

**UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ**

**Isabelle Schalch de Oliveira Campos**

**AVALIAÇÃO DA PRESENÇA DE MICRORGANISMOS EM  
AEROSSÓIS GERADOS A PARTIR DA UTILIZAÇÃO DE  
APARELHO DE ULTRASSOM NO AMBIENTE  
ODONTOLÓGICO**

**Taubaté – SP**

**2023**

**UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ**

**Isabelle Schalch de Oliveira Campos**

**AVALIAÇÃO EXTRAORAL POR AEROSSÓIS GERADOS A  
PARTIR DA UTILIZAÇÃO DE APARELHO DE ULTRASSOM NO  
AMBIENTE ODONTOLÓGICO**

Tese apresentada para obtenção do Título de  
Doutora pelo Curso de Doutorado do Departamento  
de Odontologia da Universidade de Taubaté.  
Área de Concentração: Periodontia

Orientador: Prof. Dr. José Roberto Cortelli  
Coorientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Priscila Correia Fernandes

**Taubaté – SP**

**2023**

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

C198a Campos, Isabelle Schalch de Oliveira

Avaliação da presença de microrganismos em aerossóis gerados a partir da utilização de aparelho de ultrassom no ambiente odontológico / Isabelle Schalch de Oliveira Campos. -- 2023.

41 f. : il.

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

Orientação: Prof. Dr. José Roberto Cortelli, Departamento de Odontologia.

Coorientação: Priscila Correia Fernandes, Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação.

1. Contaminação. 2. Biossegurança. 3. Assepsia.  
I. Universidade de Taubaté. Programa de Pós-graduação em Odontologia. II. Título.

CDD – 617.601

**Isabelle Schalch de Oliveira Campos**

**AVALIAÇÃO EXTRAORAL POR AEROSSÓIS GERADOS A PARTIR DA  
UTILIZAÇÃO DE APARELHO DE ULTRASSOM NO AMBIENTE ODONTOLÓGICO**

Tese apresentada para obtenção do Título de  
Doutora pelo Curso de Doutorado do Departamento  
de Odontologia da Universidade de Taubaté.  
Área de Concentração: Periodontia

Orientador: Prof. Dr. José Roberto Cortelli  
Coorientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Priscila Correia Fernandes

Data: 26/07/2023

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

**BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dr.: José Roberto Cortelli (orientador)

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

Profa. Dra.: Sheila Cavalca Cortelli

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

Profa. Dra.: Laís Concílio

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

Prof. Dr.: Willians Fernandes

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

Profa. Dra.: Priscila Maximo

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

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus avós Gustavo Henrique, Regina, Orestes e Irene que zelam por mim ao lado de Deus. Devo tudo a eles.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente agradeço a Deus por iluminar meu caminho, me orientar e me fortalecer nos momentos difíceis. Os planos de Deus são sempre maiores do que posso imaginar, ele nunca me deu um fardo maior do que eu poderia carregar.

Meus pais, não foi fácil esse longo caminho, quantas coisas vocês tiveram que abdicar para que eu chegasse até aqui, sempre me apoiando, me fortalecendo, me segurando, me acalentando. O que sinto por vocês é um amor incondicional e uma gratidão infinita. Vocês e o Ike são a minha vida, são a minha fonte de inspiração e quero sempre ser motivo de orgulho para vocês. Conseguimos!!!

Bruno, meu marido, me acompanhou desde a graduação e esteve ao meu lado em cada conquista, em cada degrau alcançado. Minha fonte de inspiração e amor. Obrigada por sempre me apoiar e me impulsionar a ser cada vez melhor. Te amo além dessa vida.

Aos professores da pós-graduação da Universidade de Taubaté (Professores José Roberto Cortelli, Sheila Cavalca Cortelli, Davi Aquino, Laís Concílio, Priscila Liporoni) e aos professores do Instituto Tecnológico de Aeronáutica (Professores Priscila Fernandes e Willians Fernandes) pela confiança, aprendizado, orientação, cuidado e carinho durante esses 3 anos de Doutorado.

A CAPES, pela bolsa e incentivo a pesquisa, que proporcionou que esse momento fosse realizado.

## RESUMO

O objetivo geral do presente estudo foi avaliar a contaminação extraoral causada pelo tratamento com ultrassom no atendimento clínico de pacientes com doença periodontal. O estudo foi conduzido em 30 participantes selecionados na clínica do Departamento de Odontologia da Universidade de Taubaté (UNITAU). Inicialmente foram coletadas amostras de saliva de todos os participantes para contagem total de microrganismos em boca e foi realizada a higienização da face do participante, previamente ao tratamento proposto. Em seguida foram coletadas amostras de *swabs* em seis regiões da face (maçã do rosto do lado direito e esquerdo, asa do nariz do lado direito e esquerdo, lábio superior e mento). Os participantes foram submetidos ao tratamento de Raspagem e Alisamento Radicular com ultrassom por um período de 3 minutos. Posteriormente ao tratamento foram coletados novamente com *swab*, amostra de seis regiões da face e do óculos que o participante utilizou. Imediatamente após as coletas, as amostras foram distribuídas em placas de ágar-sangue em duplicatas tanto para meio aeróbio quanto para anaeróbio. As análises microbiológicas foram realizadas por: Meio de Cultura, no qual realizaram-se as contagens totais das unidades formadoras de colônias bacterianas (UFC) e por meio da Reação em Cadeia da Polimerase (PCR). Os principais resultados deste estudo clínico indicaram que após o procedimento houve um aumento no número total de bactérias, tanto para aeróbias quanto para anaeróbias, nas duas técnicas de biologia molecular UFC e PCR. As técnicas usadas demonstraram concordância nos resultados e confirmaram suas especificidades em relação à carga total bacteriana, ambas se complementam e seu uso enriquece a análise de dados. Pode-se concluir que houve contaminação extraoral causada pelo tratamento com ultrassom no atendimento clínico de pacientes com doenças periodontal. Essa contaminação extraoral comprovou o risco do paciente carregar consigo, na face, bactérias presentes na cavidade bucal, o que nos permite enfatizar a necessidade da assepsia pós procedimento como um método de biossegurança.

**Palavras-chave:** Contaminação. Biossegurança. Assepsia.

## **ABSTRACT**

The general objective of the present study was to evaluate extraoral contamination caused by ultrasound treatment in the clinical care of patients with periodontal disease. The study was conducted on 30 participants selected at the clinic of the Department of Dentistry at the University of Taubaté (UNITAU). Initially, saliva samples were collected from all participants to count the total number of microorganisms in the mouth and the participant's face was cleaned prior to the proposed treatment. Swab samples were then collected from six regions of the face (cheekbone on the right and left side, wing of the nose on the right and left side, upper lip and chin). Participants underwent Scaling and Root Planing treatment with ultrasound for a period of 3 minutes. After treatment, samples from six regions of the face and glasses that the participant wore were collected again with a swab. Immediately after collection, the samples were distributed on blood agar plates in duplicates for both aerobic and anaerobic media. Microbiological analyzes were carried out using: Culture Medium, in which total counts of bacterial colony forming units (CFU) were carried out and through the Polymerase Chain Reaction (PCR). The main results of this clinical study indicated that after the procedure there was an increase in the total number of bacteria, both aerobic and anaerobic, in the two molecular biology techniques UFC and PCR. The techniques used demonstrated agreement in the results and confirmed their specificities in relation to the total bacterial load, both complement each other and their use enriches data analysis. It can be concluded that there was extraoral contamination caused by ultrasound treatment in the clinical care of patients with periodontal diseases. This extraoral contamination proved the risk of the patient carrying bacteria present in the oral cavity on their face, which allows us to emphasize the need for post-procedure asepsis as a biosafety method.

Keywords: Contamination. Biosafety. Asepsis.

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	9
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	11
2.1 Doença Periodontal e Microrganismos.....	11
2.2 Aerossol Odontológico.....	12
2.3 Ultrassom Odontológico.....	13
2.4 Meio de Cultura e PCR.....	14
2.5 Aeróbio e Anaeróbio.....	15
3. OBJETIVOS.....	17
3.1 Objetivos Específicos.....	17
4. METODOLOGIA.....	18
4.1 Alocação dos Participantes.....	18
4.2 Procedimentos.....	18
4.2.1 Coleta de Saliva.....	18
4.2.2 Coleta de <i>swab</i> .....	19
4.2.3 Raspagem e Alisamento Radicular.....	19
4.3 Análises Microbiológicas.....	20
4.3.1 Meio de Cultura.....	20
4.3.2 Extração do DNA e PCR.....	21
4.4 Análises Estatísticas.....	22
5. RESULTADOS.....	23
6. DISCUSSÃO.....	29
7. CONCLUSÃO.....	32
REFERÊNCIAS.....	33

## 1. INTRODUÇÃO

Em dezembro de 2019 a COVID-19 teve seu início em Wuhan, na China e se tornou um grande problema de saúde pública para todos os países do mundo. O SARS-COV-2 é o patógeno responsável que adentra as vias aéreas do hospedeiro causando a doença e sua contaminação geralmente é produzida diretamente pelos próprios indivíduos (falar, respirar, espirrar, tossir).

