UNINGÁ – CENTRO UNIVERSITÁRIO INGÁ

MESTRADO PROFISSIONALIZANTE EM ODONTOLOGIA

VANESSA COELHO BATALHA

AÇÃO DESCONTAMINANTE DA TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA (aPDT) SOBRE SUPERFÍCIE DE IMPLANTES DENTÁRIOS – ESTUDO MICROBIOLÓGICO *IN VITRO*

MARINGÁ

2019

VANESSA COELHO BATALHA

AÇÃO DESCONTAMINANTE DA TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA (aPDT) SOBRE SUPERFÍCIE DE IMPLANTES DENTÁRIOS – ESTUDO MICROBIOLÓGICO *IN VITRO*

Dissertação apresentada ao Centro Universitário Ingá - UNINGÁ, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Odontologia, subárea Implantodontia.

Orientadora: Profª. Drª. Samira Salmeron

MARINGÁ

2019

"Alguns homens veem as coisas como são, e dizem 'Por que?' Eu sonho com as coisas que nunca foram e digo 'Por que não?"

(George Bernard Shaw)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho...

A Deus, agradeço pela oportunidade de realizar este sonho e pelo crescimento pessoal e profissional alcançado.

Ao meu pai, ***Antonio Cesar*** *(in memorian), pelo amor e pelos ensinamentos que deixou na minha vida, os quais me fizeram acreditar nesta vitória.*

À minha mãe, ***Celoir****, pela dedicação, força e fé, que serviram de base na realização e finalização deste projeto.*

Ao meu irmão, ***Rafael****, pelo incentivo, apoio, força e compreensão, tão importantes nos momentos mais necessários.*

Ao meu noivo ***Bruno****, por todo amor e conhecimento compartilhado na Implantodontia e na vida.*

A vocês, dedico o meu amor e a minha eterna gratidão.

AGRADECIMENTOS

À Profa. Dra. **Samira Salmeron**, minha orientadora, pelos ensinamentos, generosidade, amizade, paciência, confiança, dedicação e convivência. Terá sempre minha profunda admiração, gratidão e respeito. Tornou-se exemplo de pessoa e profissional para mim, pela sua determinação e competência.

Ao Prof. Dr. **José Ricardo Mariano**, pela paciência, incentivo, ensinamentos, amizade, compreensão, dedicação e respeito, importantes na obtenção desta conquista. Levarei comigo na minha vida profissional todo ensinamento dado ao longo do curso. Serei sempre admiradora de seu trabalho e competência.

À Profa. Dra. **Mariana Lopes Ortiz**, pela ajuda, disposição, compreensão e ensinamento ao longo do experimento.

Ao Prof. Dr. **Vilmar Divanir Gottardo**, pelo ensinamento dado ao longo do curso.

Ao Prof. Dr. **Heldo Cesar Figueira Junior**, pelo ensinamento dado ao longo do curso.

AGRADECIMENTOS

Aos queridos amigos e companheiros de Mestrado, ***Marcelo Haga, Raquel Bueno, Elisson Dall'Agnol, Luiz Bassi, Bruno Stival*** *e* ***Sabrina Franco*** *por dividirem comigo momentos preciosos de amizade, convivência, aprendizagem, ajuda, parceria e descontração, que levarei para sempre no coração. Turma pequena, mas especial, de amigos que ganhei para a vida toda.*

A todos os ***professores*** *que por algum motivo não terminaram essa caminhada, mas que deixaram seus ensinamentos, amizade incentivo e apoio.*

Aos amigos da turma *2, pelo apoio e amizade de todos.*

Aos funcionários da UNINGÁ *que contribuíram de alguma maneira na realização dessa pesquisa.*

AGRADECIMENTOS INSTITUCIONAIS

Ao Prof. Me. **Ricardo Benedito de Oliveira**, REITOR do Centro Universitário INGÁ UNINGÁ;

Ao Prof. Me. **Roberto Cézar de Oliveira**, PRESIDENTE da mantenedora;

Á Profa. Me. **Maria Albertina Ferreira do Nascimento**, PRÓ-REITORA de ensino do Centro Universitário INGÁ UNINGÁ;

À Profa. Dra. **Suzimara dos Reis Gea Osório**,coordenadora do curso de Graduação em odontologia do Centro Universitário Ingá UNINGÁ;

À Profa. Dra. **Karina Maria Salvatore de Freitas**, Coordenadora do Mestrado Profissional em Odontologia do Centro Universitário INGÁ UNINGÁ.

RESUMO

RESUMO

INTRODUÇÃO: A peri-implantite é uma condição clínica complexa que acomete um número cada vez maior de implantes dentários osseointegrados. Um protocolo ideal para o tratamento da doença ainda não foi estabelecido. **PROPOSIÇÃO:** O objetivo desse trabalho foi contribuir com o avanço do conhecimento para o tratamento da peri-implantite, verificando a eficácia de um protocolo adaptado para descontaminação *in vitro* da superfície de implantes metálicos. **MATERIAL E MÉTODOS:** Foram empregados 16 implantes de titânio (BioHE - Bioconect), esterilizados de fábrica. Os implantes foram distribuídos nos seguintes grupos (n=4): controle negativo (E) - implantes estéreis; controle positivo (C) - implantes contaminados com biofilme microbiano; soro (S) - implantes contaminados com biofilme microbiano e escovados com soro fisiológico estéril; e terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) - implantes contaminados com biofilme microbiano, escovados com soro fisiológico estéril e tratados com terapia fotodinâmica antimicrobiana. Os implantes foram contaminados *in vitro* com biofilme microbiano subgengival coletado de um voluntário, diagnosticado com periodontite, e distribuídos nos grupos C, S e aPDT. Cada grupo recebeu o respectivo tratamento para descontaminação, exceto os implantes do grupo E, que não foram contaminados, e os implantes do grupo C, que não receberam nenhum tipo de tratamento descontaminante. Em seguida, todos os implantes foram colocados em tubos contendo meio de cultura para posterior semeadura e realização da contagem das unidades formadoras de colônia (UFCs), a olho nu. **RESULTADOS:** Observou-se uma redução significativa ($p<0,01$) no número de UFCs no grupo aPDT ($19,38 \times 10^5$) quando comparado ao grupo S ($47,75 \times 10^5$) e grupo C ($59,88 \times 10^5$). O grupo S também apresentou diminuição no número de UFCs quando comparado ao grupo C e essa diferença foi estatisticamente significante ($p<0,01$). Tanto o grupo aPDT quanto o grupo S foram diferentes estatisticamente do grupo E, que não apresentou crescimento bacteriano. **CONCLUSÕES:** O uso da aPDT como terapia adjuvante parece ser uma boa opção no tratamento da peri-implantite, permanecendo ainda em estudo o protocolo de aplicação considerado ideal.

PALAVRAS-CHAVE: Peri-implantite. Terapia fotodinâmica. Implantes dentários. Azul de toluidina O. Descontaminação.

