILME FORMADO EM GUIAS
DE CORES DENTÁRIAS

Vitória Alcantara Borges Naves

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Evangélica de Goiás como requisito parcial à obtenção do grau de **MESTRE**.

APROVADA EM 06 DE JUNHO DE 2026.

LINHA DE PESQUISA: TÉCNICAS, MATERIAIS E SUBSTÂNCIAS DE APLICAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL EM ODONTOLOGIA

BANCA EXAMINADORA

O Dr. Cyntia Rodrigues de Araújo Estrela

EI Dr. Orlando Aguirre Guedes

EE Dr. Giuliano Caixeta Serpa

Cyntia Rodrigues Araújo Estrela

Orlando Aguirre Guedes

Giuliano Caixeta Serpa

O: Orientador(Presidente); EI: Examinador Interno; EE: Examinador Externo

Associação Educativa Evangélica

Avenida Universitária, Km 3,5 - Cidade Universitária | CEP: 75083-515 | Fone: 3310-6600 | CNPJ: 01.060.102/0001-65
"...grandes coisas fez o Senhor por nós, por isso estamos alegres." (Sl 126.3)



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

ATA DE DEFESA DE MESTRADO

Aos seis dias do mês de julho de dois mil e vinte e seis, às nove horas, reuniu-se a Banca Examinadora, designada pela Portaria nº 017/2026, para a sessão pública de julgamento da Defesa de Mestrado da discente **VITÓRIA ALCANTARA BORGES NAVES**, intitulada **EFEITO DE AGENTES DESINFECTANTES SOBRE BIOFILME FORMADO EM GUIAS DE CORES DENTÁRIAS**, vinculada à linha de pesquisa **TÉCNICAS, MATERIAIS E SUBSTÂNCIAS DE APLICAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL EM ODONTOLOGIA**, a referida banca foi presidida pelo Profa. Dra. Cyntia Rodrigues de Araújo Estrela (orientadora) e composta pelos examinadores titulares Prof. Dr. Orlando Aguirre Guedes (Interno) e Prof. Dr. Giuliano Caixeta Serpa (Externo – UniEVANGÉLICA), contando ainda com a suplência do Prof. Dr. Helder Fernandes de Oliveira (Interno). Após a exposição do trabalho pela candidata, procedeu-se à etapa de arguição e ao debate entre os examinadores e a discente, seguida da reunião da banca em sessão secreta para deliberação final. Reaberta a sessão pública, a presidente anunciou a **APROVAÇÃO** da candidata e declarou encerrados os trabalhos, dos quais, para constar, lavrou-se a presente ata que, após lida e conferida, segue assinada eletronicamente pelos membros da Banca Examinadora e por mim, Michelle Rosa Assunção Borges, secretária do programa de pós-graduação em Odontologia.

PARTICIPANTES:

- O Dra. Cyntia Rodrigues de Araújo Estrela
EI Dr. Orlando Aguirre Guedes
EE Dr. Giuliano Caixeta Serpa
S Michelle Rosa Assunção Borges

Cyntia Rodrigues Araújo Estrela

Orlando Aguirre Guedes

Giuliano Caixeta Serpa

Michelle Rosa Assunção Borges

O: Orientador(Presidente); EI: Examinador Interno; EE: Examinador Externo; S: Secretária

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar, agradeço a Deus e a Nossa Senhora, de quem sou devota, pois sinto que, pela graça e pela bondade infinita, pude participar desta etapa tão relevante em minha vida.

Aos meus pais, que foram, por toda a minha vida, verdadeiras fontes de inspiração, que estiveram sempre presentes com amor, apoio incondicional e palavras de encorajamento nos momentos mais desafiadores, além de se orgulharem de mim nessa trajetória, marcada por desafios e pela alegria de alcançar mais uma conquista.

Ao meu esposo, Gustavo, pelo incentivo, pela compreensão nos momentos de ausência, pelo companheirismo e pela fidelidade, que me deram paz e tranquilidade para realizar meus projetos.

À minha orientadora, Professora Dra. Cyntia R. A. Estrela, por ser fonte de inspiração, por me instruir e compartilhar seus ensinamentos, sempre exigindo o melhor de mim como sua orientada. Sua orientação foi imprescindível para que eu me tornasse mais dedicada e permanecesse em busca da excelência em meu trabalho.

À Associação Educativa Evangélica, por meio do Conselho de Administração, pelas oportunidades concedidas, que contribuíram para o meu aprendizado e crescimento profissional.

Aos professores do Programa de Mestrado, que sempre estiveram empenhados em proporcionar conhecimento e orientação para a construção de uma investigação metódica, rigorosa e comprometida com a formação acadêmica.

EPÍGRAFE

“Faça o que puder, com o que tiver, onde estiver.”

Theodore Roosevelt

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	12
2. REFERENCIAL TEÓRICO.....	13
2.1 CONTROLE DE INFECÇÃO EM ODONTOLOGIA	13
2.2 CLASSIFICAÇÃO DOS ÍTENS SEGUNDO <i>SPAULDING</i>	14
2.3 ESTRATÉGIAS PARA O CONTROLE DE INFECÇÃO.....	15
2.4 PRINCIPAIS SOLUÇÕES DESINFECTANTES EMPREGADAS NA ODONTOLOGIA.....	16
2.4.1 Álcool	17
2.4.2 Hipoclorito de sódio.....	17
2.4.3 Ácido peracético.....	18
2.5 GUIAS DE CORES DENTÁRIAS E BIOFILME DE <i>CANDIDA ALBICANS</i> E <i>STREPTOCOCCUS MUTANS</i>	19
2.6 DESINFECÇÃO DAS GUIAS EM CLÍNICAS DE GRADUAÇÃO	20
2.7 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA	22
3. OBJETIVOS.....	22
3.1 OBJETIVO GERAL.....	23
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
4. HIPÓTESE	23
5. MATERIAL E MÉTODOS	23
5.1 INDICADORES BIOLÓGICOS	23
5.2 AGENTES DESINFECTANTES	24
5.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	25
5.3.1 Teste de difusão em ágar	25
5.3.2 Teste de exposição direta	26
5.3.3 Ação antimicrobiana sobre biofilme formado nas guias de cores dentárias	27
5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	28
6. RESULTADOS.....	28
7. DISCUSSÃO	31
8. CONCLUSÃO	37
REFERÊNCIAS.....	39

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Sigla/símbolo	Significado	Sigla/símbolo	Significado
%	Porcentagem	®	Marca registrada
°C	Grau Celsius	AM	Amazonas
ANOVA	Análise de variância	ATCC	American Type Culture Collection
BHI	Brain Heart Infusion	BHIa	Brain Heart Infusion Agar
BR	Brasil	<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
EPI	Equipamento de proteção individual	EPIs	Equipamentos de proteção individual
EPA	Environmental Protection Agency	EUA	Estados Unidos da América
FDA	Food and Drug Administration	GO	Goiás
IL	Illinois	IRAS	Infecções relacionadas à assistência à saúde
LB	Lethen Broth	MI	Michigan
mL	Mililitro	mm	Milímetro
NaOCl	Hipoclorito de sódio	nm	Nanômetro
N95	Respirador N95	nº	Número
P.A.	Para análise	p	Probabilidade estatística
pH	Potencial hidrogeniônico	<i>S. mutans</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
S/A	Sociedade anônima	SP	São Paulo
TM	Trademark	USA	United States of America
UV	Ultravioleta	VITA	VITA Classical Shade Guide

RESUMO

Este estudo avaliou a ação antimicrobiana do álcool etílico a 70%, hipoclorito de sódio a 1% e ácido peracético a 0,2% sobre *Candida albicans*, *Streptococcus mutans* e a mistura desses microrganismos. Foram realizadas três metodologias. No teste de difusão em ágar, placas de Petri com BHIa foram inoculadas com a suspensão microbiana, seguida da colocação de discos de papel com 4 mm de diâmetro embebidos nas substâncias analisadas. No teste de exposição direta, pontas de papel absorventes esterilizadas foram imersas nas suspensões de microrganismos por 5 minutos e posteriormente cobertas com uma das substâncias testadas. Em intervalos de 1, 5 e 10 minutos, pontas de papel absorventes foram retiradas do contato com as substâncias teste, imersas em Letheen Broth e incubadas a 37°C por 48 horas e avaliação do crescimento microbiano pela turbidez do meio de cultura e pela densidade ótica por meio do espectrofotômetro UV. Para a avaliação da ação antimicrobiana sobre biofilme, as guias de cores dentárias foram esterilizadas e posteriormente foi formado biofilme com a mistura das cepas durante o período de 7 dias. As amostras foram distribuídas aleatoriamente e, para cada grupo experimental, as guias foram pulverizadas com a solução analisada por 6 minutos, para posterior limpeza com gaze esterilizada. As amostras foram imersas em 5 mL de Letheen Broth e incubadas por 48 horas a 37°C, seguido de repique e incubação nas mesmas condições e, na sequência, a avaliação do crescimento microbiano. A análise estatística foi realizada com o emprego do software SigmaPlot 12.0TM (Chicago, IL, USA), pelos testes Shapiro-Wilk, ANOVA on Ranks e ANOVA, sendo que estes testes foram seguidos pelo pós-teste de Tukey. Os resultados foram considerados estatisticamente significantes quando a probabilidade foi inferior a 5% ($p < 0,05$). Nos testes antimicrobianos empregados nesse estudo o ácido peracético a 0,2% apresentou os melhores resultados seguido pelo hipoclorito de sódio a 1%, enquanto o álcool a 70% foi menos efetivo.