A pandemia causada pelo coronavírus demonstra as dificuldades no gerenciamento de surtos provenientes de microrganismos. Como já demonstrada em outras epidemias como H1N1, SARS, MERS e EBOLA, a COVID-19 causou expressivo número de mortes e sobrecargas aos serviços de saúde.

A doença despertou na população e, principalmente, nos profissionais da saúde atenção para o risco e para medidas de prevenção em relação a transmissão por vias aéreas e o ar contaminado. Não somente pelo SARS-COV-2, mas também por outros patógenos como citomegalovírus, vírus das hepatites B e C, vírus do herpes simples, HIV, tuberculose, estafilococos e estreptococos, entre outros.

O ambiente odontológico possui alto risco de contaminação devido às características únicas dos equipamentos utilizados. Os aerossóis gerados pelos equipamentos odontológicos são capazes de transportar microrganismos e permanecer no ar por um tempo determinado.

Na rotina odontológica, em procedimentos com aparelho ultrassônico em questão, os aerossóis são uma consideração importante para o controle de possíveis infecções, uma vez que os agentes infecciosos podem ser transmitidos por aerossóis para pacientes ou para a equipe dentro do consultório odontológico. Com isso, o Conselho Federal de Odontologia disponibilizou um Manual de Recomendações para enfrentamento da COVID-19 (Recomendações Amib/CF0 para enfrentamento da COVID-19 na odontologia,202) . Neste Manual, no início da pandemia, recomendou a postergação de tratamentos eletivos e para tratamentos de emergência disponibilizou-se normas de equipamentos de proteção individual.

O aparelho ultrassônico é um instrumento utilizado em procedimentos de Raspagem e Alisamento Radicular na clínica odontológica para tratamento de pacientes portadores de doença periodontal. A doença periodontal é uma doença que acomete os tecidos de proteção (gengiva) e pode se estender também aos tecidos de sustentação (osso, cemento, ligamento periodontal). Essa doença também acarreta um desequilíbrio da microbiota bucal, aumentando a quantidade de patógenos presentes na cavidade bucal.

Os cirurgiões dentistas ao realizarem procedimentos odontológicos não cirúrgicos, como a raspagem e alisamento radicular, não têm em sua rotina clínica a higienização da face do paciente pré e pós procedimento, o que nos traz uma reflexão sobre uma possível contaminação. Neste caso em questão, se houver uma contaminação, o indivíduo carregará consigo patógenos provenientes do aerossol dos equipamentos odontológicos.

Mais estudos devem ser conduzidos com o propósito de responder algumas questões ainda em aberto associando a contaminação por aerossol no ambiente odontológico e principalmente quais medidas podem ser criadas para que essa contaminação seja minimizada.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Doença Periodontal e Microrganismos

Doença periodontal é definida como uma infecção inflamatória, desencadeada por agentes patogênicos presentes no biofilme dental, resultante de um processo que abala os tecidos de proteção, no caso de uma Gengivite, ou que se estendem aos tecidos de sustentação, no caso de uma Periodontite (Papapanou *et al.*, 2018).

Na atualidade a doença periodontal é vista como disbiótica e surge da mudança de uma microbiota Gram positiva para uma Gram negativa. A inflamação provoca mudanças na ecologia do ambiente subgengival e assim proporciona condições ideais para o crescimento de espécies anaeróbias Gram negativas (Loss e Dyke, 2020). Dentre os microrganismos Gram negativos temos: *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

*Porphyromonas gingivalis* influencia no desenvolvimento da doença por apresentar longas fímbrias que colaboram no processo de iniciação e progressão da periodontite (Kuboniwa e Lamont *et al.*, 2010). Assim como a *Treponema denticola*, que é considerado um importante patógeno periodontal por invadir células e tecidos e induzir a degranulação de leucócitos polimorfonucleares; também apresenta atividade hemolítica, imunossupressora e algumas cepas expressam em sua superfície proteínas com atividade citotóxica e de adesão (Roças *et al.*, 2000). Já o *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, com base na literatura, possui um Sorotipo B que é capaz de produzir os maiores danos teciduais (Yang *et al.*, 2004; Melgar-Rodríguez *et al.*, 2015).

A cavidade bucal é um ambiente diversificado contendo uma infinidade de microrganismos, como por exemplo bactérias e vírus, relacionados a outras doenças e infecções. Quando realizado um procedimento odontológico, teremos contato com todos os microrganismos presentes em sua cavidade bucal, incluindo *Mycobacterium tuberculosis*, estafilococos, estreptococos, vírus da imunodeficiência humana, vírus da hepatite B, vírus da hepatite C, vírus herpes simplex, vírus influenza, rinovírus e *Legionella pneumophila* (CDC, 2003; Ionescu *et al.*, 2020).

Como por exemplo, Leggat e Kedjarune (2001) afirmaram em sua revisão de literatura que procedimentos odontológicos geram aerossóis bacterianos, predominantemente dos gêneros *Streptococos* e *Staphylococos*. A *Mycobacterium tuberculosis*, também foi encontrada em partículas de aerossol gerados por uma peça de mão de alta velocidade usada durante o procedimento odontológico em pacientes com tuberculose ativa (Belting *et al.*, 1964). Outras bactérias cocos gram positivas, não formadoras de esporos, que constituem a flora oral, também podem ser espalhadas como partículas de aerossol (Leggat e Kedjarune, 2001).

## 2.2 Aerossol Odontológico

As partículas de aerossóis geradas pelos equipamentos odontológicos, consideradas fontes primárias, são vetores de agentes infecciosos que mostram potencial de contaminação não apenas aos profissionais, mas também aos pacientes e todo ambiente operatório (Ionescu *et al.*, 2020). As partículas geradas pelos procedimentos odontológicos são um composto de saliva, sangue, água, biofilme, fluido crevicular gengival, cálculo e restos de tecido duro do dente (Puljich *et al.*, 2022).

Os aerossóis e respingos produzidos pelas peças de mão são capazes de transportar e difundir patógenos da cavidade bucal e da saliva para o meio extra bucal (Ionescu *et al.*, 2020). A orofaringe é o principal local de colonização de potenciais patógenos respiratórios e o biofilme atua como um reservatório para esses patógenos (Veena *et al.*, 2015) Estes patógenos incluem bactérias, fungos e vírus alojados no nariz, garganta e trato respiratório.

Durante a realização de um procedimento odontológico são geradas três fontes de aerossol. A fonte primária é associada ao próprio paciente e suas ações, como respiração, fala e tosse. A secundária é gerada pelo equipamento odontológico, mas considerada sem caráter infeccioso por não haver interação física com o paciente. E, por último, o aerossol gerado pelo equipamento odontológico, mas considerado infeccioso pela interação com a saliva do paciente durante o procedimento. (Dudding *et al.*, 2022).

Há um consenso de que as partículas de aerossol de 50 µm ou menos representam o maior problema de saúde (Miller e Micik, 1978; Cottone *et al.*, 1996;

Cooley, 1984). Partículas menores são capazes de permanecer no ar por mais tempo e adentrar o trato respiratório. Entretanto, as partículas maiores também preocupam, pois após evaporarem deixam restos de materiais contaminados por bactérias respiratórias, como *Mycobacterium tuberculosis* (Cottone *et al.*, 1996; Jokit, 1992). Independente do tamanho das partículas, o aerossol pode conter elementos sanguíneos com partículas virais aderidas, como o vírus da hepatite B.

Estudos relatam que a contaminação de procedimentos odontológicos pode ser espalhar até 4 m da fonte, com aerossóis permanecendo no ar por até 30 minutos (Allison *et al.*, 2021; Ionescu *et al.*, 2020; Veena *et al.*, 2015). Emery MA, *et al.* 2023 obtiveram em seu estudo que houve contaminação principalmente ao redor do paciente, seguida pelas áreas do clínico e do assistente. Corroborando com outros estudos que afirmaram que quase todos os incidentes de contaminação foram encontrados dentro de 1,2 m, (Innes *et al.*, 2021; Pierre-Bez *et al.*, 2021).

### **2.3 Ultrassom Odontológico**

Estudos indicam que o ultrassom odontológico é o equipamento que mais produz aerossol e respingos (Harrel *et al.*, 1998; Larato *et al.*, 1967). Os aparelhos ultrassônicos possuem uma ponta de vibração rápida (de 25.000 Hz a mais de 42.000 Hz) que é responsável por remover os depósitos dos dentes. O efeito inevitável desta ação é a produção de partículas grandes (respingos) e pequenas (aerossóis) quando o aparelho entra em contato com o líquido. Neste líquido podem estar saliva, sangue e/ou microrganismos, que serão transportados pelo ar (Harrel *et al.*, 1998).

