

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
FACULDADE DE ODONTOLOGIA

ALESSANDRA DARIVA

**Efeito da escova ultrassônica sobre um biofilme
de *Streptococcus mutans*: estudo *in vitro***

Porto Alegre

2014

ALESSANDRA DARIVA

**Efeito da escova ultrassônica sobre um biofilme
de *Streptococcus mutans*: estudo *in vitro***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação de Odontologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito parcial para obtenção do título de Cirurgião Dentista.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lina Hashizume

Porto Alegre

2014

CIP - Catalogação na Publicação

Dariva, Alessandra

Efeito da escova ultrassônica sobre um biofilme de *Streptococcus mutans*: estudo in vitro / Alessandra Dariva. -- 2014.

33 f.

Orientadora: Lina Naomi Hashizume.

Trabalho de conclusão de curso (Graduação) -- Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Faculdade de Odontologia, Curso de Odontologia, Porto Alegre, BR-RS, 2014.

1. Biofilme. 2. Ultrassom. 3. Cárie Dentária. 4. Escova Dentária. I. Hashizume, Lina Naomi, orient. II. Título.

A toda minha família que me incentivou e me auxiliou em todos os momentos.

Em especial a minha mãe, Neusa Dariva, que me deu, além da vida, os princípios que me conduziram até aqui, e a minha irmã, Alana Dariva, que me deu a maior de todas as amizades.

AGRADECIMENTOS

À professora *Lina Hashizume*, pela oportunidade de aprendizagem, infinita atenção e confiança depositada em mim.

À técnica *Luisa Mercado* por todo carinho, palavras de otimismo, amizade, disponibilidade e conhecimento transmitido.

À professora *Thais Negrini*, pela alegria, carinho, conselhos e pelo entusiasmo contagiante.

Ao professor *Rodrigo Alex Arthur*, pela atenção e disponibilidade em ajudar.

À bolsista *Juliana Caletti*, pela ajuda, amizade e companhia no laboratório.

À colega *Carol Schwertner*, pela amizade, coleguismo, companhia e apoio.

À colega *Nicole Marchioro*, pelos conselhos e amizade.

“Agir, eis a inteligência verdadeira. Serei o que quiser. Mas tenho que querer o que for. O êxito está em ter êxito, e não em ter condições de êxito. Condições de palácio tem qualquer terra larga, mas onde estará o palácio se não o fizerem ali?”

Fernando Pessoa

RESUMO

DARIVA, Alessandra. **Efeito da escova ultrassônica sobre um biofilme de *Streptococcus mutans***: estudo *in vitro*. 2014. 33 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

O controle do biofilme dental é uma das mais importantes alternativas para impedir o surgimento e progressão da cárie dental. Métodos alternativos que facilitem e auxiliem o controle mecânico deste biofilme vem sendo testados como, por exemplo, a utilização de ultrassom. Assim, o objetivo desse estudo foi avaliar, *in vitro*, o efeito da escova dental ultrassônica sobre um biofilme de *Streptococcus mutans* através da avaliação da viabilidade microbiana e da observação em microscopia eletrônica de varredura. Para esse fim, foram confeccionados 78 blocos de esmalte dental. Esses foram imersos em meio à cultura Brain Heart Infusion (BHI) acrescido à sacarose e com suspensão de *Streptococcus mutans* e incubados em temperatura de 37°C, metade por um período de 24 horas e outra metade por um período de 72 horas, com o objetivo de promover a formação de um biofilme bacteriano jovem e outro mais estruturado. Os blocos, então, foram subdivididos em outros três grupos, de acordo com os modos de acionamento da escova ultrassônica: modo ultrassom, modo ultrassom associado à vibração e modo desligado (controle). Cada uma das amostras foi colocada em solução salina estéril a uma distância de 5 mm entre as cerdas da escova e o bloco de esmalte. O ultrassom foi aplicado na frequência de 1,6 MHz, sendo que, cada tratamento teve duração de 3 minutos. Então, 18 amostras foram observadas por meio de microscopia eletrônica de varredura e nas outras 60 foram feitas quantificações de *Streptococcus mutans* através do método de cultivo. Após obtenção dos resultados das contagens de micro-organismos aplicou-se o teste estatístico Kruskal Wallis, a um nível de significância de 5%. Em relação à quantificação microbiana o modo ultrassom associado à vibração apresentou menores valores do que o controle em biofilme de 72 horas ($p < 0,05$). Na análise de microscopia eletrônica de varredura observou-se que nos biofilmes de 24 e 72 horas houve uma maior dispersão e rupturas nas cadeias de *Streptococcus mutans* expostas aos dois modos de acionamento da escova que continham ultrassom. Baseado nos resultados do presente estudo conclui-se que a escova ultrassônica, quando acionada no modo ultrassom associado à vibração, apresenta um efeito na redução da viabilidade microbiana e na desestruturação de um biofilme de *Streptococcus mutans*.

Palavras-chave: Ultrassom. Biofilmes. Escova Dentária. Cárie Dentária.