ABSTRACT

ABSTRACT

INTRODUCTION: Peri-implantitis is a complex clinical condition that affects an increasing number of osseointegrated dental implants. An ideal protocol for treatment of the disease has not been established yet. **PROPOSITION:** Aim of this study was to contribute to advancement of knowledge for treatment of peri-implantitis, verifying the efficacy of an adapted protocol for *in vitro* decontamination of metallic implants surface. **MATERIAL AND METHODS:** Sixteen titanium implants (BioHE - Bioconect) were used, factory sterilized. Implants were distributed in the following groups (n=4): negative control (E) - sterile implants; positive control (C) - implants contaminated with microbial biofilm; serum (S) - implants contaminated with microbial biofilm and brushed with sterile saline solution; and antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) - implants contaminated with microbial biofilm, brushed with sterile saline solution and treated with antimicrobial photodynamic therapy. Implants were contaminated *in vitro* with subgengival microbial biofilm collected from a volunteer, diagnosed with periodontitis, and distributed in C, S, and aPDT groups. Each group received the respective decontamination treatment, except the implants of E group, not contaminated, and the implants of C group, no kind of decontamination treatment. All implants were placed in tubes containing culture medium for subsequent seeding and counting of colony forming units (CFUs). **RESULTS:** There was significant reduction ($p<0.01$) in the number of CFUs in aPDT group (19.38×10^5) when compared to S group (47.75×10^5) and C group (59.88×10^5). S group also presented a decrease in the number of CFUs when compared to C group, and this difference was statistically significant ($p <0.01$). Both aPDT and S groups were statistically different from E group, which did not show bacterial growth. **CONCLUSIONS:** The use of aPDT as an adjuvant therapy seems to be a good option in the treatment of peri-implantitis, and the ideal protocol is still under study.

KEYWORDS: Peri-implantitis. Photodynamic therapy. Dental implants. Toluidine blue O. Decontamination.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Implante do grupo S sendo escovado com soro fisiológico estéril 27

Figura 2. **A)** Implante imerso em azul de toluidina O. **B)** Implante sendo irradiado com laser vermelho 27

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Distribuição das médias de UFCs e desvios padrão obtidos para cada grupo experimental, após descontaminação, e grupos controle 30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Protocolo utilizado para irradiação 27

Tabela 2. Valores médios e desvios padrão das UFCs de acordo com os grupos experimentais 31

LISTA DE SIGLAS E ABREVIAÇÕES

aPDT	Terapia fotodinâmica antimicrobiana (*Antimicrobial photodynamic therapy)*
BHI	Meio de cultura (*Brain Heart Infusion*)
ºC	Graus Celsius
mL	Mililitros
µL	Microlitros
nm	Nanômetros
TBO	Corante azul de toluidina O (*Toluidine blue O*)
UFCs	Unidades formadoras de colônias

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 16

2 PROPOSIÇÃO 23

3 MATERIAL E MÉTODOS 25

3.1 DISTRIBUIÇÃO DOS GRUPOS 25

3.2 CONTAMINAÇÃO DOS IMPLANTES 26

3.3 TRATAMENTOS PARA DESCONTAMINAÇÃO 26

3.3.1 Grupo tratado com soro fisiológico estéril (S) 26

3.3.2 Grupo tratado com terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) 27

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA 28

4 RESULTADOS 30

5 DISCUSSÃO 33

6 CONCLUSÕES 37

REFERÊNCIAS 39

ANEXOS 44

1 INTRODUÇÃO

1 INTRODUÇÃO

Os implantes dentários osseointegrados estabeleceram-se, ao longo do tempo, como uma opção de tratamento altamente previsível. Entretanto, falhas são passíveis de ocorrer, devido à exposição precoce ou tardia de suas superfícies ao meio bucal. O sucesso, a longo prazo, desses implantes é bastante influenciado pela higienização oral do paciente e pelo acompanhamento periódico do cirurgião-dentista (RECH; BATTOCHIÓ, 2012; SALLUM et al., 2009; SOARES et al., 2009).

É natural que, com o aumento do número de pacientes reabilitados com implantes haja, também, um consequente aumento na incidência e prevalência das doenças peri-implantares (ZITZMANN; BERGLUNDH, 2008) e a adesão bacteriana à superfície dos implantes é uma das principais razões para problemas que podem levar à sua falha tardia (ALBREKTSSON et al., 1994).

Os tecidos peri-implantares são compostos por tecidos moles e duros que se formam ao redor dos implantes dentários. Os tecidos moles formam a chamada mucosa peri-implantar, estabelecida durante o processo de cicatrização que ocorre após a colocação do implante/pilar (BERGLUNDH, 2007). As características dos tecidos peri-implantares, em condição de saúde, são adequadamente identificadas na literatura, incluindo dimensões e composição tecidual (ARAUJO, 2018). Desvios das características de saúde podem ser usados pelo clínico e pesquisador para identificar as doenças peri-implantares (ARAUJO, 2018).

A mucosite peri-implantar é uma lesão inflamatória da mucosa ao redor dos implantes, com ausência de perda óssea marginal contínua (HEITZ-MAYFIELD, 2018). É causada, principalmente, pela ruptura da homeostase hospedeiro/microbiota na interface implante/mucosa e é uma condição reversível clinicamente (HEITZ-MAYFIELD, 2018). O principal fator associado à mucosite peri-implantar é o acúmulo de biofilme microbiano, sendo essa condição considerada possível precursora da peri-implantite (HEITZ-MAYFIELD, 2018).

A peri-implantite, uma condição bem mais complexa do ponto de vista clínico, foi definida como uma lesão inflamatória dos tecidos que circundam o implante sujeito a carga funcional, associada à perda progressiva do suporte ósseo (ALBREKTSSON,1994). Segundo a nova Classificação das Doenças e

Condições Periodontais e Peri-implantares (CATON et al., 2018), a peri-implantite foi definida como uma condição patológica, proveniente da presença e do acúmulo de placa bacteriana nas áreas implantadas, ocasionando um processo inflamatório local e subsequente perda óssea progressiva (SCHWARZ et al., 2018; CATON et al., 2018; BERGLUNDH et al., 2018).

Tal quadro clínico foi estimado ocorrer em torno de 10,7 a 47,2% dos pacientes com implantes dentários dentro de 10 anos de pós-tratamento (WALL, 2013) e, segundo a literatura, esses números vêm crescendo ao longo dos anos (AAP, 2013). O diagnóstico é realizado por meio de exames clínicos e radiográficos para avaliar a presença de sangramento, monitorar as alterações da profundidade de sondagem, migração da margem da mucosa peri-implantar e verificar se há perda óssea progressiva (BERGLUNDH et al., 2018). Esta avaliação pode alertar o clínico para a necessidade de intervenção terapêutica (BERGLUNDH et al., 2018).