PALAVRAS-CHAVE: Desinfecção; Álcool a 70%, Ácido peracético a 0,2%; Hipoclorito de sódio a 1%, Biofilme; *Candida albicans*; *Streptococcus mutans*; Guias de cores dentárias.

ABSTRACT

This study evaluated antimicrobial activity of 70% ethyl alcohol, 1% sodium hypochlorite, and 0.2% peracetic acid against *Candida albicans*, *Streptococcus mutans* and the mixture of these microorganisms. Three methodologies were employed. In the agar diffusion test, Petri dishes containing BHI agar were inoculated with the microbial suspension, followed by the placement of 4-mm diameter paper discs soaked in the substances under analysis. In the direct exposure test, sterilized absorbent paper points were immersed in the microorganism suspensions for 5 minutes and subsequently covered with one of the test substances. At intervals of 1, 5, and 10 minutes, the absorbent paper points were removed from contact with the test substances, immersed in Letheen Broth, and incubated at 37°C for 48 hours; microbial growth was assessed via culture medium turbidity and optical density using a UV spectrophotometer. To evaluate antimicrobial activity against biofilm, dental shade guides were sterilized, and a biofilm was subsequently formed using the mixture of strains over a 7-day period. The samples were randomly distributed; for each experimental group, the guides were sprayed with the test solution for 6 minutes, followed by cleaning with sterile gauze. The samples were immersed in 5 mL of Letheen Broth and incubated for 48 hours at 37°C, followed by subculturing and incubation under the same conditions, after which microbial growth was evaluated. Statistical analysis was performed using SigmaPlot 12.0™ software (Chicago, IL, USA), employing the Shapiro-Wilk test, ANOVA on Ranks, and ANOVA, followed by Tukey's post-hoc test. Results were considered statistically significant when the probability was less than 5% ($p < 0,05$). In the antimicrobial tests conducted in this study, 0.2% peracetic acid yielded the best results, followed by 1% sodium hypochlorite, whereas 70% alcohol was less effective.

KEYWORDS: Disinfection; 70% alcohol; 0.2% peracetic acid; 1% sodium hypochlorite; Biofilm; *Candida albicans*; *Streptococcus mutans*; Dental shade guides.

1. INTRODUÇÃO

A assistência odontológica envolve contato frequente com saliva, sangue, aerossóis, mucosas e superfícies tocadas durante o atendimento, condições que exigem controle contínuo da transmissão microbiana. As Precauções-Padrão reunidas pelo *Centers for Disease Control and Prevention* incluem higiene das mãos, uso de equipamentos de proteção individual, higiene respiratória, segurança com perfurocortantes, práticas seguras de injeção, instrumentos esterilizados e superfícies ambientais limpas e desinfetadas, medidas aplicáveis a todos os pacientes nos serviços odontológicos (CDC, 2016).

No Brasil, a Resolução da Diretoria Colegiada Anvisa nº 1.002/2025 estabeleceu requisitos de boas práticas para os serviços que prestam assistência odontológica, incluindo estabelecimentos que realizam ensino e pesquisa. A norma abrange gestão da qualidade, segurança do paciente, processamento de dispositivos médicos e controle dos riscos sanitários, aspectos diretamente relacionados à organização das clínicas de graduação (Anvisa, 2025).

Entre os materiais utilizados em procedimentos restauradores, a escala de cores reúne guias individuais destinadas à comparação visual entre a tonalidade dental e o material restaurador. A aproximação dessas peças da cavidade oral e sua manipulação durante o atendimento exigem um fluxo definido de uso e descontaminação, mesmo quando não ocorre contato direto com tecidos. Huang *et al.* (2014) avaliaram mudanças cromáticas produzidas por diferentes tratamentos após o uso clínico e a desinfecção das guias durante um período simulado de dois anos.

Protocolos de desinfecção devem considerar a natureza e o modo de ação do agente químico, a concentração aplicada, o tempo de contato efetivo, a presença de matéria orgânica e a forma de organização dos microrganismos no ambiente-alvo. Células em suspensão ou retidas em suportes absorventes tendem a responder de modo distinto das comunidades aderidas a superfícies, porque a matriz extracelular do biofilme altera gradientes, retém compostos e limita a difusão dos agentes, com impacto direto sobre a exposição celular.

Biofilmes de duas espécies apresentaram maior biomassa, arquitetura tridimensional mais definida e tolerância ampliada a estresses (Lobo et al., 2019). Por sua vez, a revisão de Lu *et al.* (2023) mapeia interações cooperativas e competitivas entre *C. albicans* e *S. mutans*.

Esta pesquisa comparou o efeito antimicrobiano de algumas substâncias antissépticas: álcool etílico a 70%, hipoclorito de sódio a 1% e ácido peracético a 0,2% por três métodos complementares: difusão em ágar, exposição direta e tratamento do biofilme formado sobre as guias de cores dentárias. Assim, este estudo visa identificar um agente desinfetante passível de ser empregado na clínica odontológica e que não promova a alteração na coloração das escalas de cor para resina (Alshethri, 2014)

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 CONTROLE DE INFECÇÃO EM ODONTOLOGIA

Os microrganismos podem alcançar pacientes, profissionais e objetos por contato direto com fluidos biológicos, por contato indireto mediado por instrumentos ou superfícies e pela dispersão de gotículas e aerossóis. A sequência de toques realizada durante o atendimento pode transferir material biológico para itens que não entram diretamente em tecidos, o que exige atenção ao processamento das superfícies manipuladas. Donskey (2013) descreveu superfícies contaminadas como fonte potencial de patógenos associados à assistência e revisou intervenções destinadas a melhorar a limpeza e a desinfecção ambiental.

As clínicas odontológicas de graduação reúnem condições particulares de trabalho, porque o aprendizado ocorre ao mesmo tempo em que o serviço atende pacientes e processa materiais entre diferentes operadores. A RDC Anvisa nº 1.002/2025 inclui os ambientes de ensino e pesquisa em seu campo de aplicação e atribui ao serviço responsabilidades relacionadas à gestão da qualidade, à segurança do paciente, ao processamento de dispositivos médicos e ao controle dos riscos sanitários, de modo que protocolos escritos e supervisão docente podem reduzir variações na execução das etapas previstas

pelo serviço.

A prevenção de infecções depende de medidas aplicadas durante todo o atendimento, incluindo higiene das mãos antes e depois do uso de luvas, seleção adequada dos equipamentos de proteção e cuidado com as superfícies tocadas durante os procedimentos. O CDC (2016) inclui estudantes e estagiários entre os profissionais potencialmente expostos nos serviços odontológicos e recomenda treinamento para a aplicação consistente das Precauções-Padrão. A recomendação abrange as guias de cores inseridas no fluxo clínico de prevenção, embora o documento não apresente protocolo específico para esse material.

Os biofilmes aumentam a dificuldade do controle químico porque as células permanecem fortemente aderidas à superfície e recobertas por uma matriz extracelular que reduz a difusão dos agentes e amortiza seus efeitos citotóxicos. Em avaliação laboratorial publicada em 2018, foram testados oito produtos com registro sanitário contra biofilmes de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, formados em corpos de prova de vidro, e observou-se que o desempenho variou conforme o ingrediente ativo (Lineback et al., 2018). Como o estudo avaliou outros microrganismos e superfícies de vidro, seus resultados servem como referência para comparar a resposta antibiofilme entre diferentes classes de desinfetantes.

2.2 CLASSIFICAÇÃO DOS ITENS SEGUNDO SPAULDING

O sistema de *Spaulding* organiza os dispositivos médicos de acordo com o tecido alcançado e o risco associado ao uso: artigos críticos penetram tecidos estéreis ou o sistema vascular; artigos semicríticos entram em contato com mucosas ou pele não íntegra; e artigos não críticos tocam pele íntegra ou não entram diretamente em contato com o paciente. Rowan, Kremer e McDonnell (2023) revisaram essa classificação e discutiram sua permanência como referência para a escolha dos procedimentos de limpeza, desinfecção e esterilização de dispositivos reutilizáveis.

Nas guias de cores, a categoria aplicável depende do uso previsto e

do contato efetivamente realizado durante a seleção de tonalidade; por isso, o processamento deve seguir a condição de maior risco compatível com o material e as instruções do fabricante (CDC, 2016).

Mesmo sem contato direto com a mucosa, a guia pode integrar cadeias de transmissão indireta, porque costuma ser manipulada com luvas expostas ao atendimento ou apoiada sobre superfícies clínicas contaminadas. As políticas de prevenção devem incluir os dispositivos e as superfícies tocados durante o atendimento, e cabe ao serviço odontológico organizar o processamento e o controle de riscos (CDC, 2016; Anvisa, 2025). Nas clínicas de graduação, essas diretrizes amparam a definição institucional e padronizada das etapas de retirada, uso, transporte, limpeza e devolução das guias, com responsabilidades claras e fluxos estáveis.