ABSTRACT

DARIVA, Alessandra. **Effect of ultrasonic toothbrush on a biofilm of *Streptococcus mutans*: an *in vitro* study.** 2014. 33 f. Final Paper (Graduation in Dentistry) Faculdade de Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

The control of biofilm is one of the most important alternatives to prevent the emergence and progression of dental caries. An alternative to facilitate and assist the mechanical control of this biofilm is being tested, such as the use of ultrasound. Thus the aim of this study was to evaluate *in vitro* the effect of ultrasonic toothbrush on a biofilm of *Streptococcus mutans* through the assessment of microbial viability and observation by scanning electron microscopy. 78 blocks of enamel were made. Samples were immersed in Brain Heart Infusion (BHI) culture suspension of *Streptococcus mutans* and incubated at 37 °C for a period of 24 hours or 72 hours, with the aim of promoting the formation of a young biofilm or to be more structured. The blocks were then divided into three groups that received treatments according to the actuation of the ultrasonic toothbrush modes: ultrasound mode, ultrasound associated with vibration mode and mode off (control). Each sample was placed in a sterile saline solution at a distance of 5 mm between the bristles and the enamel block. The ultrasound was applied at a frequency of 1.6 MHz, and each treatment lasted for 3 minutes. The samples were observed by scanning electron microscopy and quantification of *Streptococcus mutans* were also performed by the method of cultivation. After obtaining the results of the counts of microorganisms was applied Kruskal Wallis statistical test at a significance level of 5%. In relation to microbial quantification ultrasound mode associated with vibration showed lower values than the control biofilm in 72 hours ($p < 0.05$). In the analysis of scanning electron microscopy revealed that the biofilms 24 and 72 hours there was greater dispersion and breaks the chains of *Streptococcus mutans* exposed to the two actuation modes of the brush containing ultrasound. Based on the results of this study it is concluded that ultrasonic brush activated ultrasonic associated vibration mode has an effect in reducing microbial and disrupt viability of *Streptococcus mutans* biofilm.

Keywords: Dentistry. Ultrasound. Biofilms. Toothbrush. Dental Caries.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	10
2	OBJETIVO	16
2.1	OBJETIVO GERAL.....	16
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	16
3	MATERIAIS E MÉTODOS	17
3.1	LOCAL DE REALIZAÇÃO DA PESQUISA.....	17
3.2	DELINEAMENTO EXPERIMENTAL.....	17
3.3	ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA.....	17
3.4	TAMANHO DA AMOSTRA.....	17
3.5	ESCOVA DENTAL ULTRASSÔNICA.....	18
3.6	FORMAÇÃO DA PELÍCULA ADQUIRIDA.....	19
3.7	FORMAÇÃO DO BIOFILME DE <i>Streptococcus mutans</i>	19
3.8	EXPOSIÇÃO À ESCOVA ULTRASSÔNICA.....	19
3.9	AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE E QUANTIFICAÇÃO DE <i>Streptococcus mutans</i>	20
3.10	OBSERVAÇÃO EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA.....	20
3.11	PROCESSAMENTO DE DADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	20
4	RESULTADOS	21
5	DISCUSSÃO	25
6	CONCLUSÃO	28
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	29
	REFERÊNCIAS	30
	ANEXO – TERMO DE DOAÇÃO DE MATERIAL BIOLÓGICO	33

1 INTRODUÇÃO

A cárie dentária é uma doença crônica de etiologia multifatorial que acomete as superfícies duras dos dentes. É caracterizada pela perda mineral, procedente de eventos metabólicos que ocorrem na interface biofilme-esmalte, provocando alterações do pH neste meio. Essa doença se manifesta quando há interação de três fatores principais: micro-organismos cariogênicos, dieta rica em carboidratos fermentáveis e hospedeiro susceptível por um período de tempo. Sem esses fatores esta doença não se manifesta, entretanto, a presença deles, não é por si só, suficiente para o surgimento da doença cárie. Existem outros fatores que podem interferir no surgimento e progressão da cárie dentária, são os chamados fatores confundidores, entre eles estão os fatores sócio-econômicos, educacionais e comportamentais (THYLSTRUP; FEJERSKOV, 1988).

Para que a cárie dentária se manifeste é essencial que as bactérias estejam estruturadas em um biofilme. O biofilme traz o conceito de que as bactérias orais não se comportam como uma unidade bacteriana isolada e sim como uma comunidade com diferentes micro-organismos agrupados em uma matriz extracelular (MARSH, 2004; FEJERSKOV; KIDD, 2011). Essa organização é espacialmente estruturada a partir de interações físicas, metabólicas e moleculares entre as bactérias, sendo essa integração essencial para a adesão, crescimento e sobrevivência das células bacterianas (MARSH, 2004). Assim, organizando-se num biofilme, torna-se possível a colonização e o crescimento bacteriano em inúmeras estruturas duras da cavidade oral como, dentes, restaurações, próteses e implantes (SCHIMIDT et al., 2013). O biofilme dental já começa a se estabelecer imediatamente após a limpeza de uma superfície da cavidade oral, quando macromoléculas presentes na saliva são absorvidas pelas superfícies, formando um filme denominado película adquirida. Esse é rico em proteínas e glicoproteínas salivares, e sua formação alteram a carga e a energia livre de superfície do esmalte, aumentando a eficiência da adesão bacteriana. As razões pelas quais as bactérias se estruturam em um biofilme são muitas, pois nesse meio elas adquirem inúmeras vantagens como maior proteção contra defesas do hospedeiro, substâncias tóxicas, antimicrobianos e maior capacidade de troca de nutrientes e troca de material genético (MACHADO, 2005). Todas essas características propiciam que as células bacterianas se organizem em uma comunidade. Uma vez estruturadas como um

biofilme podem potencializar seus fatores de virulência e lidar com condições adversas estressantes de uma maneira mais fácil. Isso, aliado ao fato de não haver descamação da superfície dental, cria condições favoráveis para o estabelecimento do biofilme bacteriano (MARSH, 2004; MARSH, 2009).

Para um biofilme ser considerado cariogênico, ele deve possuir na sua composição micro-organismos cariogênicos. Dentre os micro-organismos mais associados a essa etiologia, estão os *Streptococcus mutans* (CLARKE, 1924). Essas bactérias são acidúricas e acidogênicas, além de possuírem capacidade de produzir polissacarídeos extracelulares, elementos que formam a estrutura do biofilme dental, e polissacarídeos intracelulares, que são utilizados como fonte de energia quando nenhum açúcar é obtido pela dieta (LEITES; PINTOS; SOUZA, 2006; FEJERSKOV; KIDD, 2011). Os *Streptococcus mutans* são anaeróbios facultativos, capazes de metabolizar uma grande variedade de açúcares, incluindo sacarose (LEITES; PINTOS; SOUZA, 2006).