Existem fortes evidências de que há um risco aumentado de desenvolvimento de peri-implantite em pacientes com histórico de periodontite severa, pobre controle de placa e que não aderem à terapia de manutenção após reabilitação com implantes dentários (SCHWARZ et al., 2018). Por outro lado, os dados que identificam tabagismo e diabetes como potenciais fatores de risco/indicadores de risco para peri-implantite ainda permanecem inconclusivos (SCHWARZ et al., 2018). Presença de cimento submucoso, falta de mucosa ceratinizada peri-implantar e posicionamento de implantes que dificultem a higiene bucal são indicadores de risco ainda a serem determinados (SCHWARZ et al., 2018).

Diante do exposto e, em virtude da complexidade clínica da peri-implantite, diversos métodos de descontaminação de superfícies de implantes têm sido propostos para seu o tratamento (KOTSOVILIS et al., 2008). Entretanto, até o momento, nenhum protocolo está estabelecido como padrão ouro para esta finalidade (KOTSOVILIS et al., 2008; SALMERON et al., 2013). Nas últimas décadas, lasers sozinhos ou associados a agentes fotossensibilizadores, na terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT), têm sido utilizados para a descontaminação de superfícies de implantes dentários com resultados bastante promissores (KREISLER et al., 2005; SALMERON et al., 2013).

A aPDT é um método não invasivo, baseado no uso de um fotossensibilizador, geralmente um corante, ativado pela luz com um comprimento

de onda específico, e que pode destruir as bactérias pela geração de oxigênio altamente reativo (HAYEK et al., 2005).

O uso da luz associada a agente sensibilizante foi descrito, pela primeira vez, na literatura médica há mais de 100 anos (CENGEL, 2016). O mecanismo de ação, embora não seja completamente compreendido, envolve a produção de espécies reativas de oxigênio que podem danificar as células-alvo (TAVARES, 2017). Após estímulo, o fotossensibilizador é convertido de um estado singleto para tripleto por um processo que, por sua vez, reage com moléculas vizinhas para produzir radicais livres e peróxido de hidrogênio, ou transfere a sua energia para o oxigênio molecular para a fabricação de oxigênio singleto (DARABPOUR, 2016). Como resultado dessas reações, há geração de espécies de oxigênio que são capazes de eliminar células-alvo por estresse oxidativo das membranas celulares e outras partes dessas células (DARABPOUR, 2016). Já no final dos anos 90 e início dos anos 2000, estudos mostraram redução efetiva na viabilidade de microrganismos aeróbicos e anaeróbicos quando utilizadas diferentes fontes de radiação laser em combinação com fotossensibilizadores.

Literatura recente também demonstra efeitos positivos da aPDT na descontaminação de superfícies de implantes dentários. Diversos tipos de lasers em baixa intensidade são utilizados em combinação com os corantes para obter os efeitos da aPDT. Dentre os corantes mais utilizados, têm-se os corantes azuis, azul de metileno e azul de toluidina O (TBO). Estudos mostram que o TBO é um fotossensibilizador que vem sendo bastante usado na Odontologia, por ser efetivo contra diversas bactérias, incluindo espécies encontradas na cavidade oral (SARKAR; WILSON, 1993). Trata-se de um fotossensibilizador eficiente na produção de oxigênio singleto, sob o comprimento de onda de absorção máxima de 630 nm (MAHMOUDI, 2019). Também é relatado como um corante eficaz para a inativação de leveduras, bactérias gram-positivas e gram-negativas na assistência à irradiação com laser (ALISSON, 2004; NARBAND, 2008).

Cai et al. (2019) avaliaram a eficácia da desinfeção de diferentes agentes em biofilmes de *Staphylococcus aureus* formados *in vitro* sobre superfícies de titânio com diferentes rugosidades. Verificaram que a aPDT (635 nm; TBO, 100 µg/mL, 60 segundos) demonstrou maior capacidade de descontaminação e, quando em combinação com clorexidina 0,2% ou água oxigenada 3% foi bastante efetiva em todos os tipos de superfície testadas. Sendo assim, os autores sugeririam que

combinar aPDT com agentes antissépticos pode ser um método mais efetivo para tratamento da peri-implantite.

Chambrone, Wang e Ramos (2018) realizaram uma revisão sistemática para avaliar a eficácia da aPDT como tratamento adjunto nas terapias cirúrgicas e não cirúrgicas em pacientes com periodontite e peri-implantite. Concluíram que aPDT pode fornecer melhoras clínicas semelhantes quanto aos parâmetros de profundidade de sondagem e nível de inserção comparada com terapia convencional tanto para periodontite como para peri-implantite. Entretanto, evidências restritas para algumas abordagens e condições de tratamento impedem conclusões adicionais. Fraga et al. (2018) realizaram outra revisão sistemática, com metanálise, para avaliar a eficácia da aPDT na alteração microbiológica benéfica para o tratamento da peri-implantite. A metanálise demonstrou associação entre aPDT e a redução do número de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermedia*. Concluíram que a aPDT parece ser efetiva na redução da carga bacteriana e tem potencial como terapia alternativa para a peri-implantite.

Haas et al. (1997) contaminaram placas de titânio *in vitro* com suspensão de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* ou *Prevotella intermedia*. As superfícies foram descontaminadas com azul de toluidina e irradiadas com laser de diodo (905 nm). Foi o primeiro estudo a demonstrar efetividade da terapia fotodinâmica na eliminação completa desses microrganismos quando aderidos a superfícies de implantes metálicos. O'Neill, Hope e Wilson (2002) utilizaram o azul de toluidina O (25 µm/mL) e laser de He-Ne (632 nm) associados ou isoladamente. Obtiveram 97,4% de eliminação bacteriana com a utilização do laser associado ao azul de toluidina O.

Apesar dos resultados promissores com uso da aPDT, vários fatores devem ser considerados para obter bons resultados do tratamento em pacientes, como o tempo total de exposição, comprimento de onda, intensidade da irradiação do laser e a combinação com outro tratamento (TAVARES, 2017). Nesse sentido, este estudo teve como objetivo contribuir com o avanço do conhecimento para o tratamento da peri-implantite, verificando a eficácia de um protocolo adaptado para descontaminação *in vitro* da superfície de implantes metálicos.

2 PROPOSIÇÃO

2 PROPOSIÇÃO

O objetivo deste trabalho foi contribuir para o avanço do conhecimento relacionado ao tratamento da peri-implantite, verificando a eficácia e poder de descontaminação *in vitro* de um protocolo adaptado de terapia fotodinâmica antimicrobiana em superfície de implantes previamente contaminados com biofilme microbiano.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3 MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro Universitário Ingá – UNINGÁ (Maringá/PR/Brasil), sob o número CAAE 96891018.7.0000.5220 (Anexo I). Para a realização deste trabalho foi feito cálculo amostral e empregados 16 implantes de titânio comercialmente puro grau IV, de superfície tratada com duplo ataque ácido, cilíndricos, do tipo hexágono externo, medindo 5 mm de diâmetro x 18 mm de comprimento (BioHE - Bioconect, Itapira/SP/Brasil), esterilizados de fábrica.