2.3 ESTRATÉGIAS PARA O CONTROLE DE INFECÇÃO

As estratégias de controle começam pela organização do serviço, pela capacitação das equipes, pela definição de responsabilidades e pela disponibilidade de insumos adequados. O CDC (2016) recomenda que os serviços odontológicos mantenham políticas escritas, designem um responsável pela prevenção de infecções e acompanhem a adesão dos profissionais às práticas previstas. A RDC Anvisa nº 1.002/2025 também inclui gestão da qualidade, processamento de dispositivos médicos e redução dos riscos sanitários entre os deveres dos serviços odontológicos brasileiros.

Os equipamentos de proteção individual formam barreiras contra respingos, aerossóis e contato com materiais potencialmente contaminados, porém o uso de luvas não substitui a higiene das mãos nem elimina o risco de contaminar superfícies tocadas durante o atendimento. O CDC (2016) orienta a higiene das mãos antes de calçar e depois de retirar as luvas, o uso de um novo par para cada paciente e a troca quando houver rasgo ou contaminação. A organização do fluxo de trabalho deve reduzir contatos desnecessários entre luvas usadas, guias de cores, bancadas e outros instrumentos.

A limpeza remove sujidade e matéria orgânica antes da etapa destinada à redução ou destruição microbiana, enquanto a desinfecção atua

sobre microrganismos em níveis definidos pela indicação do produto. A esterilização elimina todas as formas de vida microbiana viável e deve ser aplicada aos dispositivos cuja classificação e resistência permitam esse processamento. O CDC (2016) recomenda que instrumentos e dispositivos reutilizáveis sejam processados de acordo com o uso pretendido, e Rowan, Kremer e McDonnell (2023) relacionam essa decisão às categorias propostas por *Spaulding*.

Nas guias de cores, o controle microbiológico deve ser conciliado com a preservação da referência cromática, de modo que os procedimentos de higienização não alterem o padrão utilizado nas comparações ao longo do tempo, portanto, no estudo conduzido por Alshethri (2014), observaram-se alterações perceptíveis em parte das guias após dois e três anos de tratamentos simulados, recomendando-se a manutenção de uma escala controle para comparações periódicas dentro do próprio sistema de avaliação.

Resultados na mesma direção foram descritos por Huang *et al.* (2014), com mudanças de cor dependentes do tratamento após exposição simulada a diferentes desinfetantes, o que reforça a sensibilidade do material às rotinas de desinfecção. Conforme ambos os trabalhos investigaram alterações cromáticas após ciclos repetidos, a compatibilidade de cada protocolo com as guias precisa ser verificada antes de recomendar o uso contínuo de qualquer agente, sob risco de comprometer a leitura de cor ao longo do ciclo de vida do material.

2.4 PRINCIPAIS SOLUÇÕES DESINFECTANTES EMPREGADAS NA ODONTOLOGIA

Álcool, hipoclorito de sódio e ácido peracético atuam por vias distintas, com aplicações e limites próprios, razão pela qual cada formulação requer avaliação específica. Na revisão de Aranke *et al.* (2021), são descritos o mecanismo de ação, a utilidade, a eficácia e o perfil de segurança de diversos desinfetantes utilizados em ambientes assistenciais, que servem de base para escolhas alinhadas ao risco e ao objetivo do procedimento. A comparação entre agentes, conforme detalhado pelos autores, deve considerar princípio ativo,

concentração, tempo de contato, indicação e segurança, evitando tratar substâncias diferentes como alternativas equivalentes.

2.4.1 Álcool

O álcool etílico age sobretudo por desnaturação de proteínas e alteração de estruturas celulares em concentrações apropriadas, segundo descreveu Boyce (2018), que relatou seu emprego, assim como do isopropílico, como desinfetantes de baixo nível em serviços de saúde e registrou atividade *in vitro* para soluções entre 60% e 70% frente a determinados vírus, uso que, devido à evaporação rápida e ao curto tempo de contato, tende a concentrar-se em pequenos itens não críticos.

O álcool a 70% tem início de ação rápido e aplicação recorrente em superfícies e pequenos itens não críticos, embora apresente limites bem documentados. Boyce (2018) relacionou a evaporação acelerada ao curto tempo de contato efetivo e Aranke *et al.* (2021) relataram atividade bactericida, virucida, tuberculicida e fungicida sem eficácia esporicida suficiente, além de dano potencial a determinados materiais após exposições prolongadas, o que desautoriza tratá-lo como solução segura para qualquer superfície odontológica.

A presença de matriz extracelular e de matéria orgânica pode reduzir o acesso de agentes químicos às células aderidas, conforme já demonstrado em ensaios com biofilmes sobre vidro, motivo pelo qual, no caso das preparações alcoólicas, persiste o entrave do tempo de contato efetivo encurtado pela evaporação rápida, o que reforça a orientação do CDC (2016) quanto à limpeza prévia e ao cumprimento rigoroso do tempo especificado pelo fabricante, com padronização de volume aplicado, cobertura da superfície e fricção em cada item clínico. (Lineback *et al.* 2018; Boyce, 2018).

2.4.2 Hipoclorito de sódio

O hipoclorito de sódio libera espécies cloradas que interferem no metabolismo celular e reagem com matéria orgânica durante o contato com a solução, conjunto de reações que envolvem saponificação, neutralização de aminoácidos e formação de cloraminas, acompanhadas por inativação

enzimática e degradação de lipídios (Estrela *et al.*, 2002).

A resposta ao hipoclorito varia conforme a formulação, a concentração, o tempo de exposição e as condições do ensaio, em conformidade com o que mostraram Lineback *et al.* (2018), que avaliaram produtos registrados à base de hipoclorito em biofilmes de *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa* formados sobre vidro e observaram ação bactericida superior à dos compostos de amônio quaternário avaliados, resultado que não se transfere diretamente ao biofilme misto presente nas guias de cores devido às diferenças de microrganismos, substrato e protocolo.

Em materiais poliméricos, a escolha do hipoclorito precisa ponderar, ao mesmo tempo, a redução microbiana e a preservação da superfície; Bonafé *et al.* (2023) formaram biofilmes de *Candida albicans* e *Streptococcus mutans* em amostras de alinhadores EX30 e compararam agentes com tempos de contato próprios, cenário no qual o hipoclorito a 1% por dez minutos reduziu *C. albicans* e inibiu completamente *S. mutans*, resultados vinculados ao material, às cepas e ao método utilizado pelos autores.

2.4.3 Ácido peracético

O ácido peracético é um agente oxidante em equilíbrio com ácido acético, peróxido de hidrogênio e água, cuja ação alcança diferentes classes de microrganismos quando aplicação, concentração e tempo de contato são definidos de modo adequado. Aranke *et al.* (2021) descreveram atividade rápida contra bactérias, fungos, vírus, micobactérias e esporos, com uso em equipamentos automatizados e em formulações destinadas à desinfecção de materiais. No estudo de Fracaro (2005), por sua vez, a análise restringiu-se às propriedades físicas de um compósito odontológico após imersão em solução a 0,2%, de modo que o trabalho não fornece base para conclusões sobre eficácia antimicrobiana.

O desempenho do ácido peracético varia conforme a formulação comercial, a concentração, o organismo-alvo, o substrato e o tempo de contato. Viola *et al.* (2022), compararam quatro formulações em modelo endodôntico, com avaliação de remoção da camada de esfregaço, erosão dentinária, citotoxicidade e ação frente a *Enterococcus faecalis*, e as diferenças observadas

entre produtos reforçam a necessidade de identificar precisamente a formulação utilizada em cada protocolo. Como o modelo envolveu *E. faecalis* e tecido dentinário, a extrapolação para *C. albicans*, *S. mutans* ou para guias de cores permanece incerta.

Em sistemas organizados em biofilme, o ácido peracético pode ter comportamento distinto daquele verificado em células diretamente expostas, porque formulação, substrato, espécie microbiana e arquitetura da comunidade condicionam o contato químico e a penetração do agente (Viola *et al.*, 2022).

2.5 GUIAS DE CORES DENTÁRIAS E BIOFILME DE CANDIDA ALBICANS E STREPTOCOCCUS MUTANS

Nas publicações técnicas, as escalas de cores são apresentadas em conjuntos de abas individuais destinados à comparação da tonalidade dental com padrões comerciais, nos estudos de Huang *et al.* (2014) e Alshethri (2014), cada aba corresponde à peça manipulada durante o procedimento e a escala reúne todas as tonalidades oferecidas pelo fabricante. Essa diferenciação terminológica define a unidade submetida à desinfecção e à avaliação, frequentemente a guia isolada em vez do conjunto completo, o que repercute na forma de testar e de conservar o material ao longo do uso clínico.

A seleção visual de cor depende da estabilidade cromática das guias, suscetível a alterações após ciclos repetidos de desinfecção; em experimentos com guias VITA *Classical* conduzidos por Huang *et al.* (2014), a comparação entre *Cavicide*, *Asepticare* TB, *Sporicidin* e água destilada ao longo de dois anos simulados registrou diferenças de mudança de cor entre os tratamentos. Em avaliação com duração de até três anos, Alshethri (2014) também identificou alterações perceptíveis em parte das guias e recomendou manter uma escala controle para comparações periódicas, de modo que agentes, concentrações e tempos distintos exijam verificação cromática própria antes de qualquer recomendação de uso continuado.