Para que haja sucesso tanto na prevenção, quanto na terapia da doença cárie, torna-se indispensável o controle do biofilme dental supragengival, realizado pelo paciente, por meio da sua remoção mecânica durante a escovação dentária e uso do fio dental (PEDRAZZI et al., 2008). Apesar de termos tal conhecimento, para muitos pacientes é difícil conseguir fazer um correto controle mecânico e remoção desse agente etiológico da cavidade oral (ZANATTA; ANTONIAZZI; RÖSING, 2007; ZANATTA et al., 2008). Essa dificuldade ocorre, principalmente, em áreas interproximais ou regiões de próteses onde as cerdas da escova não alcançam (SCHIMIDT et al., 2013). Assim, métodos alternativos e até substitutivos, como o químico, estão sendo estudados cada vez mais na Odontologia (FEJERSKOV; KIDD, 2011). Esses métodos têm como objetivo facilitar o controle do biofilme dental em pacientes que não conseguem realizá-lo de uma forma adequada. Exemplo disso, são os casos de pacientes que apresentam dificuldades motoras, que possuem prótese com difícil acesso para limpeza, que possuem implantes dentários e que apresentam dificuldades temporárias, como, os casos pós-cirúrgicos, onde são impossibilitados de realizar sua higiene oral durante um determinado período de tempo. Nesses casos, podem-se utilizar meios de controle químico do biofilme supragengival. Contudo, a utilização de agentes químicos deve ser controlada, uma vez que, podem apresentar efeitos adversos, como, manchamento de dentes, restaurações, próteses e língua, alterações do paladar, além de estímulo à formação

de cálculo supragengival, como por exemplo, o agente químico clorexidina (ZANATTA; RÖSING, 2007).

Para tentar facilitar e atuar como coadjuvante na remoção mecânica do biofilme dental, escovas elétricas que utilizam energia sonora estão sendo oferecidas cada vez mais no mercado, trazendo a proposta de ser um meio eficaz para a remoção do biofilme dental. Com a característica de atuar através da energia acústica, a escova possibilita ao clínico indicar este método de uma forma mais ampla, já que, mesmo sendo usada por períodos maiores de tempo não são descritos efeitos adversos na literatura, quando usada na forma correta (TEREZHNLN, 1994; COSTA; MARCANTONIO; CIRELLY, 2007; SORENSEN; PHAM; MCLINNES, 2008).

Para a compreensão de como as escovas sônicas funcionam e porque se tratam de uma alternativa segura é importante relembrar características da energia sonora. O som pode ser entendido como a energia de vibração de moléculas de um meio, que ao se propagar transfere esta energia vibracional à outra molécula. Dessa maneira, propagação sonora é o meio de transmissão dessa energia que só ocorre em meios líquidos, sólidos ou gasosos, no vácuo, por exemplo, essa transmissão não ocorre (BASSOLI, 2001). A frequência sonora é o número de oscilações que uma molécula realiza por segundo. Chamamos a unidade de frequência de Hertz (Hz). O ouvido humano é capaz de perceber sons com frequência de 20 Hz a 20 Khz. O ultrassom, por exemplo, tem uma frequência acima do limite de audição humana. Intensidade é a energia que atravessa uma área em um intervalo de tempo, dependendo da amplitude da onda. Assim, quanto maior a amplitude, maior será a quantidade de energia transportada (BASSOLI, 2001).

Recentemente foi lançada no Brasil uma escova ultrassônica, que tem como objetivo atuar como coadjuvante ao método mecânico no controle do biofilme dental.

A tecnologia ultrassônica não utiliza radiação ionizante, logo, efeitos genéticos e somáticos não ocorrem, podendo ser usada com segurança em crianças e gestantes (WHAITES, 2003).

Escovas dentais que utilizam a energia acústica em uma alta frequência, como a ultrassônica, provocam agitação dos fluidos da cavidade oral devido ao movimento que provocam nas cerdas da escova. O movimento do fluido provoca forças hidrodinâmicas, que atuam nas faces do dente, fazendo com que ocorra o deslocamento do biofilme dental (SCHIMIDT et al., 2013). Também, há

formação de bolhas (PARINI; EGGETT; PITT, 2005) que podem ter efetividade na remoção de micro-organismos do biofilme. O efeito de formação de bolhas provocado pelo ultrassom é chamado de efeito de cavitação. Esse fenômeno ocorre em meios líquidos onde a onda sonora, ao atravessá-lo, cria regiões de compressão e rarefação (BASSOLI, 2001). Na rarefação, quando a pressão negativa é alta, forma-se uma cavidade ou bolha. As bolhas crescem durante a rarefação e arrebentam durante o ciclo de compressão, quando o tamanho crítico da bolha é atingido. O microfluxo é outro fenômeno causado pelo ultrassom, corresponde ao movimento unidirecional que ocorre nos fluidos (BASSOLI, 2001), devido ao crescimento e à retração das bolhas de cavitação durante os ciclos de rarefação e compressão. Quanto maior é a quantidade de bolhas arrastadas, maior é o movimento de fluido. A interação desses efeitos (cavitação e microfluxo) é o que sugere que a escova ultrassônica possa remover o biofilme, mesmo sem contato com a superfície dental, de uma maneira eficaz (SCHIMIDT et al., 2013).

A escova ultrassônica tem como proposta a remoção do biofilme dental em superfícies de difícil acesso da cavidade oral, onde por muitas vezes, o método mecânico convencional torna-se difícil para o paciente. Assim, essa alternativa apresenta-se como inovadora para pacientes com dificuldades de fazer o controle do biofilme dental e também para aqueles que possuem prótese com difícil acesso para higienização, que é o caso de pacientes com implantes osseointegrados.