Em 2020 o Grupo Nacional de Ameaças de Vírus Respiratórios Emergentes do Reino Unido descreveu “procedimentos odontológicos (usando dispositivos de alta velocidade, como raspadores ultrassônicos)” como representando um risco aumentado de transmissão de infecção respiratória.

Larato DC e seus colaboradores em 1967 demonstraram em seu estudo que o ultrassom odontológico libera um grande número de microrganismos no ar, quando este é usado para remover os cálculos dentários. As gotas de água emitidas pela ponta do

equipamento são extremamente leves, pois após 35 minutos do procedimento ainda podiam ser coletadas no ar.

Em 2021 Akin H *et al.* avaliaram o tamanho da partícula produzida durante vários procedimentos odontológicos e obtiveram como resultado que a raspagem ultrassônica produziu respingos (diâmetro médio de 300  $\mu\text{m}$ ) e aerossóis (diâmetro médio de 1,38  $\mu\text{m}$ ) até 100 cm da boca do paciente, sendo este o ponto mais distante em que os dados do estudo foram coletados.

Pierre-Bez e seus colaboradores em 2021 realizaram testes complementares para determinar o tamanho e a dispersão de partículas e gotículas durante a escala ultrassônica, permitindo uma avaliação abrangente de aerossóis, incluindo a direção, concentração e distribuição de tamanho de gotículas e partículas. Gotas com diâmetros entre 25 e 50  $\mu\text{m}$  foram as mais prevalentes. Os autores identificaram que o lado oposto à mão de trabalho do operador foi a região com a maior concentração de gotículas e que partículas foram detectadas em uma distância de até 2,4m em todas as direções.

Ainda em 2021, Allisson JR e seus colaboradores realizaram procedimentos odontológicos com aparelho de ultrassom e afirmaram detectar aerossóis a uma distância da fonte de até 2m, em maiores níveis e até 4m, em níveis mais baixos.

## **2.4 Meio de Cultura e PCR**

Os meios de cultura são preparações químicas feitas em laboratórios que fornecem nutrientes para o crescimento e desenvolvimento de microrganismos, como por exemplo os fungos e as bactérias, fora do seu habitat natural. Cada tipo de meio de cultura é indicado para uma determinada função e um microrganismo: alguns têm a função de nutrir e estimular o crescimento, outros inibem determinado microrganismo e conseguem indicar seu potencial hidrogeniônico. O meio de cultura traz a contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) tanto para bactérias aeróbias, quanto para anaeróbias.

Antigamente as técnicas de cultura eram consideradas um método clássico e padrão ouro de diagnóstico para detectar as espécies bacterianas que residem no meio subgingival, no entanto, apresentam sérias limitações, principalmente a dificuldade de

recuperação de espécies cultiváveis quando encontradas em baixo número. Além disso, espécies bacterianas significativas podem ser encontradas no biofilme subgingival, como as espécies de *Treponema* e *Tannerella forsythensis*, que requerem condições de crescimento rigorosas e, portanto, são difíceis de detectar e quantificar por meio de cultura (Tanner *et al.*, 1986; Sakamoto *et al.*, 2002; Lau *et al.*, 2004).

A reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real (qPCR), é uma técnica baseada na reação em cadeia da polimerase (PCR) convencional usada para amplificar e quantificar simultaneamente um DNA alvo. Um termociclador óptico é capaz de detectar a fluorescência eventualmente produzida pela amostra e determinar com precisão a quantidade de DNA alvo presente. Portanto, a qPCR pode ser utilizada para se avaliar a presença de um patógeno em uma amostra, podendo ser um teste qualitativo ou quantitativo (Charanjeet e Sinchita, 2016).

Lau *et al.*, 2004 afirmam que a PCR em tempo real com primers espécie-específicos fornece um método muito específico e sensível para uma detecção precisa de microrganismos-alvo e, ao mesmo tempo, permite a quantificação de espécies bacterianas individuais.

Diferenças entre PCR e cultura podem ser devidas à homogeneização insuficiente das amostras, fatores que afetam o crescimento isolado em presença de espécies bacterianas antagonistas. Uma grande e principal diferença entre a PCR e a cultura é que a PCR também detecta células bacterianas inviáveis (Boutaga *et al.*, 2003).

## **2.5 Microrganismos aeróbio e anaeróbio**

Nas infecções bacterianas clássicas, a diversidade da microbiota diminui à medida que a doença se desenvolve, no entanto, nos casos de doença periodontal, a diversidade da flora aumenta à medida que a doença se desenvolve (Mombelli, 2018).

As infecções são nomeadas como bifásicas, em sua fase aguda predominantemente composta por microrganismos aeróbios e em fases mais avançadas predominantemente composta por microrganismos anaeróbios. (Brook, 1995).

Numerosas alterações ambientais na microflora oral, incluindo o pH, a anaerobiose e a nutrição, podem levar a uma acumulação de bactérias associadas à periodontite no sulco subgingival, resultando no início da periodontite humana (Abiko *et al.*, 2010).

Na atualidade a doença periodontal é vista como disbiótica e surge da mudança de uma microbiota Gram positiva para uma Gram negativa. A inflamação provoca mudanças na ecologia do ambiente subgingival e assim proporciona condições ideais para o crescimento de espécies anaeróbias Gram negativas (Loss & Dyke, 2020).

Bactérias aeróbias são aquelas que sobrevivem na presença de oxigênio, por exemplo, no ar ambiente; eles também podem crescer em laboratório sob condições anaeróbicas, mas preferem condições aeróbicas. Alguns são aeróbicos obrigatórios, como *Mycobacterium tuberculosis* e *Pseudomonas aeruginosa*; outros são anaeróbios facultativos, sobrevivendo com e sem oxigênio, como *Staphylococcus aureus* e membros das Enterobacteriaceae (como *Escherichia coli* e *Salmonella spp.*). Os anaeróbios obrigatórios incluem *Bacteroides fragilis* e a maioria dos *Clostridium spp.* Alguns anaeróbios, como *Clostridium tertium*, são denominados anaeróbios aerotolerantes, pois seu metabolismo é anaeróbico, mas podem existir na presença de oxigênio (Hall e Carroll, 2016).

### **3. OBJETIVOS**

O objetivo geral do presente estudo foi avaliar a contaminação extraoral causada pelo tratamento com ultrassom no atendimento clínico de pacientes com doença periodontal.

#### **3.1 OBJETIVOS SECUNDÁRIOS**

- Comparar as regiões coletadas nos momentos pré e pós procedimento por meio das técnicas de UFC e PCR.
- Comparar as regiões coletadas em relação condição, aeróbio e anaeróbio, por meio da contagem de UFC.
- Comparar as regiões coletadas em relação a condição, aeróbio e anaeróbio, por meio de PCR.

## **4. METODOLOGIA**

O presente estudo foi conduzido na clínica de pós-graduação da Universidade de Taubaté - São Paulo, Brasil. Este estudo foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética sob número CAAE: 42985121.0.0000.5501.

### **4.1 Alocação dos participantes**

Foram incluídos 30 participantes portadores de doença periodontal (não houve classificação específica) de ambos os gêneros com ao menos 14 dentes naturais em boca e em boas condições de saúde geral maiores de 18 anos de idade. Os indivíduos forem excluídos nas seguintes condições: (I) diabéticos não controlados, (II) imunossuprimidos, (III) mulheres grávidas / lactantes, (IV) usuários de próteses fixas extensas.

O modelo de coleta das amostras utilizado neste estudo é inédito, ou seja, foi criado através de muita pesquisa e estudos pelo grupo de professores e alunos da Universidade de Taubaté em parceria com o Instituto Tecnológico da Aeronáutica. As coletas foram desenhadas a partir de uma análise do procedimento odontológico com a utilização do ultrassom e o caminho percorrido pelo aerossol.