Streptococcus mutans participa da formação de biofilmes cariogênicos, produz ácidos e polissacarídeos extracelulares, enquanto *Candida albicans* integra comunidades orais e adere a superfícies variadas. Portanto, na revisão de Lu *et al.* (2023), essa interação é marcada por relações cooperativas

e competitivas influenciadas pelo microambiente. A utilidade do pareamento para estudos *in vitro* deriva dessa relevância biológica, ainda que nenhum modelo laboratorial reproduza integralmente a microbiota clínica, condição que exige cautela na extrapolação de resultados.

Em condições que favorecem a interação, biofilmes de duas espécies podem organizar-se e responder ao estresse de modo distinto das culturas isoladas, evidenciado por Lobo *et al.* (2019), que observaram maior biomassa, microcolônias mais extensas e tolerância aumentada a estresses oxidativo e antimicrobiano em biofilmes de *C. albicans* e *S. mutans* formados sobre discos de hidroxiapatita recobertos por saliva. Em meio com saliva, Kim *et al.* (2021) relataram maturação mais rápida e manutenção de pH ácido em *coculturas*, resultados que justificam o uso conjunto das espécies, embora cada estudo tenha operado com substratos, meios e períodos próprios.

Os modelos de *cocultura* adotam períodos de formação distintos conforme substrato, meio e objetivo do ensaio, nesse sentido, no trabalho de Santana *et al.* (2024), biofilmes de *Candida albicans* e *Streptococcus mutans* foram cultivados durante sete dias sobre esmalte bovino em saliva artificial, com condições definidas de sacarose e fluoreto. Evidências apresentadas por Kim *et al.* (2021) mostram que maturação e acidificação variam com o ambiente, de modo que a duração, isoladamente, não comprova que todo biofilme de sete dias tenha atingido estágio maduro.

2.6 DESINFECÇÃO DAS GUIAS EM CLÍNICAS DE GRADUAÇÃO

As clínicas de graduação combinam assistência ao paciente, treinamento técnico e supervisão docente, reunindo operadores com níveis diferentes de experiência no mesmo ambiente. A RDC Anvisa nº 1.002/2025 inclui estabelecimentos que realizam ensino e pesquisa entre os serviços submetidos às boas práticas e atribui ao próprio serviço o controle dos riscos relacionados ao atendimento e ao processamento de dispositivos. A definição do fluxo das guias integra os procedimentos institucionais, embora a resolução não apresente técnica específica para esse material.

A guia de cor precisa entrar no campo clínico por meio de uma sequência organizada, evitando que peças não utilizadas recebam contatos

desnecessários durante o atendimento. O CDC (2016) recomenda políticas escritas de prevenção, treinamento dos profissionais e manejo adequado das superfícies e dispositivos odontológicos. Com base nessas orientações gerais, o serviço pode definir retirada, uso, transporte e descontaminação das guias, embora o documento do CDC não estabeleça uma técnica exclusiva para escalas de cores.

O processamento das guias deve começar pela remoção de resíduos visíveis, porque o CDC (2016) recomenda que a limpeza preceda a desinfecção e que a superfície permaneça em contato com o produto durante o período indicado pelo fabricante. A Anvisa (2025) também exige que o processamento de dispositivos médicos siga procedimentos definidos pelo serviço e compatíveis com as instruções aplicáveis. Volume, distância do pulverizador, cobertura da guia e fricção com gaze precisam ser descritos e ensinados, já que mudanças nessas etapas alteram a exposição ao agente químico.

A escolha do produto depende das instruções do fabricante, da composição da guia e do risco de alterações cumulativas; em ensaios com guias *VITA Classical* relatados por Huang *et al.* (2014), a mudança de cor variou conforme o agente e o tempo de exposição, enquanto a avaliação longitudinal descrita por Alshethri (2014) levou à recomendação de manter uma escala sem uso para comparações periódicas, e, sempre que agentes, concentrações ou tempos diferirem dos investigados, a verificação cromática específica deve anteceder o uso repetido.

A validação de um protocolo para clínicas de graduação precisa combinar ação antimicrobiana, compatibilidade com o material, treinamento da equipe e verificação periódica do cumprimento; nas orientações do CDC (2016), prescrevem-se políticas escritas, capacitação e avaliação das práticas de prevenção, ao passo que a regulamentação da Anvisa (2025) atribui ao serviço a gestão da qualidade e dos riscos sanitários, e os estudos de Huang *et al.* (2014) e de Alshethri (2014) reforçam a necessidade de mensurar alterações de cor após ciclos repetidos de desinfecção antes da adoção prolongada de qualquer produto.

2.7 MÉTODOS DE AVALIAÇÃO ANTIMICROBIANA

Métodos microbiológicos atendem a questões distintas e devem ser interpretados conforme o princípio de cada ensaio, já que o teste de difusão em ágar mede a zona de inibição ao redor do disco e depende tanto da atividade antimicrobiana quanto da capacidade de o agente atravessar o meio sólido. Huang *et al.* (2019) explicam que esse método sofre influência da difusão e das propriedades físicas da substância analisada, fatores que podem alterar o diâmetro do halo independentemente de sua ação durante o contato direto.

Por depender da movimentação do agente no meio sólido, o diâmetro do halo não deve ser utilizado isoladamente para estimar seu desempenho sobre uma superfície contaminada. Ao compararem difusão em ágar e contato direto, Sokolonski *et al.* (2023) encontraram perfis de inibição distintos entre os ensaios e resultados mais uniformes no segundo método, embora tenham avaliado cimentos endodônticos e não guias de cores dentárias.

O teste de exposição direta reduz a interferência da difusão ao manter o suporte contaminado em contato com o agente durante períodos previamente definidos. Estrela *et al.* (2003) contaminaram cones de papel, realizaram exposições de cinco, dez e trinta minutos, transferiram as amostras para *Lethen Broth* e efetuaram repique em BHI antes da leitura do crescimento, procedimento que avalia a ação durante o contato contínuo.

Modelos construídos com materiais odontológicos procuram avaliar comunidades aderidas em condições que reproduzem, de forma mais fiel, a interface real de uso. Em estudo com amostras de alinhadores EX30, Bonafé *et al.* (2023) formaram biofilmes de *Candida albicans* e *Streptococcus mutans* e aplicaram tempos específicos para cada agente químico testado, de modo a comparar o efeito do substrato e do protocolo. Os resultados mostram a influência do substrato e do procedimento adotado, porém não validam automaticamente culturas mistas, períodos de sete dias ou aplicação por pulverização em guias de cores.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar o efeito o álcool a 70%, hipoclorito de sódio a 1% e ácido peracético a 0,2% sobre *Candida albicans* e *Streptococcus mutans* e sobre a mistura destes microrganismos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Comparar a atividade antimicrobiana das três soluções diante de *C. albicans*, *S. mutans* e da cultura mista por meio do teste de difusão em ágar.
- Analisar o efeito antimicrobiano de soluções desinfetantes (álcool a 70%, hipoclorito de sódio a 1% e ácido peracético a 0,2%) sobre *Candida albicans*, *Streptococcus mutans* e a mistura destes microrganismos por meio do teste de exposição direta;
- Determinar o efeito antimicrobiano das soluções desinfetantes (álcool a 70%, hipoclorito de sódio a 1% e ácido peracético a 0,2%) sobre biofilme formado pela mistura dos microrganismos: *Candida albicans* e *Streptococcus mutans*, formado sobre guias de cores dentárias.

4. HIPÓTESE

As soluções desinfetantes avaliadas apresentam efeito antimicrobiano e removem o biofilme microbiano de *Candida albicans* e *Streptococcus mutans* formados sobre guias de cores dentárias.

5. MATERIAL E MÉTODOS

5.1 INDICADORES BIOLÓGICOS

Foram utilizadas cepas de *Candida albicans* ATCC 10231 e *Streptococcus mutans* ATCC 25175, obtidas da *American Type Culture Collection* para compor os indicadores biológicos. As culturas foram inoculadas em 7 mL de *Brain Heart Infusion*, BHI, e incubadas a 37 °C durante 24 horas. Em seguida, os microrganismos foram cultivados na superfície de *Brain Heart Infusion Agar*, BHIa, previamente distribuído em tubos de ensaio e esterilizado a 121 °C por 20 minutos.

Depois da incubação, as células foram suspensas em solução salina esterilizada a 0,9% e ajustadas ao tubo 1 da escala de *McFarland*, correspondente à concentração aproximada de 3×10^8 células/mL. A padronização do inóculo reduziu a variação entre repetições e permitiu que as comparações se concentrassem no agente químico, no tempo de contato e no tipo de microrganismo.

A cultura mista foi preparada pela transferência de 1 mL de cada suspensão pura para um tubo esterilizado, obtendo-se uma combinação experimental de *C. albicans* e *S. mutans*. Em modelos formados sobre hidroxiapatita recoberta por saliva, observaram-se respostas específicas de coculturas dessas espécies, incluindo maior biomassa, microcolônias mais extensas e manutenção de pH ácido, conforme relatado por Lobo *et al.* (2019) e Kim *et al.* (2021), o que fundamenta a opção por avaliá-las em conjunto. A duração de sete dias descrita em esmalte bovino por Santana *et al.* (2024) funciona apenas como parâmetro temporal, já que não corresponde ao substrato nem aos procedimentos empregados nesta pesquisa.