A escova ultrassônica utiliza a energia de 1,6 MHz de frequência, emitindo ondas de baixa intensidade. A baixa intensidade ultrassônica apresenta resultados na regeneração de estruturas celulares (KATANO et al., 2011), no tratamento para cicatrizes (DEMIR et al., 2004), no tratamento de fraturas (OLIVEIRA et al., 2011), na regeneração de tecido ósseo (OZAWA et al., 1998) além de um possível potencial antimicrobiano (COSTA et al., 2007). Resultados clínicos também mostram que pode haver efeito no tratamento de aftas recorrentes (BRICE; COLO, 1997), gengivite e periodontite (KUSANO et al., 2006). Além disso, a literatura cita diversos estudos que testaram e comprovaram a segurança do uso do ultrassom na área odontológica (SORENSEN; PHAM; MCLINNES, 2008; COSTA; MARCANTONIO; CIRELLY, 2007; TEREZHNL, 1994).

Entretanto os resultados de estudos encontrados na literatura que verificaram o efeito do uso da escova ultrassônica, no controle do biofilme dental, são controversos. Biesbrock et al. (2008) realizaram um estudo *in vivo* com o

objetivo de avaliar a eficácia da escova dental ultrassônica na remoção do biofilme dental, sem contato, quando comparada a outros três tipos de tratamento. O resultado obtido mostrou indivíduos que escovaram seus dentes, com a escova ultrassônica, apresentaram maiores índices de placa que os indivíduos que utilizaram a mesma escova no modo desligado.

Um estudo clínico Costa et al. (2007) avaliou a eficácia da escova ultrassônica comparada a uma escova elétrica na remoção do biofilme dental em pacientes que faziam uso de aparelho ortodôntico. Em seus resultados, a escova ultrassônica apresentou melhores índices de remoção de placa que a escova elétrica. Igualmente em outro estudo clínico, utilizou-se a escova ultrassônica como estratégia de higiene oral em uma população idosa, que muitas vezes apresenta falta de destreza manual para realizá-la. Esse trabalho obteve resultados significativos na redução do índice de placa e de sangramento gengival com o uso da escova ultrassônica (WHITMYER et al., 1998).

Uma revisão de literatura (SCHMIDT et al., 2013) avaliou o impacto da ação hidrodinâmica provocada pelas escovas acústicas (sônicas e ultrassônicas) na remoção do biofilme dental, sem contato. Esta revisão indicou dezesseis estudos, e mostrou uma redução do biofilme dental com o uso das escovas acústicas, *in vitro*, sugerindo que essas escovas possam facilitar a realização da higiene oral.

Poucos estudos avaliaram a ação do ultrassom emitido por uma escova ultrassônica em bactérias do gênero *Streptococcus mutans*. Shinada et al. (1999) realizaram um estudo *in vitro*, que teve como objetivo avaliar o efeito da escova dental ultrassônica na aderência do *Streptococcus mutans* em superfície de esmalte dental, além da morfologia celular deste micro-organismo. Foi observado uma diminuição da aderência do *Streptococcus mutans* na superfície de esmalte depois do uso do ultrassom. Outro estudo *in vitro* (ROBERTS et al., 2010), avaliou a ação sem contato, de diferentes modelos de escovas dentais elétricas, sobre um biofilme de *Streptococcus mutans*. Os resultados mostraram que todas as escovas provocaram remoção do biofilme dental, mas a escova com o modo de acionamento sônico com associação ao ultrassom foi a que apresentou melhor resultado.

A escova ultrassônica é uma ferramenta que utiliza uma tecnologia nova no Brasil. Essa poderia ser uma alternativa eficaz e segura para o controle do biofilme dental em pacientes, que por algum motivo, apresentam dificuldades em controlá-lo usando métodos convencionais. Dessa maneira, a proposta do estudo foi a avaliar *in*

vitro a acção da escova ultrassônica no controle de um biofilme dental de *Streptococcus mutans*.

2 OBJETIVO

Os objetivos do presente estudo foram divididos em objetivo geral e objetivos específicos.

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar *in vitro* o efeito da escova dental ultrassônica sobre um biofilme de *Streptococcus mutans*.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar, *in vitro*, o efeito da escova dental ultrassônica acionada nos seus diferentes modos (ultrassom, ultrassom associada à vibração e desligado), sobre *Streptococcus mutans* em um biofilme de 24 e 72 horas, através da quantificação microbiana e observação em microscopia eletrônica de varredura.
- Comparar o efeito da escova ultrassônica acionada em seus diferentes modos (ultrassom, ultrassom associado à vibração e desligado) em um biofilme de *Streptococcus mutans* de 24 e de 72 horas.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

A metodologia do presente estudo foi dividida em 11 itens.

3.1 LOCAL DE REALIZAÇÃO DA PESQUISA

O estudo foi realizado no Laboratório de Bioquímica e Microbiologia Bucal da Faculdade de Odontologia e no Centro de Microscopia Eletrônica (CME) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, RS.

3.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Foi realizado um estudo experimental laboratorial.

3.3 ASPECTOS ÉTICOS DA PESQUISA

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul e pelo Comitê de Ética da mesma Universidade, previamente à sua execução. Os dentes utilizados neste estudo foram doados de livre e espontânea vontade por pacientes que tiveram terceiros molares extraídos. Todos os doadores assinaram um termo de doação de dentes (Anexo 1).

3.4 TAMANHO DA AMOSTRA

O cálculo do tamanho da amostra foi realizado a partir dos dados de crescimento bacteriano de *Streptococcus mutans* de um estudo prévio sobre o efeito da escova sônica, ultrassônica e manual em saliva de pacientes ortodônticos relatado por Costa et al. (2007). Usando um protocolo semelhante, que considera um erro beta de 20% e um erro alfa de 5% e um poder do teste de 80%, foi estimado um tamanho amostral de 8 amostras em cada grupo. Portanto o presente estudo utilizou 10 amostras para cada grupo.