### **4.2 Procedimentos**

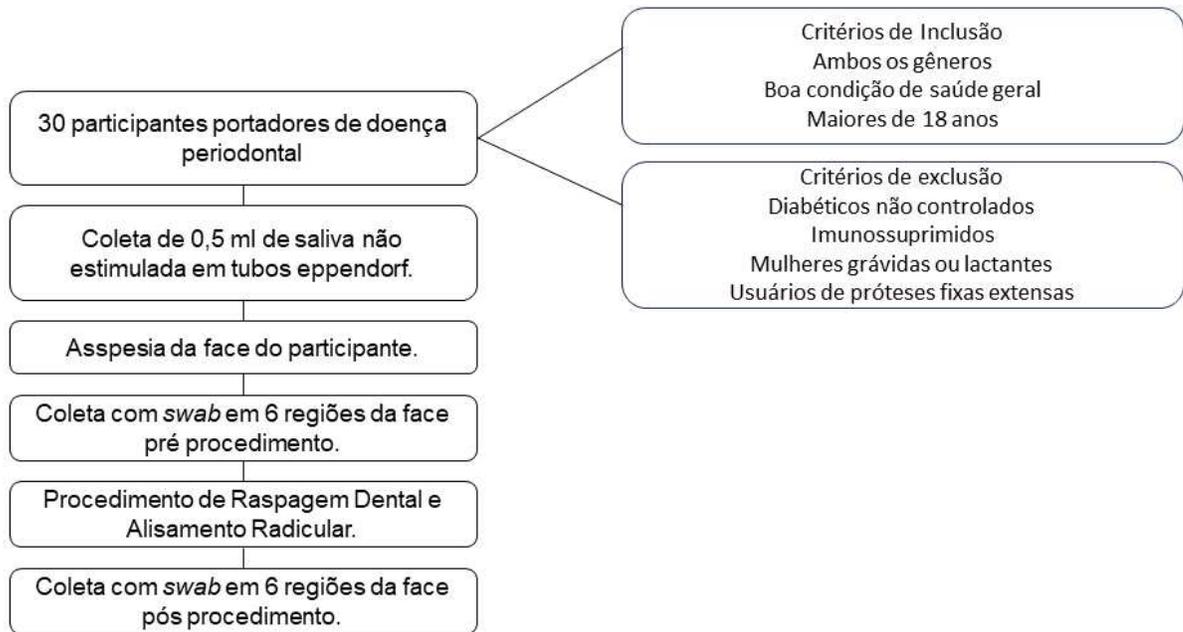


Fig. Fluxograma de Procedimentos

#### 4.2.1 Coleta de Saliva

Antes do início do procedimento clínico, foi realizada a coleta de 0,5ml de saliva não estimulada depositadas em tubos eppendorf estéreis. As amostras foram armazenadas em freezer  $-80^{\circ}\text{C}$  no laboratório CEPEO (Centro de Pesquisa Odontológico) até seu processamento que incluiu quantificação microbiana por meio de cultura (e posteriormente analisada pela técnica PCR).

#### 4.2.2 Coleta com swab

Primeiramente a face do paciente foi higienizada com Clorexidina 2% e em seguida foi realizada a primeira coleta de swab. Após o procedimento clínico foi realizada uma segunda coleta na face do paciente. Foram demarcados 6 regiões da face: maçã do rosto do lado direito e esquerdo, asa do nariz do lado direito e esquerdo, lábio superior e queixo. Os swabs foram embebidos em uma solução de soro fisiológico.

Os óculos de proteção foram higienizados com álcool 70 antes do procedimento e após procedimento realizou-se uma terceira coleta com swab nos mesmos.

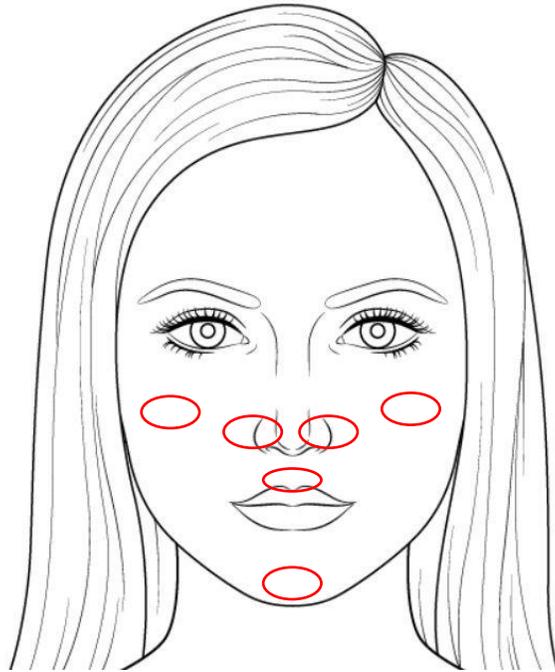


Fig 1. Demarcação das regiões de coleta com *swab*.

#### 4.2.3 Raspagem e Alisamento Radicular

Os participantes foram submetidos ao procedimento de raspagem e alisamento radicular durante um período de 3 minutos com o auxílio do equipamento ultrassônico Sonic Borden 2000N (Kavo, São Paulo, Brasil).



Fig 2. Procedimento de Raspagem e Alisamento Radicular.

### 4.3 Análises Microbiológicas

#### 4.3.1 Meio de Cultura

Imediatamente após a coleta, as amostras foram distribuídas em placas de ágar-sangue em duplicatas. Seguindo Balejo *et al.*, 2017, as placas foram incubadas por 48h a 35 ° C, para determinar as contagens aeróbias totais. Para a incubação anaeróbica, também de 48h a 35°C, foram utilizadas jarras geradores de atmosfera especial *Anaerobac* (Probac do Brasil – São Paulo). As unidades formadoras de colônias bacterianas (UFC) foram contadas por um sistema automatizado de contagem de colônias por um único pesquisador.

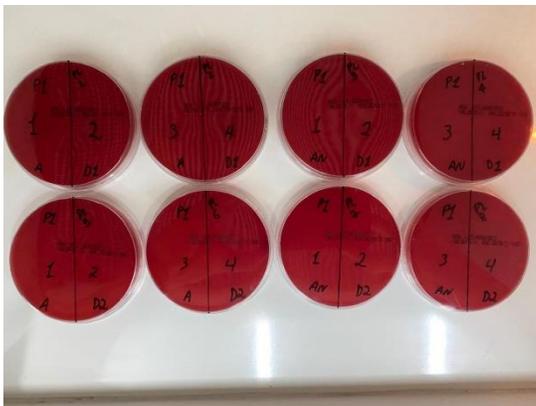


Fig 3. Placas após realização da semeadura.

#### 4.3.2 Extração do DNA e PCR (Polymerase Chain Reaction)

As amostras foram centrifugadas ( $10.000 \times g$  por 10 min a 4 ° C) e 500  $\mu$ l do sobrenadante foram transferidos para um tubo de 1,5 ml, que foi centrifugado ( $10.000 \times g$  por 3 min a 25 ° C) e o sobrenadante descartado, produzindo um pellet. O DNA genômico (gDNA) foi extraído do pellet e purificado usando PureLink Genomic DNA Mini Kit (Life Technologies; Carlsbad, CA, EUA) de acordo com as especificações do fabricante. Primeiramente calculou-se para o preparo do tampão de lisozima e adicionou 500  $\mu$ l em cada uma das amostras. Retirou-se 180  $\mu$ l e colocou-se em um microtubo de 1,5ml, o restante foi armazenado em freezer -20°C. Os microtubos foram vortexados e

incubados em estufa por um período de 30 min a 37°C. Posteriormente, cada microtubo recebeu adição de 20 µl de Proteinase K e foi vortexado. Recebeu, ainda, adição de 200 µl de Genomic Lysis e vortexação e foi incubado à 55°C por 2 horas. Recebeu adição de 200 µl de etanol, vortexou por 5 segundos e centrifugou por 3 minutos para o conteúdo que estava aderido na tampa descer. Transferiu-se todo o conteúdo para o tubo do Kit (contém coluna de sílica) e centrifugou por 1 minuto. Descartou-se o tubo coletor de baixo e substituiu-se por um novo. Acrescentou 500 µl de Wash Buffer 1 e centrifugou à 12000 rpm por 1 minuto. Descartou-se novamente a coluna removível e substituiu-se por uma nova. Acrescentou-se 500 µl de Wash Buffer 2 e centrifugou-se à 12000 rpm por 3 minutos. Descartou-se o tubo coletor novamente e substituiu-se por um microtubo (1,5ml). Acrescentou-se 30 µl de Genomic Elution Buffer e centrifugou-se 12000 rpm por 1 minuto. Descartou-se o tubo com a coluna de sílica e obteve-se o DNA extraído no microtubo. Posteriormente iniciou-se a PCR.

A quantificação de células bacterianas totais foi realizada por PCR quantitativo em tempo real (qPCR) utilizando o ensaio TaqMan (TaqMan Universal PCR Master Mix II, Life Technologies) no aparelho 7500 Fast Real-Time PCR System da Applied Biosystems seguindo as instruções do fabricante em reações de 20 µl. As condições de qPCR foram: 50 ° C por 2 min, 95 ° C por 10 min, 40 ciclos de 95° C por 15 min e 60 ° C por 1 min.



Fig 4. Coleta de colônia na placa após o tempo de incubação.

#### 4.4 Análise Estatística

Após o processamento laboratorial, os dados foram tabulados e organizados.

Primeiramente foi realizado o teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov, em que as amostras foram classificadas como não normais. Assim escolheram-se os testes de Wilcoxon e T-Student One-Sample. Os testes apropriados foram adotados com um nível de significância de 5% e o intervalo de confiança (IC) de 95%.