Tabela 1. Indicadores biológicos empregados no estudo

Indicador biológico	Identificação
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231
<i>Streptococcus mutans</i>	ATCC 25175
Cultura mista	<i>C. albicans</i> ATCC 10231 + <i>S. mutans</i> ATCC 25175

Fonte: dados da pesquisa (2026).

5.2 AGENTES DESINFECTANTES

Foram avaliados álcool etílico a 70%, hipoclorito de sódio a 1% e ácido peracético a 0,2%, selecionados por seu uso ou potencial de uso na desinfecção odontológica e por apresentarem mecanismos químicos distintos. A marca e o fabricante de cada produto foram registrados para identificar a formulação testada, porque concentração nominal semelhante não garante equivalência entre produtos comerciais.

Tabela 2. Soluções desinfetantes avaliadas

Solução	Concentração	Marca/fabricante informado
Álcool etílico	70%	Itajá, Jalles Machado S/A, Goianésia, GO, Brasil
Hipoclorito de sódio	1%	Longevitá Farmácia de Manipulação, Goiânia, GO, Brasil
Ácido peracético	0,2%	Rioquímica Indústria Farmacêutica, São José do Rio Preto, SP, Brasil

Fonte: dados da pesquisa (2026).

5.3 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O delineamento distribuiu os agentes, os microrganismos e os períodos de contato de acordo com as exigências de cada método. Os subtópicos seguintes detalham o número de unidades experimentais, os controles, a incubação e a leitura do crescimento microbiano residual.

5.3.1 Teste de difusão em ágar

Para o teste de difusão em ágar foram utilizadas 30 placas de Petri contendo 20 mL de Brain Heart Infusion Agar (BHIA; Difco Laboratories, Detroit, MI, USA). 18 placas de Petri foram inoculadas com 0,1 mL da suspensão de microrganismos com o auxílio de swabs esterilizados. O inóculo foi espalhado na superfície do meio de cultura. Discos de papel com 4 mm de diâmetro, previamente esterilizados, foram colocados em contato com as substâncias avaliadas (álcool a 70%, hipoclorito de sódio a 1% e ácido peracético a 0,2%) durante 1 min. e, em seguida, foram colocados 5 discos de papel em cada placa com o meio de cultura. Para cada substância testada foram realizadas 10 repetições.

As placas foram mantidas por 1 hora a temperatura ambiente e, posteriormente, foram incubadas a 37°C por 48 horas. Os diâmetros das zonas de inibição microbiana foram mensurados com o emprego de paquímetro digital (Mitutoyo, São Paulo, Brasil).

O grupo controle positivo foi constituído por três placas inoculadas com cada microrganismo: *Candida albicans* e *Streptococcus mutans* e a mistura deles, enquanto o grupo controle negativo foi composto por três placas sem inoculação, sob períodos e condições de incubação idênticas.

5.3.2 Teste de exposição direta

Para o teste de exposição direta, 81 cones de papel absorventes esterilizados no 50 (Tanari, Tanariman Indústria, Ltda., Manacaru, AM, Brasil) foram imersos nas suspensões microbianas por 5 minutos. Após este período, 27 cones de papel absorvente 23 contaminados foram colocados em placas de Petri contendo 10 mL de cada substância avaliada (álcool a 70%, hipoclorito de sódio a 1% e ácido peracético).

Em intervalos de 1 minuto, 5 minutos e 10 minutos, nove (09) cones de papel absorventes foram retirados do contato com as substâncias, transportados individualmente, e imersos em 5 mL de Lethen Broth (LB, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) adicionado com neutralizantes Tween 80 e tiosulfato de sódio (P.A., Laboratório Art, Campinas, SP, Brasil) em concentrações apropriadas e, na sequência, incubados a 37°C por 48 horas.

Após 48 horas de incubação foi realizado o repique. Uma alíquota de 0,1 mL de cada amostra foi transferida individualmente para 5 mL de Brain Heart Infusion (BHI; Difco Laboratories, Detroit, MI, USA), seguido de novo período de incubação sob condições idênticas. Novamente, quarenta e oito horas subsequentes ao repique foi realizada a avaliação do crescimento microbiano pela turbidez do meio de cultura e pela densidade ótica por meio do espectrofotômetro UV (Spectrophotometer Model Nova 1600 UV, Piracicaba, SP, Brasil) ajustado em comprimento de onda de $\lambda=600$ nm (nanômetros), que corresponde à absorbância de 0,137 nm.

O grupo controle positivo foi composto por 03 cones de papel absorventes esterilizados. Estes cones foram contaminados durante 5 minutos em cada suspensão microbiana e na mistura de microrganismos e então imersos individualmente em 7 mL de Lethen Broth (LB, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) e incubados sob as mesmas condições. O grupo controle negativo foi composto por 03 cones de papel absorventes esterilizados, não contaminados, e que foram imersos individualmente no meio de cultura e incubados sob as mesmas condições anteriormente descritas.

5.3.3 Ação antimicrobiana sobre biofilme formado nas guias de cores dentárias

Vinte e uma guias de cores de resinas dentárias foram individualmente esterilizadas em autoclave. Na sequência, foram acondicionadas em tubos de ensaio com 7 mL de Brain Heart Infusion (BHI; Difco Laboratories, Detroit, MI, USA).

Foi formado biofilme sobre 18 guias. Para a formação do biofilme, foi utilizada a mistura das cepas *Candida albicans* e *Streptococcus mutans*. As cepas foram inoculadas em 7 mL de Brain Heart Infusion (BHI; Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) e incubadas a 37°C por 24 horas. Vinte e quatro horas antes da inoculação das guias, os microrganismos foram cultivados na superfície do BHI ágar, seguindo as mesmas condições de incubação. O inóculo de cada microrganismo foi composto pela suspensão das células em solução salina, em concentração final aproximada de 3×10^8 células/mL, ajustada ao tubo número 1 da escala de McFarland. Para o preparo da mistura de microrganismos, 5 mL de cada suspensão microbiana foram adicionados a 5 mL de BHI esterilizado.

Para a contaminação das guias, 0,1 mL da mistura de microrganismos foi adicionado aos tubos que contêm as escalas esterilizadas e o meio de cultura. Este procedimento foi realizado diariamente durante o período de 7 dias, sempre utilizando cultura pura com 24 horas de preparo e ajustada ao padrão tubo 1 de McFarland. Todas as amostras foram mantidas em estufa microbiológica a 37°C. Após o período de formação do biofilme, as amostras foram aleatoriamente distribuídas em três grupos experimentais, sendo que cada grupo recebeu 05 guias conforme a substância empregada para a desinfecção das amostras (álcool a 70%, hipoclorito de sódio a 1% e ácido peracético a 0,2%).

Para cada grupo experimental as escalas foram pulverizadas seis vezes, equivalente a 6 mL de solução. Na sequência, cada substância ficou em contato com guia de cor durante 6 minutos, e, posteriormente, as guias foram limpas com gaze esterilizada até ficarem visivelmente secas (Huang et al., 2014). As amostras foram transportadas individualmente e imersas em 5 mL de Letheen

Broth (LB, Difco Laboratories, Detroit, MI, USA) e subsequentemente incubadas a 37°C por 48 horas. Na sequência foi realizado o repique. Uma alíquota de 0,1 mL de cada amostra foi transferida individualmente para 5 mL de Brain Heart Infusion (BHI; Difco Laboratories, Detroit, MI, USA), seguido de novo período de incubação sob condições idênticas.

Quarenta e oito horas subsequentes ao repique foi realizada a avaliação do crescimento microbiano pela turbidez do meio de cultura e pela densidade ótica por meio do espectrofotômetro UV (Spectrophotometer Model Nova 1600 UV, Piracicaba, SP, Brasil) ajustado em comprimento de onda de $\lambda=600$ nm (nanômetros), que corresponde à absorbância de 0,137 nm.

O grupo controle negativo foi composto por 03 guias esterilizadas imersas, individualmente, no meio de cultura e incubadas sob as mesmas condições anteriormente descritas, enquanto o controle positivo foi composto por 03 guias de cor de resina dentária com biofilme formado, que também foram imersas individualmente no meio de cultura e incubadas sob as mesmas condições de temperatura e tempo.

5.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada com o emprego do software SigmaPlot 12.0TM (Chicago, IL, USA). Os dados referentes ao efeito antimicrobiano dos protocolos foram tabulados e testados quanto à sua normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk. O teste ANOVA on Ranks foi empregado quando os dados não eram normais e neste caso, os dados foram representados em mediana e desvio interquartilico. O teste ANOVA foi utilizado quando os dados eram normais e foram representados em média e desvio padrão. Ambos os testes foram seguidos pelo pós-teste de Tukey. Os resultados foram considerados estatisticamente significantes quando a probabilidade foi inferior a 5% ($p < 0,05$).