Confeccionaram-se 78 blocos de esmalte dental com dimensões de 3 x 3 x 2 mm a partir de dentes terceiros molares humanos. Estes dentes foram doados por voluntários e foram armazenados, por pelo menos 30 dias, em formol 2%, pH 7, antes da confecção dos blocos (CURY et al., 2001). Previamente, para que fossem esterilizados, a superfície dos blocos foi escovada com escova manual, expondo assim a superfície de esmalte.

Tabela 1 - Os blocos de esmalte divididos de acordo com o biofilme formado e o modo de acionamento da escova e análise a ser realizada.

Grupo - Controle (26 blocos)	
Biofilme de 24 horas (13 blocos)	Biofilme 72 horas (13 blocos)
10 blocos para análise microbiológica	10 blocos para análise microbiológica
3 blocos para análise em MEV	3 blocos para análise em MEV
Grupo - Modo Ultrassom (26 blocos)	
Biofilme de 24 horas (13 blocos)	Biofilme 72 horas (13 blocos)
10 blocos para análise microbiológica	10 blocos para análise microbiológica
3 blocos para análise em MEV	3 blocos para análise em MEV
Grupo – Modo Ultrassom Associado à Vibração (26 blocos)	
Biofilme de 24 horas (13 blocos)	Biofilme 72 horas (13 blocos)
10 blocos para análise microbiológica	10 blocos para análise microbiológica
3 blocos para análise em MEV	3 blocos para análise em MEV

3.5 ESCOVA DENTAL ULTRASSÔNICA

No presente estudo foi utilizada uma escova dental ultrassônica que possui uma peça cerâmica de 3 x 10 mm, localizada em sua cabeça onde é emitida a energia de ultrassom com frequência de 1,6 MHz. Essa escova tem as funções:

desligado, ultrassom, e ultrassom associado à vibração (Megasonex[®], Goldspire Group Ltd., Hong Kong, China).

3.6 FORMAÇÃO DA PELÍCULA ADQUIRIDA

Foi confeccionada a película salivar adquirida sobre todos os blocos de esmalte utilizados neste estudo, segundo o protocolo estabelecido por Guggenheim et al. (2001). Saliva estimulada foi coletada de quatro voluntários saudáveis, com velocidade de fluxo salivar normal. Depois de coletada, esta foi homogeneizada como uma única solução, centrifugada, filtrada, e diluída em solução salina. Os blocos de esmalte dental, depois de esterilizados em autoclave, foram incubados nessa solução de saliva diluída e purificada, ficando sob constante agitação à temperatura ambiente por 45 min.

3.7 FORMAÇÃO DO BIOFILME DE *Streptococcus mutans*

Streptococcus mutans (cepa UA 159) foram colocados para cultivo e crescimento em meio de cultura Brain Heart Infusion (Acumedia Manufactures, Inc. Lansing, Michigan, EUA) com 1% de sacarose, durante 12 horas a 37°C. Para promover formação de biofilme de *Streptococcus mutans*, utilizou-se o meio de cultura Brain Heart Infusion (BHI) acrescido de 5% de sacarose. A concentração microbiana foi ajustada para uma densidade ótica de 0,6 a 550 nm o que correspondeu a $1,0 \times 10^8$ UFC/mL. Os blocos de esmalte foram fixados em fios de aço inoxidável e incubados em tubos de ensaio contendo meio de cultura contendo BHI com sacarose e *Streptococcus mutans* e então foram incubados a 37°C por 24 ou 72 horas conforme o biofilme a ser formado.

3.8 EXPOSIÇÃO À ESCOVA ULTRASSÔNICA

Cada uma das amostras foi colocada em solução salina estéril a uma distância de 5 mm entre as cerdas da escova e a superfície do bloco de esmalte. Cada amostra recebeu tratamento durante 3 min de acordo com os diferentes modos acionamento da escova:

- Modo ultrassom

- Modo ultrassom associado à vibração
- Modo desligado (controle).

3.9 AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE E QUANTIFICAÇÃO DE *Streptococcus mutans*

Após o tratamento com a escova ultrassônica, os blocos de esmalte foram sonicados em 1 mL solução salina, depois foram feitas diluições seriadas. A suspensão obtida foi semeada em placas de Petri contendo meio de cultura ágar mitis salivarius acrescido com 5% de sacarose e bacitracina 0,2 UI/mL para crescimento de *Streptococcus mutans*. As placas foram incubadas a 37°C durante 48 horas em microaerofilia. Depois deste período, as colônias de *Streptococcus mutans* foram identificadas e contadas com o auxílio de um estéreo microscópio para determinar o número de unidades formadoras de colônia.

3.10 OBSERVAÇÃO EM MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

Após o experimento, dezoito (18) amostras foram submetidas à pré-fixação por no mínimo duas horas em 3 mL de solução de glutaraldeído tamponado 2,5%. Em seguida, as amostras receberam lavagens com tampão fosfato e foram desidratadas com diferentes concentrações de acetona, e após isso foram secas em ponto crítico e cobertas com carbono e platina. Depois de preparadas, as superfícies dos blocos de dentes foram observados através de um microscópio eletrônico de varredura a 10,0 kV (JSM 5800, Jeol, Tóquio, Japão).

3.11 PROCESSAMENTO DOS DADOS E ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para análise da contagem microbiana, o número de unidades formadoras de colônias (UFC) foram transformadas em \log_{10} , e então foi realizado o teste de Kruskal-Wallis, a um nível de significância de 5%. A análise estatística foi realizada com o auxílio do SPSS (Statistical Package for Social Sciences) versão 17.0 for Windows. Em relação aos resultados das observações em microscopia eletrônica de varredura, foi realizada uma análise descritiva dos resultados.

4 RESULTADOS

Os resultados obtidos para a contagem de *Streptococcus mutans* estão expressos na Tabela 1 para o biofilme de 24 horas e na Tabela 2 para o biofilme de 72 horas.