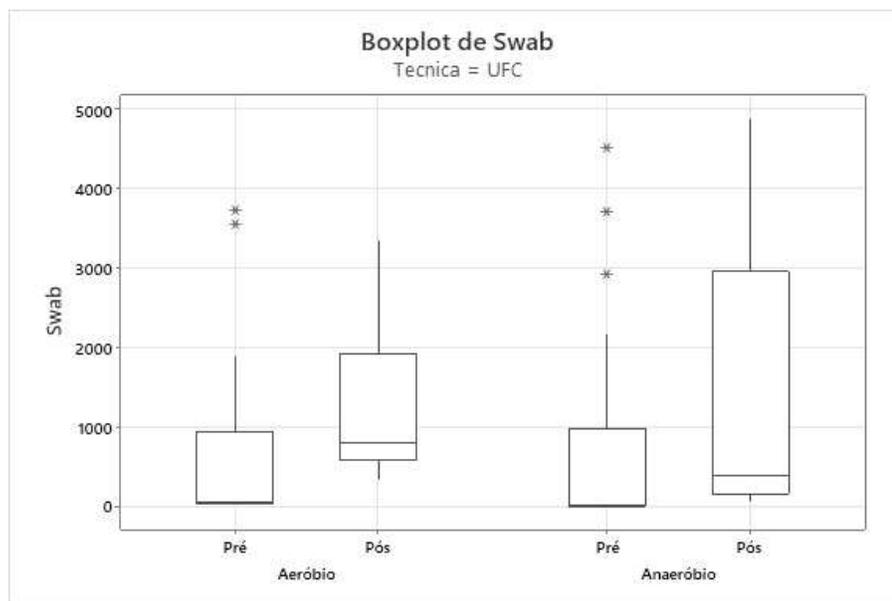
## 5. RESULTADOS

Este estudo contou com o total de 30 participantes portadores de doença periodontal submetidos ao tratamento de Raspagem e Alisamento Radicular com a utilização de aparelho ultrassônico. Previamente realizou-se a coleta de saliva e amostras de *swab* foram coletadas em 6 regiões da face do participante pré e pós procedimento odontológico.

Ao comparar os tempos pré e pós para o resultado do *swab* pela técnica de UFC observou-se que houve aumento tanto na condição aeróbia quanto anaeróbia, sendo este dado estatisticamente significativo, pois no ambiente anaeróbio a média foi 657,8 para 1.310,0 (p-valor <0,001) (tabela 1 e gráfico 1).

Tabela 1. Comparação dos momentos pré e pós *swab* para a técnica de UFC.

			Média	Desvio padrão	P-valor
UFC	Aeróbio	Pré	530,0	979,1	<0,001
		Pós	1.204,8	896,0	
	Anaeróbio	Pré	657,8	1.213,5	<0,001
		Pós	1.310,0	1.633,5	

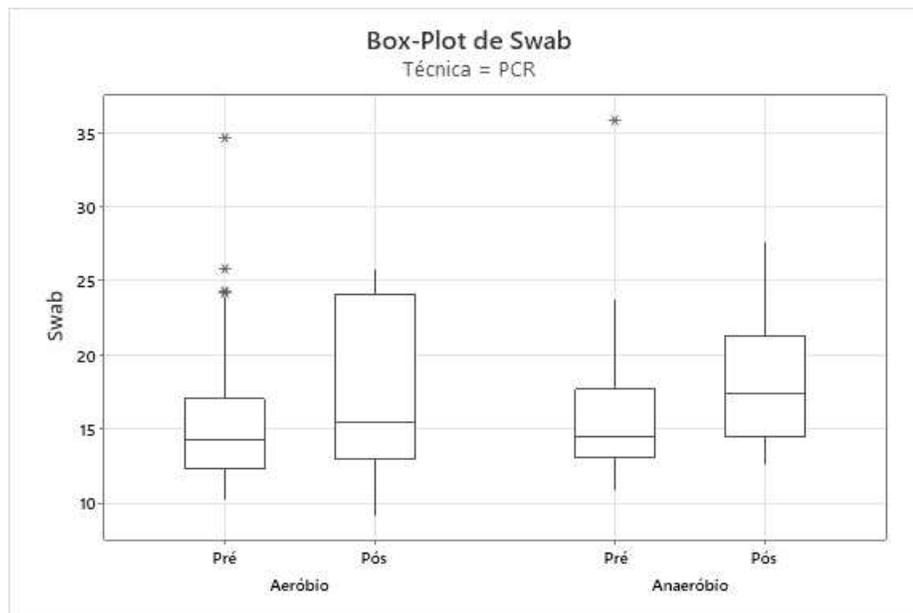
Gráfico 1. Box-Plot dos Momentos para *swab* na técnica UFC.

Para a técnica de PCR nos momentos pré e pós houve aumento dos valores, mas somente na condição anaeróbio esse aumento foi estatisticamente significativo com a média aumentando de 15.925.400 para 18.277.647 para (p-valor = 0,008) (tabela 2 e gráfico 2).

Tabela 2. Comparação dos tempos pré e pós *swab* para a técnica de PCR

			Média	Desvio padrão	P-valor
PCR	Aeróbio	Pré	16.123.638	5.691.694	0,530
		Pós	16.901.014	5.301.411	
	Anaeróbio	Pré	15.925.400	4.837.723	0,008
		Pós	18.277.647	4.093.623	

Gráfico 2. Box-Plot dos Momentos para *swab* na Técnica PCR.



Para comparar a medida de coleta dos óculos precisou-se adotar uma medida inicial de 0, pois os óculos foram esterilizados antes do início do procedimento, utilizando do teste de t-Student One-Sample para obtenção do resultado. A comparação foi realizada tanto para a condição de aeróbio quanto de anaeróbio, para ambas as técnicas, UFC e PCR.

Nas duas condições (aeróbio e anaeróbio) e tanto na técnica de UFC quanto de PCR, foram observados valores médios estatisticamente diferentes de zero, mostrado na tabela 3, gráficos 4 e 5.

Tabela 3. Comparação dos valores de óculos com a condição e técnica.

	Óculos	Média	Desvio padrão	P-valor
UFC	Aeróbio	314,2	392,2	<0,001
	Anaeróbio	400,8	635,7	0,002
PCR	Aeróbio	20.575.731	4.377.175	<0,001
	Anaeróbio	16.987.983	2.938.492	<0,001

Gráfico 4. Box-Plot para Óculos na Técnica UFC.

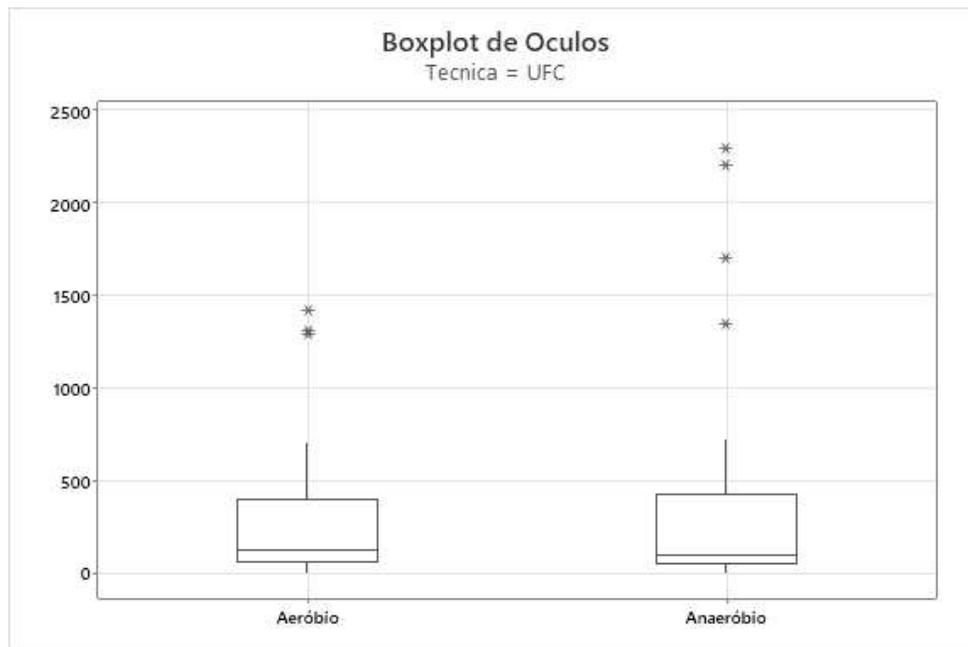
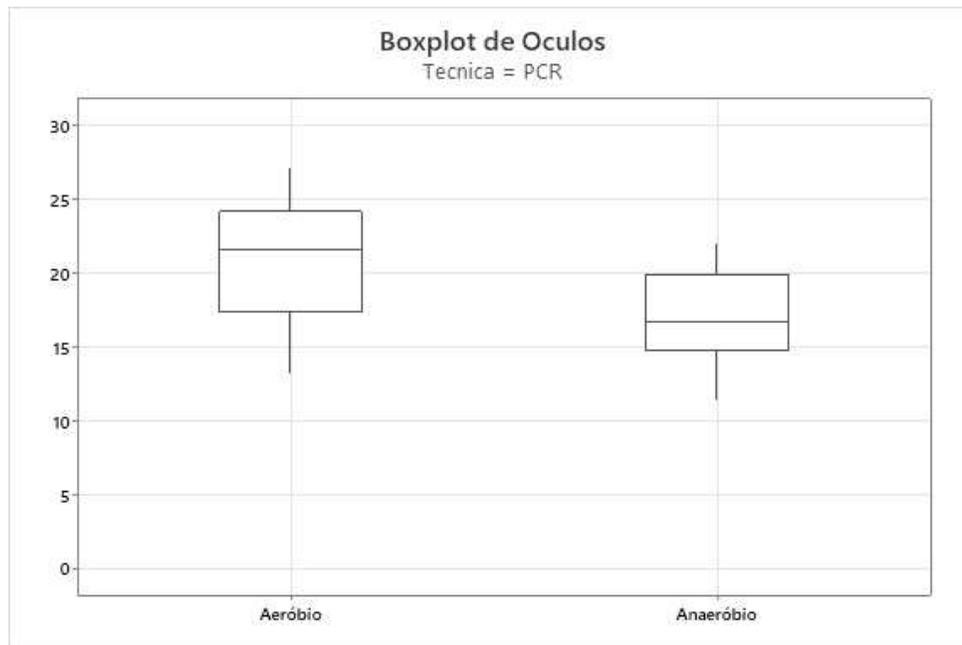