3.1 DISTRIBUIÇÃO DOS GRUPOS

Todos os implantes dentários foram distribuídos, de forma aleatória, nos seguintes grupos (n = 4):

- GRUPO CONTROLE NEGATIVO (E): implantes estéreis.
- GRUPO CONTROLE POSITIVO (C): implantes contaminados com biofilme microbiano.
- GRUPO SORO (S): implantes contaminados com biofilme microbiano e escovados com soro fisiológico estéril.
- GRUPO TERAPIA FOTODINÂMICA ANTIMICROBIANA (aPDT): implantes contaminados com biofilme microbiano, escovados com soro fisiológico estéril e tratados com terapia fotodinâmica antimicrobiana.

Com exceção dos discos que fizeram parte do grupo E, todos os demais foram contaminados com biofilme microbiano.

3.2 CONTAMINAÇÃO DOS IMPLANTES

Após assinado o termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo II), foi realizada a coleta do biofilme microbiano subgengival de um voluntário, diagnosticado com periodontite crônica localizada severa (ARMITAGE, 1999), e que foi submetido a tratamento periodontal na Clínica Integrada do Centro Universitário Ingá – Uningá. A coleta foi realizada utilizando curetas do tipo Gracey (HuFriedy Mfg. Co. – Chicago/IL/EUA), apropriadas para o sítio selecionado. A seleção do voluntário obedeceu aos seguintes critérios de inclusão: idade adulta, ausência de problemas sistêmicos e não fumante; e exclusão: não assinar o termo de consentimento livre e esclarecido, gestante, lactante e ter feito uso de antibiótico nos últimos 6 meses.

Após coleta, o biofilme foi cultivado em meio *Brain Heart Infusion* (BHI) caldo estéril (Kasvi – São José dos Pinhais/PR/Brasil) e realizada caracterização morfotinturial das bactérias para confirmar a presença de microrganismos gram positivos e gram negativos. Os implantes foram, então, distribuídos nos grupos C, S e aPDT, contaminados *in vitro* em tubos de ensaio contendo 10 mL de meio BHI caldo estéril, e foram aguardados 5 dias, em estufa a 37°C, para formação do biofilme microbiano sobre as superfícies.

3.3 TRATAMENTOS PARA DESCONTAMINAÇÃO

Após contaminação *in vitro*, os implantes foram destinados aos respectivos tratamentos, exceto os implantes do grupo C que não receberam qualquer tratamento de descontaminação.

3.3.1 Grupo tratado com soro fisiológico estéril: S

Os implantes do grupo S foram escovados utilizando escova de dente de cerdas macias (Dentalclean – Londrina/PR/Brasil) e 20 mL de soro fisiológico estéril (Eurofarma – São Paulo/SP/Brasil). Foram dados 20 golpes de escova, abrangendo todas as faces de cada implante (Figura 1).

Figura 1. Implante do grupo S sendo escovado com soro fisiológico estéril

3.3.2 Grupo tratado com terapia fotodinâmica antimicrobiana: aPDT

Os implantes do grupo aPDT, após escovação realizada da mesma forma do grupo S, foram colocados em placas acrílicas de 12 poços e imersos, por 1 minuto, em 3 mL de azul de toluidina O (TBO) (Sigma-Aldrich – Sigma-Aldrich Brasil, São Paulo/SP/Brasil) na concentração de 100 µg/mL (SALMERON et al., 2013). Em seguida, foram irradiados com o equipamento WhiteningLase II (DMC Equipamentos Ltda – São Carlos/SP/Brasil) (Figura 2), de acordo com o protocolo abaixo (Tabela 1), e enxaguados com 10 mL de soro fisiológico estéril:

Tabela 1. Protocolo utilizado para irradiação, adaptado de Salmeron et al. (2013)

Comprimento de onda (nm)	Potência (mW)	Fluência (J/cm^2)	Modo de emissão	Modo de aplicação	Tempo de exposição (s)
660 (vermelho)	30	50	Contínuo	Varredura	47

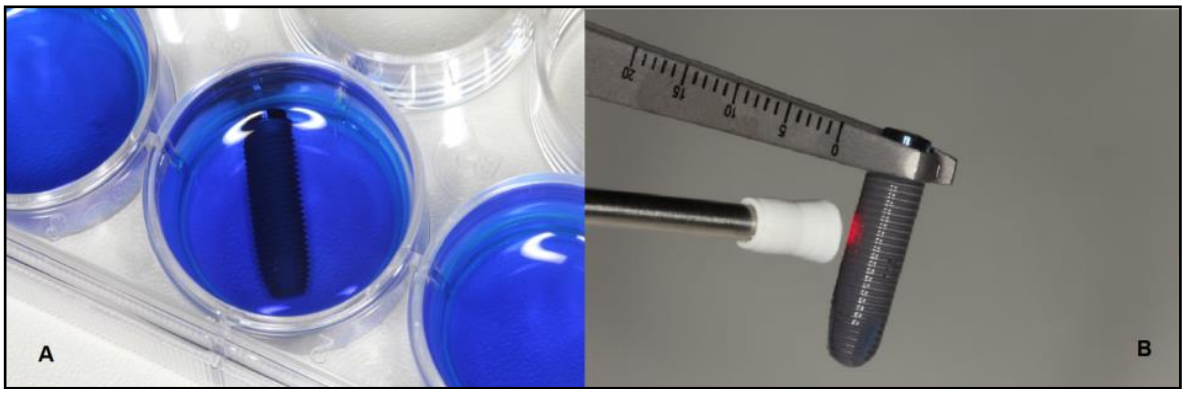

Figura 2. A) Implante imerso em azul de toluidina O. **B)** Implante sendo irradiado com laser vermelho

Após realizados os tratamentos de descontaminação, todos os implantes foram inseridos em 10 mL de meio BHI caldo estéril. Após 24 horas em estufa a 37ºC, foram feitas as diluições e a semeadura em placas acrílicas, em duplicata. Essas placas foram armazenadas em jarra de CO_2, simulando a anaerobiose, garantindo uma condição de microaerofilia e aguardadas 48 horas, em estufa a 37ºC, para permitir o crescimento das colônias. A partir disso, foi realizada a contagem das unidades formadoras de colônia (UFCs), a olho nu (ZAPATA et al., 2012), por um examinador calibrado.

3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A média das unidades formadoras de colônias (UFCs) de cada grupo foi comparada pela análise de variância a um critério (ANOVA) e pós-teste de Tukey, com nível de significância de 5%.

4 RESULTADOS

4 RESULTADOS

Dos grupos analisados, o grupo aPDT foi o que apresentou menor quantidade de UFCs (19,38x 10^5 ± 1,493), representando maior poder de descontaminação quando comparado ao grupo S (47,75 x 10^5 ± 4,735) e ao grupo C (59,88 x 10^5 ± 1,436), sendo essas diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,01$). O grupo S também apresentou redução significativa no número de UFCs quando comparado ao grupo C e todos os grupos foram diferentes significativamente do grupo E, que não apresentou crescimento bacteriano ($p < 0,01$).