6. RESULTADOS

Os resultados foram organizados conforme os três métodos empregados, e as tabelas mantiveram os nomes dos agentes e dos

microrganismos para dispensar a leitura dos códigos usados no cegamento.

A Tabela 3 apresenta os resultados das médias e desvio padrão do teste de difusão em ágar para as substâncias analisadas e os microrganismos considerados. Por meio deste teste foi possível verificar que o ácido peracético a 0,2% apresentou o melhor resultado, seguido pelo hipoclorito de sódio a 1%, enquanto o álcool a 70% foi menos efetivo. O ácido peracético a 0,2% foi efetivo sobre a mistura de microrganismos e sobre o *S. mutans* com diferença estatística para os outros agentes desinfetantes. Todas as substâncias analisadas apresentaram ação antimicrobiana sobre a *C. albicans*.

Tabela 3. Teste de difusão em ágar, em milímetros

Agente	<i>C. albicans</i>	<i>S. mutans</i>	Mistura de microrganismos
Álcool a 70%	6 (3,75–8) ^{ab}	0 (0–0) ^a	0 (0–0) ^a
Hipoclorito de sódio a 1%	6,5 (5–9) ^b	0 (0–0) ^a	0 (0–0) ^a
Ácido peracético a 0,2%	7 (6–8,25) ^b	8,5 (6,75–10) ^b	9,5 (9–10) ^b

Letras diferentes indicam diferença estatística significante

Os resultados do teste de exposição direta foram apresentados na Tabela 4. O ácido peracético a 0,2% apresentou ação antimicrobiana sobre as substâncias avaliadas e nos períodos analisados

Tabela 4. Resultado do teste de exposição direta

Agente	Microrganismo	1 minuto	5 minutos	10 minutos
Álcool a 70%	<i>C. albicans</i>	0,0617 ± 0,0331	0,0423 ± 0,00208	0,0590 ± 0,0348
Álcool a 70%	<i>S. mutans</i>	0,0813 ± 0,0280	0,0690 ± 0,0218	0,0737 ± 0,0291
Álcool a 70%	Mistura de microrganismos	0,0433 ± 0,0155	0,0577 ± 0,0385	0,0573 ± 0,0335
Hipoclorito de sódio a 1%	<i>C. albicans</i>	0,0860 ± 0,0110	0,0793 ± 0,0190	0,0717 ± 0,0447
Hipoclorito de sódio a 1%	<i>S. mutans</i>	0,0537 ± 0,00666	0,0677 ± 0,0364	0,0647 ± 0,0131
Hipoclorito de sódio a 1%	Mistura de microrganismos	0,0467 ± 0,00961	0,0610 ± 0,0121	0,0843 ± 0,0135
Ácido peracético a 0,2%	<i>C. albicans</i>	0 (0–0)	0 (0–0)	0 (0–0)
Ácido peracético a 0,2%	<i>S. mutans</i>	0 (0–0)	0 (0–0)	0 (0–0)

Ácido peracético a 0,2%	Mistura de microrganismos	0 (0–0)	0 (0–0)	0 (0–0)
-------------------------	---------------------------	---------	---------	---------

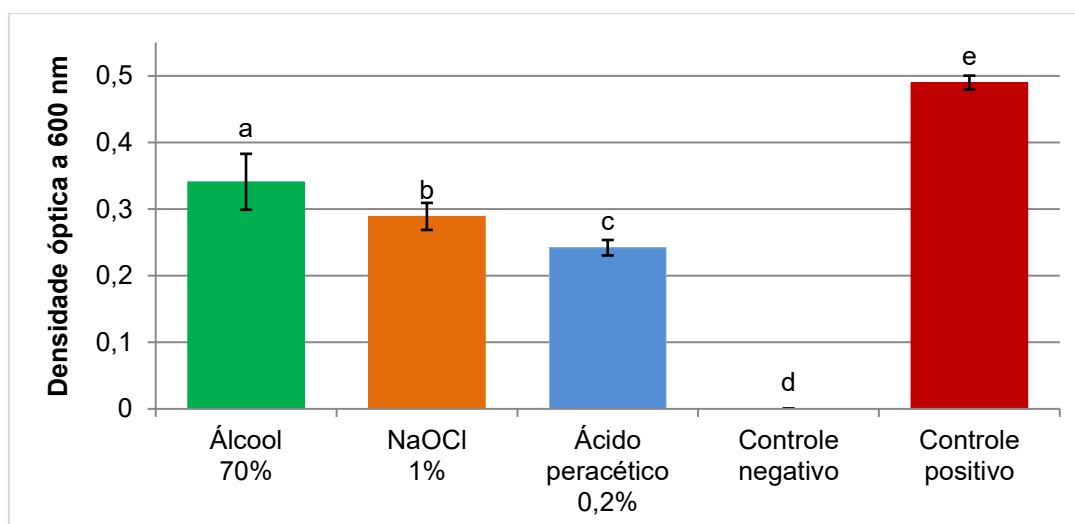
A Tabela 5 apresenta os resultados relacionados à ação antimicrobiana sobre o biofilme. O ácido peracético a 0,2% apresentou o melhor resultado, seguido do hipoclorito de sódio a 1% e por último, do álcool a 70% ($p < 0,05$). O Gráfico 1 apresenta a comparação entre a densidade óptica após o emprego das substâncias avaliadas sobre o biofilme formado sobre as guias de cores dentárias. Apesar da ação antimicrobiana nenhuma das substâncias foi capaz de eliminar completamente os microrganismos.

Tabela 5. Ação antimicrobiana sobre o biofilme

Grupo	Densidade óptica a 600 nm	Comparação estatística
Álcool a 70%	$0,341 \pm 0,0420$	aa
Hipoclorito de sódio a 1%	$0,289 \pm 0,0203$	b
Ácido peracético a 0,2%	$0,242 \pm 0,0116$	c
Controle negativo	$0,000 \pm 0,000$	d
Controle positivo	$0,490 \pm 0,0104$	e

Valores apresentados como média e desvio padrão. Letras diferentes indicam diferença estatística significante; $p < 0,001$.

Gráfico 1. Densidade óptica após tratamento do biofilme nas guias de cores



Fonte: elaboração própria com dados da pesquisa (2026).

De acordo com os resultados obtidos nesse estudo, a hipótese que as soluções desinfetantes avaliadas apresentaram efeito antimicrobiano e

removeram o biofilme microbiano de *C. albicans* e *S. mutans* formados sobre guias de cores dentárias deve ser rejeitada. Verificou-se que houve eliminação de todos os microrganismos apenas para a solução de ácido peracético a 0,2% no teste de exposição direta. Nas demais metodologias empregadas pode-se verificar a redução dos microrganismos e do biofilme e não sua eliminação.

7. DISCUSSÃO

O controle microbiológico é um dos pilares fundamentais na prevenção de infecção cruzada em função da elevada variedade e quantidade de microrganismos presentes na saliva, sangue e aerossóis produzidos durante os procedimentos odontológicos. As superfícies e instrumentos contaminados podem atuar como importantes reservatórios microbianos, favorecendo infecção cruzada entre pacientes e profissionais (Donskey, 2013; Rowan et al., 2023).

Embora as guias de cores dentárias sejam classificadas como artigos semicríticos ou não críticos de acordo com a classificação de Spaulding, sua manipulação constante durante os procedimentos restauradores permite contaminação indireta por meio das mãos enluvadas contaminadas, justificando protocolos rigorosos de desinfecção.

No presente estudo foram avaliados *Candida albicans* e *Streptococcus mutans*, microrganismos amplamente relacionados à microbiota oral e à formação de biofilmes. O *Streptococcus mutans* é considerado um dos principais microrganismos associados ao desenvolvimento da cárie dentária devido à sua elevada capacidade acidogênica e acidúrica, além da produção de polissacarídeos extracelulares que favorecem adesão microbiana às superfícies dentárias.

Já *Candida albicans*, além de integrar a microbiota oral oportunista, apresenta importante papel na formação e estabilização do biofilme, especialmente em associação com bactérias cariogênicas. Estudos demonstram que existe uma relação sinérgica entre esses microrganismos, em que a matriz extracelular produzida pelo *S. mutans* favorece a adesão e proliferação da *C. albicans*, aumentando a complexidade estrutural e a resistência antimicrobiana do biofilme.

A utilização da mistura microbiana no presente estudo representa importante aspecto metodológico, pois aproxima o modelo experimental das condições reais encontradas na cavidade oral. Biofilmes multiespécies apresentam comportamento distinto quando comparados a culturas puras, especialmente devido às interações metabólicas e estruturais estabelecidas entre os microrganismos. Essa característica aumenta significativamente a resistência aos agentes químicos e dificulta a completa eliminação microbiana. Assim, a persistência de crescimento microbiano observada após exposição aos desinfetantes reforça a elevada resistência biológica do biofilme formado.

Com relação ao período de formação do biofilme, de sete dias, há referência no modelo desenvolvido por Santana *et al.* (2024), que cultivaram biofilmes de *C. albicans* e *S. mutans* durante esse intervalo. Os autores também empregaram condições específicas de sacarose e fluoreto, inexistentes no protocolo das guias, portanto a aproximação se limita à duração e à combinação das espécies. A expressão biofilme formada durante sete dias permanece mais precisa do que biofilme maduro, porque esta pesquisa não avaliou arquitetura, matriz ou marcadores de maturação.