Tabela 2 - Contagem de *Streptococcus mutans* do biofilme de 24 horas (\log_{10} UFC):

Tratamento*	Mediana**	Percentis	
		25	75
Controle	4,98 ^a	4,7	5,37
Ultrassom	5,00 ^a	4,33	5,18
Ultrassom associado à vibração	4,44 ^a	3,53	5,13

* Número de amostras para cada tratamento = 10.

**Mediana quando sucedida por diferentes letras indicam diferença significativa entre os grupos, pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0.05$).

Tabela 3 - Contagem de *Streptococcus mutans* do biofilme de 72 horas (\log_{10} UFC):

Tratamento*	Mediana**	Percentis	
		25	75
Controle	8,07 ^a	7,84	8,27
Ultrassom	7,84 ^{ab}	7,19	7,97
Ultrassom associado à vibração	7,38 ^{bc}	6,67	7,90

* Número de amostras para cada tratamento = 10.

**Mediana quando sucedida por diferentes letras indicam diferença significativa entre os grupos, pelo teste de Kruskal-Wallis ($p < 0.05$).

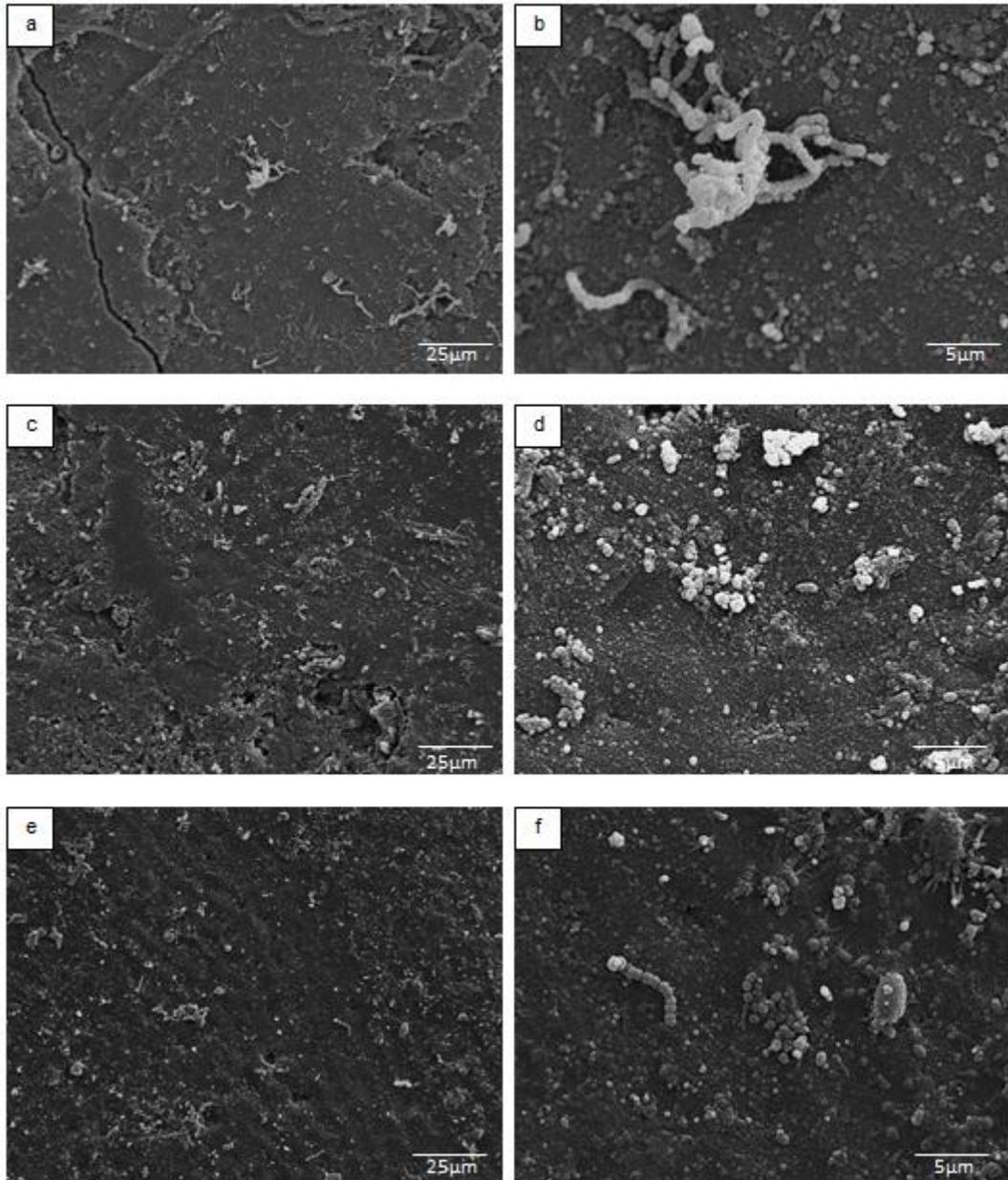
Não foram observadas diferenças entre as contagens microbianas no biofilme de 24 horas (Tabela 1) quando comparados os três modos de acionamento da escova ultrassônica ($p > 0,05$). Entretanto quando foram comparadas as contagens microbianas no biofilme de 72 horas (Tabela 2), os tratamentos controle e ultrassom associado a vibração diferiram entre si ($p < 0,05$). Os demais modos de ação da escova, quando relacionados, não diferiram na análise de contagem microbiana, para o biofilme de 72 horas.

As figuras 1 e 2 mostram as micrografias obtidas da observação em microscopia eletrônica de varredura para os biofilmes de 24 e 72 horas, respectivamente. Após serem submetidas aos diferentes tratamentos com a escova ultrassônica.