O grupo aPDT, mesmo obtendo os melhores resultados quando comparado com os grupos S e C, não foi capaz de eliminar por completo o biofilme microbiano da superfície dos implantes (Gráfico 1 e Tabela 1).

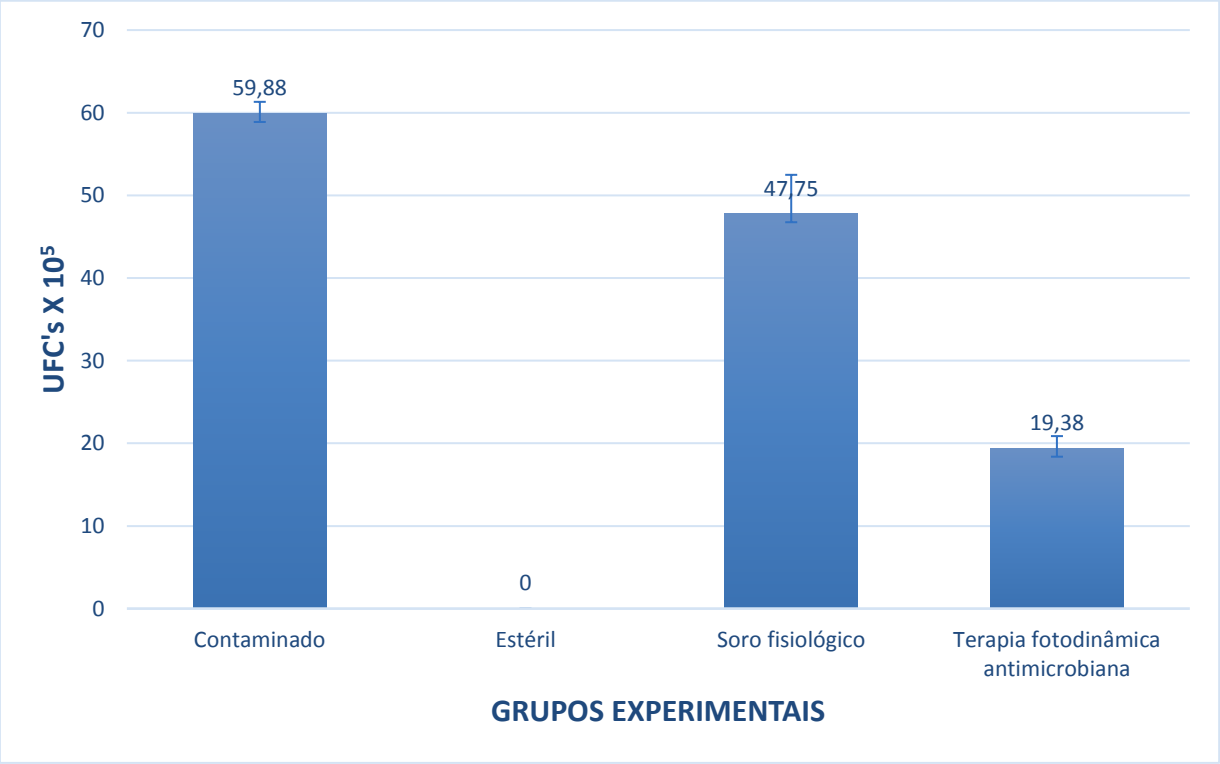

Gráfico 1. Distribuição das médias de UFCs e desvios padrão obtidos para cada grupo teste, após descontaminação, e grupos controle

Tabela 2. Valores médios e desvios padrão das UFCs de acordo com os grupos teste e controle

GRUPOS EXPERIMENTAIS	Média (UFCs)	Desvio Padrão
Contaminado	$59,88 \times 10^5$	1,436
Estéril	$00,00 \times 10^5$	0,000
Soro	$47,75 \times 10^5$	4,735
PDT	$19,38 \times 10^5$	1,493

Todos os grupos foram diferentes estatisticamente entre si

5 DISCUSSÃO

5 DISCUSSÃO

Os resultados obtidos neste trabalho *in vitro*, com o uso da aPDT, apontam aspectos favoráveis para seu uso como tratamento adjuvante da peri-implantite. De acordo com a nova Classificação das Doenças e Condições Periodontais e Peri-implantares (CATON et al., 2018), a peri-implantite foi definida como uma condição patológica, associada à placa, que ocorre nos tecidos ao redor dos implantes dentários, caracterizada por inflamação na mucosa peri-implantar e subseqüente perda progressiva do osso de suporte (SCHWARZ et al., 2018, CATON, et al., 2018). O início da peri-implantite pode ocorrer precocemente e, na ausência de tratamento, parece progredir num padrão não linear e acelerado (SCHWARZ et al., 2018; CATON, et al., 2018).

A saúde peri-implantar pode existir em torno de implantes com suporte ósseo normal ou reduzido (CATON et al., 2018). Definir valores de profundidades de sondagem compatíveis com a saúde peri-implantar não é possível (BERGLUNGH, 2018; RENVERT, 2018), tornando o diagnóstico da peri-implantite um verdadeiro desafio clínico para não especialistas na área. Embora complexo, o diagnóstico preciso e precoce da peri-implantite é um dos recursos importantes para que se inicie o tratamento da doença o quanto antes. Por tratar-se de uma condição de difícil tratamento, uma vez que bactérias se aderem de forma bastante firme às superfícies dos implantes dentários (KNOERNSCHILD et al., 1994; NELSON et al., 1997; BICK et al., 1981), há tempos se propõem diferentes formas de tratamento para a peri-implantite (KOTSOVILIS et al., 2008). No entanto, até o momento, não se conhece um protocolo estabelecido como sendo ideal (KOTSOVILIS et al., 2008; SALMERON et al., 2013).

Vários estudos demonstraram redução significativa na viabilidade de microrganismos aeróbicos e anaeróbicos com uso de diferentes lasers em combinação com fotossensibilizadores (HAAS et al., 1997; O'NEILL; HOPE; WILSON, 2002; DÖRTBUDAK et al., 2001), no entanto, as diferenças nos tipos de lasers e protocolos de irradiação e tipo, concentração e tempo de aplicação dos corantes dificultam bastante o estabelecimento de um método eficaz e definitivo para uso clínico. Dessa forma, estudar um protocolo já existente e validar sua eficácia

favorece a obtenção de meios mais efetivos para o tratamento da peri-implantite. Visando contribuir com as pesquisas e avanços científicos na área, neste estudo foi avaliado o efeito da terapia fotodinâmica antimicrobiana (aPDT) na descontaminação de superfícies de implantes dentários, utilizando o protocolo adaptado de Salmeron et al. (2013). A escolha desse protocolo foi devido aos bons resultados apresentados anteriormente e à experiência prévia com sua aplicação (SALMERON et al. 2013; ZAPATA et al., 2012; DAMANTE et al., 2016). Embora os resultados apresentados anteriormente tenham sido significativos, os estudos de Salmeron et al. (2013) e Zapata et al. (2012) foram feitos em discos de titânio. Dessa forma, optou-se por repetir a metodologia, com protocolo semelhante (adaptado devido à diferença de equipamentos utilizados), só que agora em implantes dentários, com o intuito de verificar o poder antimicrobiano também nessa superfície, com o desenho de um implante real e a dificuldade de descontaminação encontrada na clínica em função da presença das roscas.