O conjunto das três metodologias mostrou que a resposta aos desinfetantes variou conforme a forma de exposição dos microrganismos. O ácido peracético a 0,2% produziu os maiores halos na difusão em ágar, ausência de crescimento detectável na exposição direta e a menor densidade óptica entre os agentes aplicados ao biofilme nas guias. Mesmo assim, o valor obtido no terceiro ensaio permaneceu acima do controle negativo, indicando que a superioridade relativa do produto não correspondeu à eliminação completa da comunidade aderida.

A diferença entre os testes decorre de seus princípios, já que a difusão em ágar depende da formação de uma zona sem crescimento microbiano ao redor do disco, ao passo que a exposição direta mantém o suporte contaminado em contato contínuo com a solução por períodos definidos.

No estudo de Estrela *et al.* (2003), a comparação entre os métodos mostrou desempenho superior da solução de hipoclorito de sódio na exposição direta e da solução de clorexidina na difusão em ágar, resultado que mostra a

influência do método, dos indicadores biológicos e do tempo de contato na interpretação dos efeitos e desautoriza tratar o diâmetro do halo como reprodução imediata da condição clínica. Essa diferença metodológica é extremamente importante e já foi anteriormente discutida por Estrela et al. (2003), que demonstraram que diferentes métodos de avaliação antimicrobiana podem produzir resultados distintos para a mesma substância.

O teste de difusão em ágar depende da capacidade de difusão do agente químico no meio sólido, podendo favorecer substâncias com melhor difusibilidade. Além disso, trata-se de uma metodologia inicial de triagem antimicrobiana, importante para comparação entre substâncias, porém limitada quanto à reprodução das condições clínicas. Em contrapartida, o teste de exposição direta simula contato mais próximo entre o desinfetante e o microrganismo, sendo considerado mais rigoroso na avaliação da efetividade antimicrobiana. Assim, a ausência de eliminação completa dos microrganismos nesse teste reforça a elevada resistência das estruturas microbianas avaliadas.

Ainda relacionado à metodologia empregada nesse estudo, é necessário destacar que a avaliação por densidade óptica utilizando espectrofotometria UV também representou importante diferencial metodológico deste estudo, permitindo análise.

Os resultados demonstraram que o ácido peracético a 0,2% apresentou melhor desempenho antimicrobiano em todos os testes realizados, seguido pelo hipoclorito de sódio a 1% e pelo álcool a 70%. O elevado desempenho do ácido peracético pode ser explicado pelo seu potente mecanismo oxidativo, capaz de promover desnaturação proteica, alteração da permeabilidade da membrana celular e inativação de enzimas essenciais ao metabolismo microbiano.

Fracaro (2005) relatou que o ácido peracético apresenta rápida atividade bactericida, fungicida, virucida e esporicida, além da vantagem de não sofrer inativação significativa pela presença de matéria orgânica, fator extremamente relevante em ambientes odontológicos.

A superioridade do ácido peracético observada neste estudo também pode estar relacionada à sua maior capacidade de penetração na matriz

extracelular do biofilme. Os biofilmes constituem estruturas altamente organizadas, formadas por comunidades microbianas inseridas em uma matriz polimérica extracelular que atua como barreira protetora contra agentes antimicrobianos.

Segundo Lineback et al. (2018), a matriz extracelular reduz a difusão de substâncias químicas e dificulta a ação antimicrobiana, aumentando significativamente a resistência microbiana. Dessa forma, a maior efetividade do ácido peracético sugere melhor capacidade de difusão e ação oxidativa sobre biofilmes maduros.

O desempenho superior do ácido peracético pode decorrer de seu mecanismo oxidante, que compromete múltiplos alvos celulares e estruturais, conforme descrito por Aranke *et al.* (2021), condição que tende a ampliar o espectro de ação quando concentração e tempo de contato são definidos de modo adequado. Em avaliação endodôntica, Viola *et al.* (2022) observaram atividade antibiofilme frente a *Enterococcus faecalis* em diferentes formulações do composto, com magnitude dependente do produto testado e das condições do protocolo.

Os resultados relacionados ao hipoclorito de sódio corroboram os achados de Estrela et al. (2002), que demonstraram que a ação antimicrobiana dessa substância está associada à formação do ácido hipocloroso e às reações de saponificação, cloraminação e neutralização de aminoácidos. Esses mecanismos promovem destruição irreversível de enzimas bacterianas e dissolução de matéria orgânica. Estudos de Estrela et al. (2003) também evidenciaram amplo espectro antimicrobiano do hipoclorito de sódio frente a diferentes microrganismos, justificando sua ampla utilização na Odontologia, especialmente na Endodontia e desinfecção de superfícies clínicas.

Apesar de apresentar atividade antimicrobiana significativa, o hipoclorito de sódio demonstrou desempenho inferior ao ácido peracético no presente estudo. Uma possível explicação refere-se à concentração empregada (1%), além da possível interferência da matriz do biofilme na difusão da substância. Outro aspecto relevante consiste na instabilidade química do hipoclorito de sódio, que pode sofrer degradação ao longo do tempo dependendo das

condições de armazenamento. Estrela et al. (2002), ao avaliarem o controle químico e microbiano de soluções de hipoclorito de sódio, destacaram a importância da estabilidade da solução para manutenção de sua eficácia antimicrobiana.

Bonafé *et al.* (2023) avaliaram agentes químicos em biofilmes de *C. albicans* e *S. mutans* formados em amostras de alinhadores EX30. O hipoclorito a 1% permaneceu em contato durante dez minutos, reduziu *C. albicans* em 2,5 log10 e inibiu completamente *S. mutans* no ensaio dos autores. Como o material, as cepas, a forma de cultivo e o tempo de exposição diferem daqueles empregados nas guias, a comparação deve permanecer restrita à resposta observada em uma superfície polimérica submetida a um protocolo específico.

O álcool a 70%, embora amplamente utilizado na prática clínica, apresentou os menor eficácia antimicrobiana. Boyce (2018) descreveu que o álcool possui ação rápida sobre bactérias vegetativas e vírus envelopados, entretanto apresenta limitações importantes, como ausência de ação esporicida, evaporação rápida e menor efetividade na presença de matéria orgânica. Essas características tornam-se ainda mais relevantes diante de biofilmes maduros, nos quais a matriz extracelular dificulta a penetração da substância. Além disso, a volatilidade do álcool pode reduzir o tempo efetivo de contato com os microrganismos, comprometendo sua ação antimicrobiana. Outra limitação se relaciona às formulações alcoólicas, que apresentam evaporação rápida, que encurta o tempo efetivo de contato com a superfície e reduz a ação sobre microrganismos aderidos.

Outro aspecto relevante relativo ao teste antimicrobiano sobre o biofilme formado sobre as guias de cores dentárias diz respeito ao componente mecânico de fricção de gaze esterilizada sobre as guias. Assim, além da ação antimicrobiana das substâncias avaliadas, deve-se acrescentar a remoção mecânica do biofilme por meio da fricção de gaze, como preconizado por Huang *et al.*, (2014)

Do ponto de vista clínico, os resultados obtidos possuem elevada relevância prática. A contaminação cruzada em ambientes odontológicos permanece como importante problema de biossegurança, especialmente devido

à persistência microbiana em superfícies frequentemente manipuladas. Rutala e Weber (2001) destacaram que superfícies aparentemente secundárias podem contribuir significativamente para transmissão indireta de microrganismos. Dessa forma, protocolos adequados de desinfecção das guias de cores tornam-se indispensáveis.

Em clínicas de graduação, a guia pode circular entre estudantes e professores durante a seleção de cor e receber contatos sucessivos ao longo do atendimento. A RDC Anvisa nº 1.002/2025 inclui estabelecimentos de ensino e pesquisa entre os serviços submetidos às boas práticas, e o CDC (2016) recomenda políticas escritas, treinamento e processamento adequado dos dispositivos usados na assistência odontológica. A proposta de um fluxo para retirada, uso, transporte, limpeza, desinfecção, secagem e armazenamento das guias constitui aplicação institucional dessas orientações gerais, e não protocolo já descrito pelas duas fontes.

A decisão sobre o uso clínico do ácido peracético como alternativa desinfetante mostra-se promissora, não apenas pela elevada atividade antimicrobiana observada, mas também devido às vantagens descritas na literatura, como biodegradabilidade, ausência de resíduos tóxicos e menor potencial de alteração das propriedades físicas de materiais odontológicos.

Em estudos com escalas comerciais, a mudança de cor variou conforme o tratamento aplicado às guias. Huang et al. (2014) demonstraram preocupação quanto às alterações cromáticas provocadas por agentes desinfetantes em guias de cores dentárias, uma vez que alterações de tonalidade podem comprometer a seleção de cor e o resultado estético final das restaurações.

Alshethri (2014) recomendou manter uma escala sem uso para comparações periódicas. Tendo em vista que a presente pesquisa não mensurou cor, translucidez, brilho, rugosidade ou resistência, o agente com melhor resultado microbiológico ainda precisa ser avaliado quanto à conservação do material antes de qualquer recomendação de adoção rotineira.