No biofilme de 24 horas, as imagens mostram que o modo controle apresentou formação de cadeias longas de *Streptococcus mutans* (Fig.1a-b). Nos demais modos da escova ultrassônica (ultrassom e ultrassom associado à vibração) as bactérias estão dispersas na superfície de esmalte, formando cadeias mais curtas (Fig.1c-f).

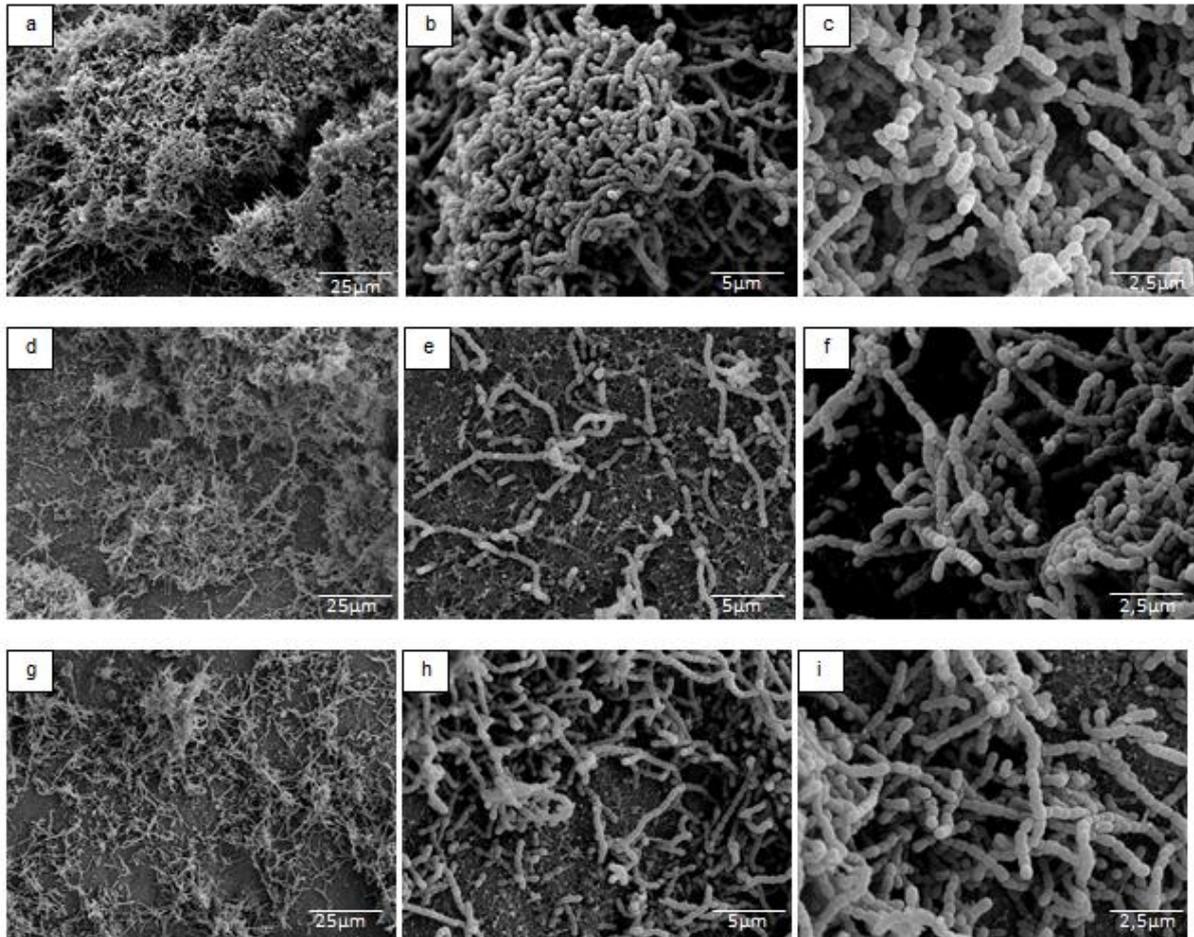
As imagens para o biofilme de 72 horas mostram que as amostras submetidas ao tratamento controle apresentam um biofilme mais estruturado, bem espesso e com cadeias longas de *Streptococcus mutans* (Fig.2a-c). No biofilme exposto aos modos ultrassom e ultrassom associado à vibração, apesar de também apresentar cadeias longas, em certos pontos, observaram-se rupturas em sua extensão, além disso, quando analisadas em um menor aumento, essas cadeias parecem estar mais dispersas na superfície de esmalte (Fig.2d-i).

Figura 1 - Visualização em microscopia eletrônica de varredura do biofilme de 24 horas de *Streptococcus mutans* formado sobre superfície de esmalte após tratamento com a escova no modo desligado (a-b), escova no modo ultrassom (c-d) e, escova no modo ultrassom associado à vibração (e-f).



Fonte: da autora, 2014

Figura 2 - Visualização em microscopia eletrônica de varredura do biofilme de 72 horas de *Streptococcus mutans* formado sobre superfície de esmalte, após tratamento com a escova no modo desligado (**a-c**), escova no modo ultrassom (**d-f**) e, escova no modo ultrassom associado à vibração (**g-i**).



Fonte: da autora, 2014

5 DISCUSSÃO

O presente estudo teve como objetivo demonstrar *in vitro* o efeito dos diferentes modos de acionamento da escova dental ultrassônica sobre um biofilme dental de *Streptococcus mutans* de 24 e 72 horas.

Os resultados desse estudo, obtidos *in vitro*, mostraram que o modo de acionamento ultrassom associado à vibração apresentou os melhores resultados, quando comparado aos outros dois outros modos de acionamento da escova ultrassônica (modo desligado e modo ultrassom), em um biofilme de *Streptococcus mutans*. Estes resultados concordam com o estudo de Roberts et al. (2010), onde a escova elétrica com a função ultrassom associada à vibração também apresentou melhores resultados, *in vitro*, na remoção de um biofilme de *Streptococcus mutans*. Entretanto, os autores não incluíram uma escova ultrassônica que tivesse o modo de acionamento ultrassom isolado.