Como era esperado, os resultados encontrados foram semelhantes aos dos estudos anteriores (SALMERON et al., 2013; ZAPATA et al., 2012), com redução da contaminação no grupo aPDT (19,38x 10^5) comparado ao grupo S (47,75 x 10^5) e ao grupo C (59,88 x 10^5) significativamente, sugerindo certa vantagem dessa terapia quando utilizada em combinação com outras formas de descontaminação, conforme também concluíram Cai et al. (2019); embora esses autores sugeriram a associação da aPDT com agentes antissépticos e não com debridamento mecânico com soro fisiológico como realizado neste trabalho.

O grupo S (47,75 x 10^5) ter apresentado menor número de UFCs com relação ao grupo C (59,88 x 10^5) e essa diferença ter sido significativa neste estudo, também indica que métodos mecânicos podem ser cogitados na combinação de terapias para tratamento da peri-implantite, devido ao seu potencial em remover bactérias das superfícies metálicas. Há vários estudos que apresentam dados positivos utilizando a aPDT no tratamento da peri-implantite, seja sozinha ou como terapia complementar (DORTBUDAK et al., 2001; HAYEK 2005; SHIBLI et al., 2006; YILMAZ et al., 2002; SALMERON et al., 2013). Dessa forma, combinar métodos químicos e mecânicos no tratamento da peri-implantite pode ser uma alternativa interessante.

Ao inserir o grupo S neste experimento, foi possível eliminar o efeito mecânico e comprovar a eficácia do efeito da aPDT isolada, aumentando o potencial de

descontaminação visto neste grupo. Por outro lado, embora eficaz, a aPDT foi diferente estatisticamente do grupo E (0 x 10^5), não sendo capaz de eliminar por completo a contaminação da superfície de titânio. Embora isso possa ser visto como uma desvantagem do protocolo apresentado, essa redução do número de bactérias pode ser suficiente para obter resultados satisfatórios no tratamento da peri-implantite (SALMERON et al., 2013), utilizando a aPDT como terapia complementar.

Além dos protocolos relacionados à irradiação com laser, a seleção do corante também é importante. Os corantes mais estudados são azul de toluidina O e azul de metileno. Os corantes chamados fenotiazínicos, os quais incluem o TBO, possuem intensa absorção na região de 620 – 660 nm, sendo úteis na aPDT por estarem dentro da janela terapêutica requerida não só para a penetração eficiente da luz no tecido, como também para a produção suficiente de oxigênio singleto (WAINWRIGHT; GIDDENS, 2003). Neste estudo, foi selecionado o azul de toluidina O e utilizado na concentração vista e indicada por trabalhos da literatura (SALMERON et al., 2013; CAI et al., 2019). Além disso, o TBO tem sido uma opção interessante para uso no tratamento da peri-implantite por apresentar pH ácido, em torno de 4,0 (DAMANTE et al., 2016), que se sabe tem potencial bactericida (BAL; EREN; BALOS, 1990).

Com relação aos estudos *in vitro,* são importantes para direcionar pesquisas futuras e contribuir com a aplicação clínica de possíveis terapias, entretanto, apresentam limitações inerentes que devem ser supridas com estudos complementares e posteriores, a fim de validar seus resultados. Uma sequência lógica para este estudo seria testes com animais incluindo análises mais sensíveis e precisas, com identificação dos patógenos e, posteriormente, estudo clínicos controlados.

Nesse contexto, entende-se a importância dos resultados aqui apresentados, entretanto, ainda não temos nenhuma metodologia bem estabelecida como padrão ouro para o tratamento da peri-implantite, motivo pelo qual o assunto tem sido tema de inúmeras pesquisas, uma vez que, o aumento no número de pacientes reabilitados com implantes dentários tem acarretado, também, no aumento da incidência de peri-implantite.

6 CONCLUSÕES

6 CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho e levando em consideração as limitações do modelo de estudo proposto, foi possível concluir que o uso da aPDT como terapia adjuvante parece ser uma boa opção no tratamento da peri-implantite, permanecendo ainda em estudo o protocolo de aplicação considerado ideal.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ARMITAGE G.C. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. Ann Periodontol, v..4, n.1, p.1-6, 1999.

ALBREKTSSON T., ISIDOR F. Censensus report of Session IV. In: Lang, N. P. (eds) Proceeding of the 1stEuropean workshop on Periodontology. Pp 365-69. London: QuintessencePublishingCo. Ltd, 1994.

ALLISON R, DOWNIE G, CUENCA R, HU X, CHILDS C, SIBATA C. Photosensitizers in clinical PDT. PhotodiagPhotodynTher. 1(1):27–42, 2004.

AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY (AAP). Peri-Implant Mucositis and Peri-Implantitis: A Current Understanding of Their Diagnoses and Clinical Implications*. J Periodontol. 84(4): 436-43, 2013.

ARAUJO MG, LIINDHE J. Peri-implant health. J Periodontol. 89(Suppl 1):S249–S256, 2018.

BAL B, EREN K, BALOS K. Effects of various root surface treatments on initial clot formation: a scanning electron microscope study. J Nihon UnivSch Dent. 32(4):281-93, 1990.

BERGLUNDH T, ABRAHAMSSONI, WELANDER M, LANG NP, LINDHE J. Morphogenesis of the peri-implant mucosa: an experimental study in dogs. Clin Oral Implants Res.18:1–8, 2007.

BERGLUNDH T, Armitage G, et al, Periimplant diaseases and conditions;Consensus report of workgroup 4 of the 2017 world workshop on the classification of Periodontal and a Peri-implant Diaseases and Conditions. J Clin Periodontal. 45(Suppl 20):S286-S291. 2018.

BICK PH, CARPENTER AB, HOLDEMAN LV, MILLER GA, RANNEY RR, PALCANIS KG, et al. Polyclonal B-cell activation induced by extracts of gram-negative bacteria isolated from periodontally diseased sites. Infect Immun. 34(1):43-9, 1981.

CATON J, ARMITAGE G, VERGLUNDH T, et al. A new classification scheme for periodontal and peri-implant diseases and conditions - Introduction and Key changes from the 1999 classification. J Periodontol. 89(Suppl 1):S1-S8. 2018.