Gráfico 5. Box-Plot para Óculos na Técnica PCR.



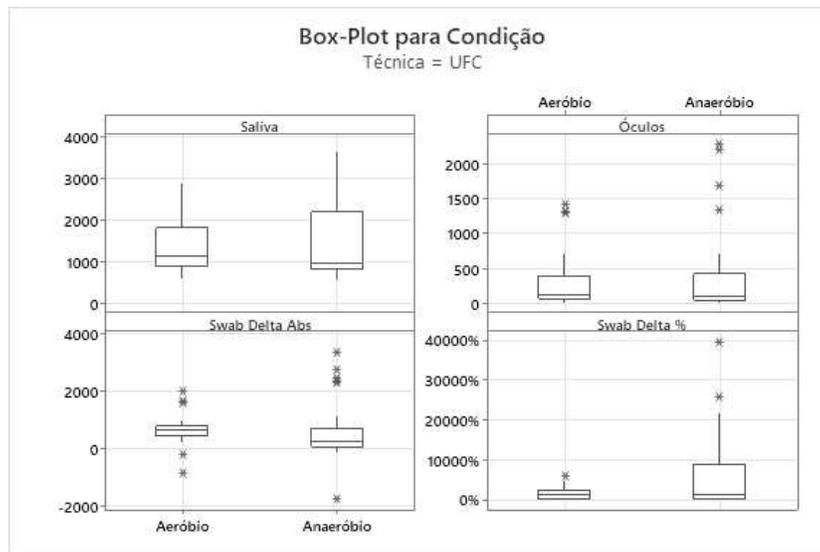
Na comparação entre as duas condições, aeróbio e anaeróbio, foi utilizado o teste de Wilcoxon. Essa comparação foi realizada para saliva, óculos e para o Delta (diferença matemática simples de pós – pré). Essa análise foi feita nos resultados da técnica de UCF e PCR, separadamente. Lembrando que o Delta foi analisado em valor absoluto e em percentual, ou seja, ponderado pelo valor do pré.

A tabela 4 e o gráfico 6 apresentam que em UFC existe diferença entre as condições para o *swab* Delta %, onde tivemos média de 1557% para aeróbio contra 6602% em anaeróbio ( $p$ -valor = 0,015).

Tabela 4. Comparação das condições para Saliva, Óculos e *swab* Delta em UFC.

UFC		Média	Desvio padrão	P-valor
Saliva	Aeróbio	1.340	566	0,491
	Anaeróbio	1.438	865	
Óculos	Aeróbio	314	392	0,531
	Anaeróbio	401	636	
Swab Delta Abs	Aeróbio	675	522	0,371
	Anaeróbio	652	1.047	
Swab Delta %	Aeróbio	1557%	1515%	0,015
	Anaeróbio	6602%	9856%	

Gráfico 6: Box-Plot da Condição para Saliva, Óculos e Delta do *swab* em UFC.

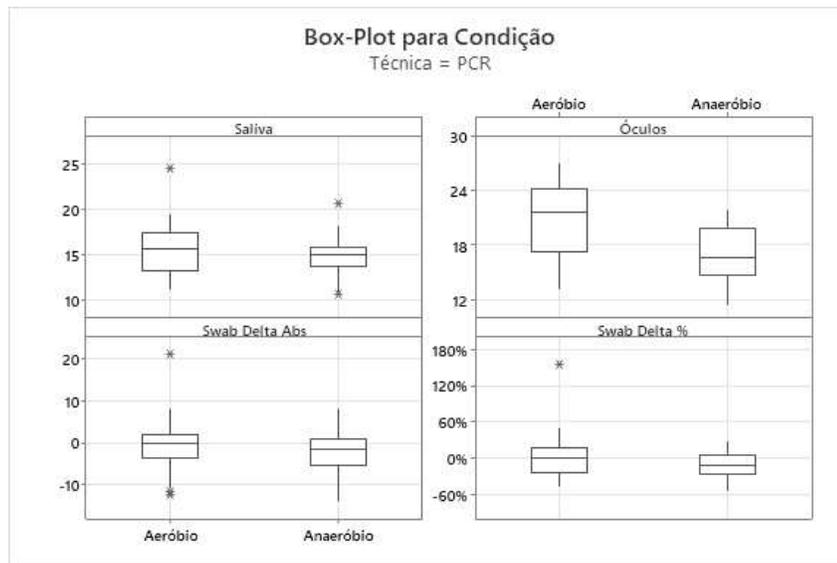


Já a tabela 5 e o gráfico 7, apresentam a comparação entre saliva, *swab* e delta para a técnica de PCR, onde encontrou-se significância estatística entre as condições apenas em Óculos, onde a média ficou em 20.574.731 para aeróbio contra 16.987.983 em anaeróbio (p-valor <0,001).

Tabela 5. Comparação das condições para Saliva, Óculos e *swab* Delta em PCR.

PCR		Média	Desvio padrão	P-valor
Saliva	Aeróbio	15.511.000	2,821	0,102
	Anaeróbio	14.803.000	2,348	
Óculos	Aeróbio	20.575.000	4,377	<0,001
	Anaeróbio	16.988.000	2,938	
Swab Delta Abs	Aeróbio	-0,777	6,787	0,299
	Anaeróbio	-2,352	4,459	
Swab Delta %	Aeróbio	1,2%	39,3%	0,195
	Anaeróbio	-11,3%	19,7%	

Gráfico 7: Box-Plot da Condição para Saliva, Óculos e Delta do *swab* em PCR



## 6. DISCUSSÃO

Um novo tipo de coronavírus foi oficialmente anunciado, pelo Centro Chinês de Controle e Prevenção de Doenças, como o patógeno causador da COVID-19 (*Corona Virus Disease*) em 8 de janeiro de 2020 (Li *et al.*, 2020). Estudos de caso em todo o mundo indicam que o SARS-CoV-2 tem taxas de sobrevivência viável no aerossol por pelo menos três horas, sendo emitido por indivíduos infectados (Lelieveld *et al.*, 2020).

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

A pandemia de 2019 reforçou medidas de biossegurança e alertou para cuidados específicos o cenário dos cirurgiões dentistas devido às características específicas do atendimento odontológico, como a geração de aerossóis e a proximidade com os pacientes (Tonkaboni *et al.*, 2021). Com isso nos trouxe o questionamento sobre a contaminação pós procedimento, não somente do operador, mas também do próprio paciente. Os microrganismos presentes na cavidade bucal se alojam nas partículas de aerossol e são transmitidos pelo ar, podendo infectar, por exemplo, a face do paciente.

A maior dificuldade presente neste estudo foi na busca de artigos e/ou estudos semelhantes que analisaram microrganismos presentes nos tempos pré e pós procedimento e se havia diferença na quantidade entre os tempos. Com isso, houve a necessidade da inovação do método de coleta, desenhado a partir da sequência clínica do procedimento odontológico, devido a contaminação da face do paciente entendeu-se a importância da coleta em regiões da face. Previamente ao procedimento é realizada a assepsia na face do paciente, mas não há regras sobre a assepsia pós procedimento visualizando a prevenção de contaminação e infecção.

Entendendo o momento em que vivemos e possíveis protocolos que podem ser criados, este estudo foi produzido a partir da real necessidade de prevenção de contaminação do ambiente odontológico e com a prioridade da proteção do paciente, já que os cirurgiões dentistas, mesmo que contaminados, utilizam de equipamentos de proteção individual.

Os principais resultados deste estudo clínico indicam que no momento pós procedimento por meio da análise do *swab* houve um crescimento no número total de bactérias, tanto para aeróbias quanto para anaeróbias, nas duas técnicas de biologia molecular UFC e PCR.