Apesar dos resultados promissores, algumas limitações devem ser consideradas. O estudo foi conduzido in vitro, não reproduzindo integralmente

as condições clínicas da cavidade oral, como presença contínua de saliva, proteínas salivares, variações de pH, temperatura e microbiota complexa. Além disso, apenas duas espécies microbianas foram avaliadas. Embora relevantes, os biofilmes orais clínicos são compostos por comunidades microbianas muito mais complexas e dinâmicas. Outra limitação refere-se à ausência de avaliação das propriedades físicas e cromáticas das guias após repetidos ciclos de desinfecção, aspecto fundamental para aplicação clínica dos resultados.

A comparação final dos três métodos empregados demonstrou que o ácido peracético a 0,2% apresentou maior efetividade antimicrobiana sobre *C. albicans*, *S. mutans* e biofilme formado sobre guias de cores dentárias, seguido pelo hipoclorito de sódio a 1% e álcool a 70%. Entretanto, nenhuma substância foi capaz de promover eliminação microbiana completa nos três testes, realizados, evidenciando a elevada resistência do biofilme e reforçando a necessidade de contínuo aprimoramento dos protocolos de desinfecção empregados na prática odontológica.

A elaboração de um protocolo clínico precisa ser construído a partir da condição mais resistente e acompanhado pela avaliação física e cromática das guias. O protocolo também deve separar limpeza, desinfecção e secagem, registrando a função de cada etapa, porque a passagem da gaze pode remover parte do biofilme, e o agente químico atua sobre as células remanescentes.

A formação profissional integra a segurança do protocolo, porque estudantes e demais integrantes da equipe precisam aplicar as Precauções-Padrão durante toda a assistência. O CDC (2016) inclui estudantes e estagiários entre os profissionais potencialmente expostos e recomenda treinamento, políticas escritas e avaliação da adesão às práticas de prevenção. A RDC Anvisa nº 1.002/2025 atribui ao serviço responsabilidades relacionadas à qualidade e ao controle dos riscos sanitários, o que fundamenta a supervisão institucional sem apresentar técnica específica para guias de cores.

8. CONCLUSÃO

- O ácido peracético a 0,2% apresentou maior redução microbiana, seguido do hipoclorito de sódio a 1% e do álcool a 70% sobre *Candida albicans*

e *Streptococcus mutans* e sobre a mistura destes microrganismos, considerando os testes antimicrobianos empregados no estudo.

- O teste de difusão em ágar demonstrou que o álcool a 70% foi menos efetivo, seguido do NaOCl a 1% e do ácido peracético a 0,2%, respectivamente. Em relação aos microrganismos todas as substâncias desinfetantes foram efetivas sobre a *C. albicans*, enquanto o ácido peracético a 0,2% foi bastante efetivo sobre *S. mutans* e sobre a mistura de microrganismos.

- O teste de exposição direta das soluções desinfetantes (álcool a 70%, hipoclorito de sódio a 1% e ácido peracético a 0,2%) sobre *Candida albicans*, *Streptococcus mutans* e a mistura destes microrganismos demonstrou que nenhuma das soluções foi efetiva em eliminar os microrganismos.

- A avaliação do efeito antimicrobiano das soluções desinfetantes sobre biofilme formado sobre guias de cores dentárias demonstrou que o ácido peracético a 0,2% apresentou maior redução microbiana, seguido do hipoclorito de sódio a 1% e do álcool a 70% ($p < 0,05$), entretanto, apesar da ação antimicrobiana, nenhuma substância foi capaz de eliminar completamente os microrganismos.

REFERÊNCIAS

1. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (BR). Resolução da Diretoria Colegiada Anvisa nº 1.002, de 15 de dezembro de 2025: dispõe sobre os requisitos de Boas Práticas de Funcionamento para os serviços que prestam assistência odontológica. Diário Oficial da União. Brasília, DF; 2025 dez 16. Seção 1. Disponível em: <https://www.in.gov.br/web/dou/-/resolucao-da-diretoria-colegiada-anvisa-n-1.002-de-15-de-dezembro-de-2025-675527061> Acesso em 25 de Jul. de 2026..
2. Alshethri SE. Evaluation of color changes in the Vitapan Classical Shade Guide after disinfection. Operative Dentistry. 2014;39(3):317-324. doi: 10.2341/13-125-L.
3. Aranke M, Moheimani R, Phuphanich M, *et al.* Disinfectants in interventional practices. Current Pain and Headache Reports. 2021;25:21. doi: 10.1007/s11916-021-00938-3.
4. Bonafé ACF, Oliveira DFLM, Fernandes EE, *et al.* Microbiological evaluation in invisible aligner chemical cleaning methods against *Candida albicans* and *Streptococcus mutans*. American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics. 2023;164(2):e43-e50. doi: 10.1016/j.ajodo.2023.05.014.
5. Boyce JM. Alcohols as surface disinfectants in healthcare settings. Infection Control & Hospital Epidemiology. 2018;39(3):323-328. doi: 10.1017/ice.2017.301.
6. Centers for Disease Control and Prevention. Summary of infection prevention practices in dental settings: basic expectations for safe care. Atlanta: U.S. Department of Health and Human Services; 2016. doi: 10.15620/cdc/40077.
7. Donskey CJ. Does improving surface cleaning and disinfection reduce health care-associated infections? American Journal of Infection Control. 2013;41(5 Suppl):S12-S19. doi: 10.1016/j.ajic.2012.12.010.
8. Estrela C, Estrela CRA, Barbin EL, *et al.* Mechanism of action of sodium hypochlorite. Brazilian Dental Journal. 2002;13(2):113-117. doi: 10.1590/S0103-64402002000200007.
9. Estrela C, Ribeiro RG, Estrela CRA, *et al.* Antimicrobial effect of 2% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine tested by different methods. Brazilian Dental Journal. 2003;14(1):58-62. doi: 10.1590/S0103-64402003000100011.
10. Fracaro GB. Influência da imersão em desinfetante à base de ácido peracético sobre as propriedades de um compósito odontológico de uso indireto [dissertação]. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul; 2005. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10183/6495> [acesso em 2026 jul 23].
11. Huang PY, Masri R, Romberg E, *et al.* The effect of various disinfectants on dental shade guides. The Journal of Prosthetic Dentistry. 2014;112(3):613-617. doi: 10.1016/j.prosdent.2014.04.006.

12. Huang Y, Li X, Mandal P, *et al.* The in vitro antimicrobial activities of four endodontic sealers. BMC Oral Health. 2019;19:118. doi: 10.1186/s12903-019-0817-2.
13. Kim HE, Liu Y, Dhall A, *et al.* Synergism of Streptococcus mutans and Candida albicans reinforces biofilm maturation and acidogenicity in saliva: an in vitro study. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2021;10:623980. doi: 10.3389/fcimb.2020.623980.
14. Lineback CB, Nkemngong CA, Wu ST, *et al.* Hydrogen peroxide and sodium hypochlorite disinfectants are more effective against Staphylococcus aureus and Pseudomonas aeruginosa biofilms than quaternary ammonium compounds. Antimicrobial Resistance & Infection Control. 2018;7:154. doi: 10.1186/s13756-018-0447-5.
15. Lobo CIV, Rinaldi TB, Christiano CMS, *et al.* Dual-species biofilms of Streptococcus mutans and Candida albicans exhibit more biomass and are mutually beneficial compared with single-species biofilms. Journal of Oral Microbiology. 2019;11(1):1581520. doi: 10.1080/20002297.2019.1581520.
16. Lu M, Lin Y, Li K, *et al.* Roles of Streptococcus mutans-Candida albicans interaction in early childhood caries: a literature review. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology. 2023;13:1151532. doi: 10.3389/fcimb.2023.1151532.
17. Rowan NJ, Kremer T, McDonnell G. A review of Spaulding's classification system for effective cleaning, disinfection and sterilization of reusable medical devices: viewed through a modern-day lens that will inform and enable future sustainability. Science of the Total Environment. 2023;878:162976. doi: 10.1016/j.scitotenv.2023.162976.
18. Rutala WA, Weber DJ. Surface disinfection: should we do it? J Hosp Infect. 2001;48 Suppl A:S64-8. doi: 10.1016/S0195-6701(01)90017-9.
19. Santana JS, Delbem ACB, Pessan JP, *et al.* Dual-species biofilm of Streptococcus mutans and Candida albicans produces subsurface caries lesions on bovine enamel. Archives of Oral Biology. 2024;166:106029. doi: 10.1016/j.archoralbio.2024.106029.
20. Sokolonski AR, Amorim CF, Almeida SR, *et al.* Comparative antimicrobial activity of four different endodontic sealers. Brazilian Journal of Microbiology. 2023;54:1717-1721. doi: 10.1007/s42770-023-01003-4.
21. Stevenson K, McVey AF, Clark IBN, *et al.* General calibration of microbial growth in microplate readers. Scientific Reports. 2016;6:38828. doi: 10.1038/srep38828.
22. Viola KS, Coaguila-Llerena H, Rodrigues EM, *et al.* Different formulations of peracetic acid: effects on smear layer removal, dentine erosion, cytotoxicity and antibiofilm activity. Journal of Applied Oral Science. 2022;30:e20210575. doi: 10.1590/1678-7757-2021-0575.