CAI Z, LI Y, WANG Y, CHEN S, JIANG S, GE H, et al. Antimicrobial effects of photodynamic therapy with antiseptics on Staphylococcus aureus biofilm on titanium surface.PhotodiagnosisPhotodynTher. 25:382-388, 2019.

CENGEL K A, C.B. Simone, 2nd, E. Glatstein, PDT: What's Past Is Prologue, Cancer research 76(9)2497-9, 2016.

CHAMBRONE L, RAMOS UD, REYNOLDS MA. Infrared lasers for the treatment of moderate to severe periodontitis: an American Academy of Periodontology best evidence review. J Periodontol. 89:743–765, 2018.

CHAMBRONE L, WANG HL, ROMANOS GE. Antimicrobial photodynamic therapy for the treatment of periodontitis and peri-implantitis: An American Academy of Periodontology best evidence review. J Periodontol. 89(7):783-803, 2018.

DAMANTE CA, DUCATI P, FERREIRA R, SALMERON S, ZANGRANDO MSR, DE REZENDE MLR, et al. In vitro evaluation of adhesion/proliferation of human gingival fibroblasts on demineralized root surfaces by toluidine blue O in antimicrobial photodynamic therapy. PhotodiagnosisPhotodynTher. 13:303-307, 2016.

DARABPOUR E, KASHEF N, MASHAYEKHAN S. Chitosan nanoparticles enhance the efficiency of methylene blue-mediated antimicrobial photodynamic inactivation of bacterial biofilms: An in vitro study. PhotodiagnosisPhotodynTher. 14:211–217, 2016

DORTBUDAK O, HAAS R, BERNHART T, MAILATH-POKORNY G. Lethal photosensitization for decontamination of implant surfaces in the treatment of peri-implantitis. Clin Oral Implants Res. Apr;12(2):104-8, 2001.

FRAGA RS, ANTUNES LAA, FONTES KBFDC, KÜCHLER EC, IORIO NLPP, ANTUNES LS. Is Antimicrobial Photodynamic Therapy Effective for Microbial Load Reduction in Peri-implantitis Treatment? A Systematic Review and Meta-Analysis. Photochem Photobiol. 94(4):752-759, 2018.

HAAS R, DÖRTBUDAK O, MENSDORFF-POUILLY N, MAILATH G. Elimination of bacteria on different implant surfaces through photosensitization and soft laser. An in vitro study. Clin Oral Implants Res. 8(4):249-54, 1997.

HAYEK RRA, ARAUJO NS, GIOSO MA, FERREIRA J, BAPTISTA-SOBRINHO CA, YAMADA AM JUNIOR, et al. Comparative study between the effects of photodynamic therapy and convencional therapy on microbial reduction in ligature-induced peri-implantitis in dogs. J Periondontol. 76(8):1275-81, 2005.

HEITZ-MAYFIELD LJA, SAVI GE. Peri-implant mucositis. J Periodontol. 89(Suppl 1): S257-S266, 2018.

KNOERNSCHILD KL, Lefebvre CA, Schuster GS, Payant LM, Gagnon FM. Endotoxin adherence to and elution from two casting alloys. Int J Prosthodont. 7(1):22-9, 1994.

KOTSOVILIS S, et al., Therapy of peri-implantitis: a systematic review. J ClinPeriodontol. 35(7):621-29. 2008.

KREISLER M, et al., In vitro YAG laser and an air powder system:evaluation of the biocompatibility of contaminated implant surfaces treated with an Er. Clin. ImplantesOrais Res. 16(1), pp.36-43. 2005.

MAHMOUDI H, BAHADOR A, POURHAJIBAGHER M, ALIKHANI MY. Antimicrobial photodynamic therapy: an effective alternative approach to control bacterial infections. J Lasers Med Sci. 9(3):154-160, 2018.

NARBAND N, MUBARAK M, READY D, PARKIN I, NAIR S, GREEN M, et al. Quantum dots as enhancers of the efficacy of bacterial lethal photosensitization. Nanotech. 19:445102, 2008.

NELSON SK, KNOERNSCHILD KL, ROBINSON FG, SCHUSTER GS. Lipopolysaccharide affinity for titanium implant biomateriais. J Prosthet Dent. 77(1):76-82, 1997.

NU ZITZMANN, T. BERLUNGH. Definition and prevalence of peri-implant diseases. J. Clin, Periodontol. 35 (s8), pp; 286-291, 2008.

O'NEILL JF, HOPE CK, WILSON M. Oral bacteria in multi-species biofilms can be killed by red light in the presence of toluidine blue. Lasers Surg Med. 31(2):86-90, 2002.

RENVERT S , PERSSON GR , PIRIH FQ , CAMARGO PM . Saúde peri-implantar, mucosite peri-implantar e peri-implantite: definições de casos e considerações diagnósticas . J Periodontol . 89 (Supl 1): S304 - S312 , 2018.

SALLUM AW, et al., O estado da doença periimplantar e seu tratamento clínico. In: Lenharo A, Bezerra F. Monitoramento e manutenção da saúde periimplantar. São Paulo: Ariel Lenharo; p. 191-202, 2009.

SALMERON S. Efeitos do laser em baixa intensidade, da terapia fotodinâmica e do azul de toluidina O na descontaminação de superfícies de implantes metálicos. Estudo microscópico em subcutâneo de ratos[dissertação]. Bauru (SP): Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo; 2011.

SALMERON S, REZENDE MLR, CONSOLARO A, SANT'ANA ACP, DAMANTE CA, GREGHI SLA, et al. Laser therapy as an effective method for implant surface decontamination: a histomorphometric study in rats. J Periodontol. 84(5),2013;641-49, 2013.

SHIBLI JA, et al. Lethal photosensitization and guided bone regerenation in treatment os peri-implantitis: an experimental study in dogs. Clin Oral Implants Res, 17(3):273-81, 2006.

SCHWARZ F , DERKS J , MONJE A , WANG H-L . PERIMPLANTIM . J Periodontol . 89 (Supl 1): S267 - S290, 2018

SOARES APF, et al. Monitoramento e manutenção da saúde periimplantar. In: Lenharo A, Bezerra F. Monitoramento e manutenção da saúde periimplantar. São Paulo: Ariel Lenharo; p. 15-33, 2009.

TAVARES LJ, et al, The impact of antimicrobial photodynamic therapy on peri-implant disease: What mechanisms are involved in this novel treatment?.PhotodiagnosisPhotodynTher, 17:236-244, 2017.

ZAPATA HFN, SALMERON S, SILVA A, et al. Análise microbiológica do efeito de terapia fotodinâmica antimicrobiana na descontaminação de superfície de titânio. Full Dent. Sci 3(11):279-284, 2012.

WAINWRIGHT M, GIDDENS RM. Phenothiazinium photosensitisers: choice in synthesis and application. Dyes and Pigments. 57:245-57, 2003.