Os óculos usados durante o procedimento foram previamente esterilizados. Sendo assim considerou-se o valor nulo no momento pré e o resultado confirmou o crescimento na quantidade total de carga bacteriana nas condições aeróbia e anaeróbia, como também nas duas técnicas UFC e PCR.

As colônias de bactérias, ficam unidas e, através da contagem, é possível realizar o estudo do comportamento e da estrutura desses microrganismos. Neste estudo utilizamos do meio de cultura ágar sangue por se tratar de um meio enriquecido usado para cultivar bactérias que não crescem facilmente. Por outro lado, utilizamos também a técnica de PCR em tempo real, para gerar dados quantitativos com maior precisão em tempo real, permitindo a detecção e amplificação simultaneamente. Técnica que contém elevada sensibilidade e especificidade.

Por essas razões foram usadas as duas técnicas para o enriquecimento do trabalho e complementação de dados, evitando vieses e possibilitando a confirmação dos resultados, como também fizeram Lau Lz *et al.*, 2004 concluindo que o estudo demonstrou uma boa concordância entre a tecnologia de PCR e o procedimento de cultura, a alta sensibilidade e especificidade da tecnologia de PCR e a capacidade da técnica de cultura de detectar várias espécies bacterianas coincidentemente e de detectar bactérias inesperadas.

Boutaga K *et al.* 2003, concluíram em seu estudo clínico que os resultados da PCR em tempo real confirmaram os da cultura quantitativa, mas asseguraram que a PCR em tempo real oferece vantagens significativas com relação à rapidez e sensibilidade quando comparada a técnica de cultura, corroborando o presente trabalho em que são utilizadas as técnicas de PCR e de cultura para complementação de dados dando maior peso e significado para a qualidade do resultado.

O crescimento na quantidade de carga total bacteriana nos momentos pré e pós procedimento traz a confirmação que as bactérias presentes na cavidade bucal podem ser transmitidas para o meio extrabucal através do uso de peças de mão odontológicas, corroborando Ionescu *et al.* 2020 que afirmaram que os aerossóis e respingos produzidos durante o atendimento odontológico são capazes de se difundir para o meio extrabucal.

Assim como afirmado por Dudding *et al.*, 2022 que concluíram que o aerossol gerado pelo equipamento odontológico é infeccioso pela interação com a saliva do paciente durante o procedimento, confirmando os resultados aqui apresentados que mostram o aumento de carga total bacteriana nos momentos pré e pós procedimento tanto para a condição anaeróbio quanto para aeróbio.

Os autores Allison *et al.*, 2021; Ionescu *et al.*, 2020; Veena *et al.*, 2015 afirmaram que a contaminação de procedimentos odontológicos pode ser espalhar até 4 m da fonte e Emery MA, *et al.* 2023 obtiveram em seu estudo que houve contaminação principalmente ao redor do paciente, seguida pelas áreas do clínico e do assistente indo de encontro com o achado deste presente estudo pelo aumento do carga total bacteriana no óculos pós procedimento, trazendo a confirmação que o aerossol gerado pelo procedimento odontológico pode se propagar no meio extra bucal e atingir o próprio paciente.

O presente estudo clínico se classifica como um dos pioneiros, então há a necessidade de mais estudos para confirmar os achados sobre a contaminação extraoral e a disseminação de bactérias na face dos pacientes durante os atendimentos odontológicos com uso de ultrassom.

## **7. CONCLUSÃO**

O presente estudo pôde concluir que houve contaminação extraoral causada pelo tratamento com ultrassom no atendimento clínico de pacientes com doenças periodontal. Essa contaminação extraoral comprovou o risco de o paciente carregar consigo, na face, bactérias presentes na cavidade bucal e com isso deve-se enfatizar a necessidade da assepsia pós procedimento como um método de biossegurança.

As técnicas usadas demonstraram concordância nos resultados e confirmaram suas especificidades em relação à carga total bacteriana. Seu uso para conjunto complementou e enriqueceu a análise dos dados.

## REFERÊNCIAS

Abiko Y, Sato T, Mayanagi G, Takahashi N. Profiling of subgingival plaque biofilm microflora from periodontally healthy subjects and from subjects with periodontitis using quantitative real-time PCR. **J Periodontal Res.** 2010 Jun;45(3):389-95. doi: 10.1111/j.1600-0765.2009.01250.x. Epub 2010 Mar 9. PMID: 20337892.

Allison JR, Currie CC, Edwards DC, Bowes C, Coulter J, Pickering K, Kozhevnikova E, Durham J, Nile CJ, Jakubovics N, Rostami N, Holliday R. Evaluating aerosol and splatter following dental procedures: Addressing new challenges for oral health care and rehabilitation. **J Oral Rehabil.** 2021 Jan;48(1):61-72. doi: 10.1111/joor.13098. Epub 2020 Oct 8. PMID: 32966633; PMCID: PMC7537197.

Balejo RDP, Cortelli JR, Costa FO, Cyrino RM, Aquino DR, Cogo-Müller K, Miranda TB, Moura SP, Cortelli SC. Effects of chlorhexidine preprocedural rinse on bacteremia in periodontal patients: a randomized clinical trial. **J Appl Oral Sci.** 2017 Nov-Dec;25(6):586-595. doi: 10.1590/1678-7757-2017-0112. PMID: 29211279; PMCID: PMC5701528.

Belting CM, Haberfelde GC, Juhl LK. Spread of organisms from dental air rotor. **J Am Dent Assoc.** 1964 May;68:648-51. doi: 10.14219/jada.archive.1964.0145. PMID: 14143872.

Boutaga K, van Winkelhoff AJ, Vandenbroucke-Grauls CM, Savelkoul PH. Comparison of real-time PCR and culture for detection of *Porphyromonas gingivalis* in subgingival plaque samples. **J Clin Microbiol.** 2003 Nov;41(11):4950-4. doi: 10.1128/JCM.41.11.4950-4954.2003. PMID: 14605122; PMCID: PMC262485.

Brook I. Pathogenesis and management of polymicrobial infections due to aerobic and anaerobic bacteria. **Med Res Rev.** 1995 Jan;15(1):73-82. doi: 10.1002/med.2610150106. PMID: 7898170.

Chan JF, Yuan S, Kok KH, To KK, Chu H, Yang J, et al. A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. **Lancet** 2020;395:514e23.

Cooley RL. Aerosol hazards. In: Goldman HS, Hartman KS, Messite J, eds. Occupational hazards in dentistry. **Chicago: Year Book Medical Publishers;** 1984:21-33

Cottone JA, Terezhalmay GT, Molinari JA. Practical infection control in dentistry. **Williams & Wilkins;** 1996:139-40

Dudding T, Sheikh S, Gregson F, Haworth J, Haworth S, Main BG, Shrimpton AJ, Hamilton FW; AERATOR group; Ireland AJ, Maskell NA, Reid JP, Bzdek BR, Gormley M. A clinical observational analysis of aerosol emissions from dental procedures. **PLoS One.** 2022 Mar 10;17(3):e0265076. doi: 10.1371/journal.pone.0265076. PMID: 35271682; PMCID: PMC8912243.

Emery MA, Reed D, McCracken B. Novel use of riboflavin as a fluorescent tracer in the dissemination of aerosol and splatter in an open operatory dental clinic. **Clin Exp Dent Res.** 2023 Mar 31. doi: 10.1002/cre2.727. Epub ahead of print. PMID: 37000173.

Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, Liang WH, Ou CQ, He JX, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. **N Engl J Med** 2020;382:1708e20.

Hall G, Carroll KC. Selected Topics in Aerobic Bacteriology. **Microbiol Spectr.** 2016 Aug;4(4). doi: 10.1128/microbiolspec.DMIH2-0027-2016. PMID: 27726805.

Han P, Li H, Walsh LJ, Ivanovski S. Splatters and Aerosols Contamination in Dental Aerosol Generating Procedures. **Applied Sciences**. 2021; 11(4):1914. <https://doi.org/10.3390/app11041914>

Harrel SK, Barnes JB, Rivera-Hidalgo F. Aerosol and splatter contamination from the operative site during ultrasonic scaling. **J Am Dent Assoc**. 1998 Sep;129(9):1241-9. doi: 10.14219/jada.archive.1998.0421. PMID: 9766105.

Ionescu, A. C.; Cagetti, M. G.; Ferracane, J. L.; Garcia-Godoy, F.; Brambilla, E. Topographic aspects of airborne contamination caused by the use of dental handpieces in the operative environment. **The Journal of the American Dental Association**, v. 151, n. 9, p. 660–667, 2020.

Jokit W, ed. **Zinsser's microbiology**. 20th ed. Norwalk, Conn: Appleton & Lange; 1992:497-525.