YILMAZ S, et al. Effect of gallium arsenide diode laser on human periodontal diasease: a microbiological and clinical study. Lasers Surg Med 30(1):60-6, 2002.

ANEXOS

ANEXO I

FACULDADE INGÁ / UNINGÁ/PR

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Análise comparativa da ação de agentes descontaminantes sobre superfície de implante dentário - Estudo microbiológico in vitro

Pesquisador: SAMIRA SALMERON

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 96891018.7.0000.5220

Instituição Proponente: Faculdade Ingá / UNINGÁ/PR

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.072.210

Apresentação do Projeto:

O projeto descreve uma metodologia de estudo in vitro sobre o poder de descontaminação da terapia fotodinâmica e jato de bicarbonato sobre superfícies de titânio contaminadas por biofilme.O biofilme será coletadp de um único paciente durante o procedimento de tratamento odontológicod e remoção do biofilme.

Objetivo da Pesquisa:

Avaliar o poder de descontaminação da terapia fotodinâmica antimicrobiana e do jato de bicarbonato de sódio em superfície de titânio tratada
previamente contaminada com biofilme microbiano. Comparar a ação dos agentes descontaminantes com a ação do soro fisiológico e grupos
controle na descontaminação da superfície de titânio.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

O projeto relata riscos ao paciente durante a coleta do biofilme (sangramento, desconforto) que são inerentes ao tratamento periodontal. Os benefícios estão relacionados ao tratamento odontológico em si.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Projeto bem delineado, no qual será coletado biofilme de um participante para realizar a contaminação de discos de titÂnio para a realização doestudo in vitro.

Endereço: Rodovia BR 317, n 6114
Bairro: Saída para Astorga **CEP:** 87.035-510
UF: PR **Município:** MARINGA
Telefone: (44)3033-5009 **Fax:** (44)3225-5009 **E-mail:** cometeetica@uninga.br

FACULDADE INGÁ / UNINGÁ/PR

Continuação do Parecer: 3.072.210

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

TCLE adequado, Folha de rosto devidamente preenchida e assinada, Declaração de infraestutura preenchida e assinada.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

As solicitações foram atendidas e as pendências corrigidas.

Considerações Finais a critério do CEP:

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1111515.pdf	22/10/2018 11:46:02		Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.pdf	22/10/2018 11:40:00	SAMIRA SALMERON	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto.pdf	22/10/2018 11:39:46	SAMIRA SALMERON	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto.pdf	16/08/2018 17:16:21	SAMIRA SALMERON	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Curso_Odontologia.JPG	16/08/2018 17:11:25	SAMIRA SALMERON	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	Infraestrutura.JPG	16/08/2018 17:11:11	SAMIRA SALMERON	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

MARINGA, 11 de Dezembro de 2018

Assinado por:
Maria do Rosario Martins
(Coordenador(a))

Endereço: Rodovia BR 317, n 6114
Bairro: Saída para Astorga **CEP:** 87.035-510
UF: PR **Município:** MARINGA
Telefone: (44)3033-5009 **Fax:** (44)3225-5009 **E-mail:** cometeetica@uninga.br

FACULDADE INGÁ / UNINGÁ/PR

Continuação do Parecer: 3.072.210

Endereço: Rodovia BR 317, n 6114
Bairro: Saída para Astorga **CEP:** 87.035-510
UF: PR **Município:** MARINGA
Telefone: (44)3033-5009 **Fax:** (44)3225-5009 **E-mail:** cometeetica@uninga.br

ANEXO II

Centro Universitário Ingá

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Estou sendo convidado(a) a participar de um estudo denominado "**Análise comparativa da ação de agentes descontaminantes sobre superfícies de implante dentário – Estudo microbiológico *in vitro***", cujo objetivo e justificativa são contribuir no estabelecimento de um tratamento para uma doença relacionada aos implantes dentários.

A minha participação no referido estudo ocorrerá **como doador(a) voluntário(a) da amostra biológica a ser utilizada.** Fui informado(a) de que essa coleta não prejudica ou atrapalha de forma alguma o andamento do meu tratamento dentário, pelo contrário, faz parte do tratamento indicado a remoção da placa ou biofilme dental localizado abaixo da gengiva. Apenas uma amostra dessa placa removida, já como parte do meu tratamento, será coletada e utilizada para a pesquisa.

Estou ciente de que minha privacidade será respeitada, ou seja, meu nome ou qualquer outro dado ou elemento que possa, de alguma forma, identificar-me, será mantido em sigilo. Também fui informado(a) de que posso me recusar a participar do estudo sem sofrer qualquer prejuízo no tratamento que receberei.

Os pesquisadores envolvidos com o referido projeto são pós-graduandos e professores do Programa de Mestrado Profissional em Odontologia do Centro Universitário Ingá – UNINGÁ e, com eles, poderei manter contato a qualquer momento que desejar.

É assegurada a assistência, durante toda a pesquisa, bem como é garantido a mim o livre acesso a todas as informações e esclarecimentos adicionais sobre o estudo e suas consequências. Enfim, tudo o que eu queira saber antes, durante e depois da minha participação será disponibilizado.

Dessa forma, tendo sido orientado(a) quanto ao teor de todo o aqui mencionado e compreendido a natureza e o objetivo do já referido estudo, manifesto meu livre consentimento para que uma amostra de placa ou biofilme dental subgengival possa ser coletada, processada e armazenada para ser utilizada em pesquisa(s). Para conhecimento dos resultados obtidos com a utilização da amostra coletada, poderei entrar em contato com a pesquisadora responsável, Profa. Dra. Samira Salmeron. A retirada do consentimento para utilização da amostra poderá ser realizada por escrito, a qualquer momento, desde que não tenha ocorrido sua destruição, sem prejuízo(s) ou penalidade(s) em caso de minha desistência. O prazo de armazenamento da amostra é indeterminado, estando totalmente ciente de que não há nenhum valor econômico, a receber ou a pagar, por minha participação.

Eu, _____, após ter lido e entendido as informações e esclarecido todas as minhas dúvidas referentes a este estudo com a Professora Dra. Samira Salmeron, CONCORDO VOLUNTARIAMENTE em participar do mesmo.

_____ Data: _____ / _____ / _____

Assinatura do(a) voluntário(a) da pesquisa

Eu, Profa. Dra. Samira Salmeron, declaro que forneci todas as informações referentes ao estudo ao(à) voluntário(a) da pesquisa.

_____ Data: _____ / _____ / _____

Assinatura da pesquisadora responsável

Contato da pesquisadora responsável:
Rua Rui Barbosa, 249 – Maringá/PR
Telefone: (44) 3305-1548
Qualquer dúvida ou maiores esclarecimentos procurar um dos membros da equipe do projeto ou o Comitê Permanente de Ética em Pesquisa Envolvendo Seres Humanos da Faculdade Ingá, Uningá (Rod PR 317, 6114/ CEP:87035-510, Maringá, PR, Saída para Astorga– Telefone (44) 3033-5009 – ramal 5010).

1