Kimmerle , H.; Wiedmann-Al-Ahmad, M; Pelz, K.; Wittmer, A.; Hellwig, E.; Al-Ahmad, A. Airborne microbes in different dental environments in comparison to a public area. **Archives of Oral Biology**, v. 57, n. 6, p. 689–696, 2012.

Kuboniwa M, Lamont RJ. Subgingival biofilm formation. **Periodontol 2000**. 2010 Feb;52(1):38-52. doi: 10.1111/j.1600-0757.2009.00311.x. PMID: 20017794; PMCID: PMC3665295.

Larato DC, Ruskin PF, Martin A. Effect of an ultrasonic scaler on bacterial counts in air. **J Periodontol**. 1967 Nov-Dec;38(6):550-4. doi: 10.1902/jop.1967.38.6\_part1.550. PMID: 5234643.

Lau L, Sanz M, Herrera D, Morillo JM, Martín C, Silva A. Quantitative real-time polymerase chain reaction versus culture: a comparison between two methods for the detection and quantification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Tannerella forsythensis* in subgingival plaque samples. **J Clin Periodontol**. 2004 Dec;31(12):1061-9. doi: 10.1111/j.1600-051X.2004.00616.x. PMID: 15560806.

Leggat, P. A.; Kedjarune, U. Bacterial aerosols in the dental clinic: A review. **International Dental Journal**, v. 51, n. 1, p. 39–44, 2001.

Lelieveld, J.; Helleis, F.; Borrmann, S.; Cheng, Y.; Drewnick, F.; Haug, G.; Klimach, T.; Sciare, J.; Su, H.; Pöschl, U. Model calculations of aerosol transmission and infection risk of covid-19 in indoor environments. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 21, p. 1–18, 2020.

Li Q, Guan X, Wu P, Wang X, Zhou L, Tong Y, Ren R, Leung KSM, Lau EHY, Wong JY, Xing X, Xiang N, Wu Y, Li C, Chen Q, Li D, Liu T, Zhao J, Liu M, Tu W, Chen C, Jin L, Yang R, Wang Q, Zhou S, Wang R, Liu H, Luo Y, Liu Y, Shao G, Li H, Tao Z, Yang Y, Deng Z, Liu B, Ma Z, Zhang Y, Shi G, Lam TTY, Wu JT, Gao GF, Cowling BJ, Yang B, Leung GM, Feng Z. Early Transmission Dynamics in Wuhan, China, of Novel Coronavirus-

Infected Pneumonia. **N Engl J Med.** 2020 Mar 26;382(13):1199-1207. doi: 10.1056/NEJMoa2001316. Epub 2020 Jan 29. PMID: 31995857; PMCID: PMC7121484.

Loos BG, Van Dyke TE. The role of inflammation and genetics in periodontal disease. **Periodontol 2000.** 2020 Jun;83(1):26-39. doi: 10.1111/prd.12297. PMID: 32385877; PMCID: PMC7319430.

Melgar-Rodríguez, S. et al. Serotype b of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* increases osteoclast and memory T-lymphocyte activation. **Mol Oral Microbiol**, n.7, p.14, 2015.

Miller RL, Micik RE. Air pollution and its control in the dental office. **Dent Clin North Am.** 1978 Jul;22(3):453-76. PMID: 277420.

Mombelli, A. Microbial colonization of the periodontal pocket and its significance for periodontal therapy. **Periodontol 2000**, 2018, 76: 85-96. <https://doi.org/10.1111/prd.12147>

NHS National Services Scotland, **Assessing the Evidence Base for Medical Procedures Which Create a Higher Risk of Respiratory Infection Transmission From Patient to Healthcare Worker**, 2020 (Accessed 12 June 2020), [https://hpspubsrepo.blob.core.windows.net/hps-website/nss/3055/documents/1\\_agp-sbar.pdf](https://hpspubsrepo.blob.core.windows.net/hps-website/nss/3055/documents/1_agp-sbar.pdf).

Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine DH, Flemmig TF, Garcia R, Giannobile WV, Graziani F, Greenwell H, Herrera D, Kao RT, Kebschull M, Kinane DF, Kirkwood KL, Kocher T, Kornman KS, Kumar PS, Loos BG, Machtei E, Meng H, Mombelli A, Needleman I, Offenbacher S, Seymour GJ, Teles R, Tonetti MS. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. **J Periodontol.** 2018 Jun;89 Suppl 1:S173-S182. doi: 10.1002/JPER.17-0721. PMID: 29926951.

Pierre-Bez AC, Agostini-Walesch GM, Bradford Smith P, Hong Q, Hancock DS, Davis M, Marcelli-Munk G, Mitchell JC. Ultrasonic scaling in COVID-era dentistry: A quantitative assessment of aerosol spread during simulated and clinical ultrasonic scaling procedures. **Int J Dent Hyg.** 2021 Nov;19(4):474-480. doi: 10.1111/idh.12548. Epub 2021 Aug 28. PMID: 34418305; PMCID: PMC8652710.

Puljich A, Jiao K, Lee RSB, Walsh LJ, Ivanovski S, Han P. Simulated and clinical aerosol spread in common periodontal aerosol-generating procedures. **Clin Oral Investig.** 2022 Sep;26(9):5751-5762. doi: 10.1007/s00784-022-04532-8. Epub 2022 May 17. PMID: 35581347; PMCID: PMC9113070.

Recomendações Amib/CFO para enfrentamento da COVID-19 na odontologia. 2020. Acesso em: [https://website.cfo.org.br/wp-content/uploads/2020/05/AMIB\\_CFO-Recomendac%cc%a7o%cc%83es.pdf](https://website.cfo.org.br/wp-content/uploads/2020/05/AMIB_CFO-Recomendac%cc%a7o%cc%83es.pdf)

Roças IN, Siqueira Jr JF, Favieri A, Santos KR. Detecção de *Treponema denticola* em casos de abscesso perirradicular agudo. **Pesqui Odontol Bras**, 2000; 14: 209-212.

Sakamoto, M., Suzuki, M., Umeda, M., Ishikawa, I. & Benno, Y. Reclassification of *Bacteroides forsythus* (Tanner et al. 1896) as *Tannerella forsythensis* corrig., gen. nov., comb. nov. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, 2002, 52, 841–849.

Sebastiani, F. R., Dym, H., & Kirpalani, T. (2017). Infection Control in the Dental Office. **Dental Clinics of North America**, 61(2), 435–457.

Singh C, Roy-Chowdhuri S. Quantitative Real-Time PCR: Recent Advances. **Methods Mol Biol**. 2016;1392:161-76. doi: 10.1007/978-1-4939-3360-0\_15. PMID: 26843055.

Tanner, A. C. R., Listgarten, M. A., Ebersole, J. L. & Strzempko, M. N. *Bacteroides forsythus* sp. nov., a slow-growing, fusiform *Bacteroides* sp. from human oral cavity. **International Journal of Systematic Bacteriology**, 1986, 36, 213–221.

Tonkaboni A, Amirzade-Iranaq MH, Ziaei H, Ather A. Impact of COVID-19 on Dentistry. **Adv Exp Med Biol**. 2021;1318:623-636. doi: 10.1007/978-3-030-63761-3\_34. PMID: 33973202.

Veena HR, Mahantesha S, Joseph PA, Patil SR, Patil SH. Dissemination of aerosol and splatter during ultrasonic scaling: a pilot study. **J Infect Public Health**. 2015 May-Jun;8(3):260-5. doi: 10.1016/j.jiph.2014.11.004. Epub 2015 Jan 3. PMID: 25564419.

Zemouri, C.; Soet, H. DE; Crielaard, W.; Laheij, A. A scoping review on bio-Aerosols in healthcare & the dental environment. **PLoS ONE**, v. 12, n. 5, 2017.

World Health Organization. **Laboratory testing for 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in suspected human cases**. 2020. Available from: <https://www.who.int/publications-detail/laboratory-testing-for-2019-novel-coronavirus-in-suspected-human-cases-20200117>.

Yang, H.W. et al. Relationship of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotype b to aggressive periodontitis: frequency in pure cultured isolates. **J. Periodontol**, v.75, p.592-599, 2004.

## **CUSTOS E FOMENTOS**

A aluna possuiu Bolsa de Doutorado CAPES e o trabalho foi custeado pelo fomento do Projeto intitulado “Desenvolvimento de tecnologias para monitoramento e controle de disseminação de microrganismos causadores de doenças” em parceria com o Instituto Tecnológico da Aeronáutica (ITA).

## **EXECUTORES DO PROJETO**

Maiara Rodrigues de Freitas – Aluna Pesquisadora

Sheila Cavalca Cortelli – Professora Colaboradora

Laís Regiane da Silva Concílio – Professora Colaboradora

Davi Romeiro Aquino – Professor Colaborador

Willians Príncipe Fernandes – Professor Colaborador

Flávio Henrique Alves – Processamentos laboratoriais



Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial desta obra, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.  
Isabelle Schalch de Oliveira Campos  
Taubaté, junho de 2023.