Para verificar o efeito do ultrassom emitido pela escova ultrassônica de forma isolada, sem a sua associação com a vibração, o presente estudo incluiu um modo de acionamento com a emissão do ultrassom apenas. O estudo não conseguiu demonstrar que o ultrassom, usado dessa forma, teria um efeito significativo na diminuição do número de bactérias, tanto em um biofilme de 24 horas quanto em um de 72 horas. Entretanto nas micrografias de biofilme de 24 horas, os grupos tratados com ultrassom, as bactérias encontravam-se dispersas na superfície de esmalte ou formando cadeias curtas. Já nas micrografias de 72 horas observou-se que nos grupos tratados com o ultrassom as cadeias de *Streptococcus mutans* apresentaram rupturas em sua extensão e essas também estavam mais dispersas na superfície de esmalte. Isto pode indicar que apesar do ultrassom não diminuir o número de bactérias de um biofilme, tem a capacidade de desestruturar esse biofilme, podendo atuar como uma alternativa coadjuvante no seu controle.

A escova ultrassônica foi instalada a uma distância de 5 mm da superfície de esmalte dental contendo biofilme de *Streptococcus mutans*. A distância de 5 mm, escolhida para este estudo foi determinada com base em uma revisão de literatura de estudos *in vitro*, que avaliou a eficácia de escovas acústicas (sônicas e ultrassônicas) na remoção de biofilme dental, sem contato (SCHIMIDT et al., 2013). A proposta da escova ultrassônica em remover biofilme dental sem o contato mecânico entre as cerdas da escova e o biofilme dental, chama a atenção, pois se

trata de uma alternativa inovadora para pacientes que não conseguem realizar sua escovação de forma eficaz.

A escolha do *Streptococcus mutans* como micro-organismo teste para este estudo fundamentou-se na importância desta bactéria na etiologia da cárie dentária. O que se deve aos seus fatores de virulência, como a tolerância e produção de ácidos, bem como a capacidade de síntese de polissacarídeos extra e intracelulares (LEITÃO et al., 2001; OKADA et al., 2005; COUTO et al., 2005). Além disso, vários autores sugerem que o risco de cárie é diretamente proporcional ao aumento no número de estreptococos do grupo mutans (NOCE et al., 2008, MOMOSE et al., 2003; LOESCHE; STRAFFON, 1979). Justificando assim a importância de sua quantificação no presente estudo.

A análise em microscopia eletrônica de varredura teve como objetivo fazer uma análise qualitativa, através de observações na distribuição do biofilme formado e na morfologia microbiana, da ação da escova ultrassônica em um biofilme dental de *Streptococcus mutans*. Com as imagens obtidas em microscopia eletrônica de varredura podemos observar a disposição das cadeias microbianas logo após a exposição a cada tratamento com a escova ultrassônica. Entretanto este tipo de análise não permite a verificação da viabilidade bacteriana. Assim, neste estudo, a análise de viabilidade e contagem microbiana foram realizadas.

Um estudo anterior demonstrou que a formação de bolhas, formadas por escovas elétricas, teriam um efeito positivo na remoção do biofilme dental. Os autores sugerem a inclusão de métodos de propulsão de bolhas em equipamentos utilizados para higiene oral, e assim facilitar a remoção do biofilme dental (PARINI; EGGETT; PITT, 2005). A escova ultrassônica provoca, em meios líquidos, o efeito de cavitação, que é a formação de bolhas devido ao fenômeno de compressão e rarefação durante a propagação sonora (BASSOLI, 2001), podendo assim, melhorar os efeitos e ser uma alternativa para o controle do biofilme.

Shinada et al. (1999), realizaram um estudo *in vitro*, que teve como objetivo avaliar o efeito de uma escova dental ultrassônica na aderência do *Streptococcus mutans* em superfície de esmalte dental, além da morfologia celular deste micro-organismo. O estudo apresentou resultados satisfatórios, entretanto, a escova testada apresentava outras características e diferentes modos de acionamento, e não houve a quantificação e nem uma avaliação da viabilidade bacteriana.

No presente estudo, a escova ultrassônica, quando acionada no modo ultrassom, não apresentou diferença significativa comparada ao controle, em relação às contagens de *Streptococcus mutans* no biofilme de 72 horas. Entretanto, avaliando-se o valor da mediana apresentado para o tratamento com o modo ultrassom, verifica-se que este valor também não diferiu do tratamento com o modo ultrassom associado à vibração. Os valores para os percentis 25 e 75 do tratamento ultrassom apresentaram-se intermediários aos dos outros dois tratamentos. Isto poderia indicar uma tendência na redução das contagens se houvesse um número maior de exposições ao ultrassom emitido pela escova ultrassônica. Neste estudo, as amostras com biofilme bacteriano foram expostas apenas uma vez a ação da escova ultrassônica, não proporcionando resultados da ação do ultrassom emitido pela escova ultrassônica quando usado de uma forma regular. Uma frequência maior no uso da escova ultrassônica poderia ter um efeito cumulativo em desestruturar o biofilme dental, aumentando seus efeitos.

A escova ultrassônica testada no presente estudo não apresentava o modo de acionamento vibração isoladamente. Portanto não foi possível testar o efeito isolado da vibração sobre os biofilmes de 24 e 72 horas. Sugere-se que outros estudos sejam realizados avaliando essa função isoladamente, para que seja possível esclarecer o papel do ultrassom nesta associação com a vibração em biofilmes de *Streptococcus mutans*.

O presente estudo utilizou 3 minutos como período de tempo para expor o biofilme de *Streptococcus mutans* à escova ultrassônica. Em relação ao tempo de exposição uma revisão de literatura (SCHIMIDT et al., 2013) mostrou que não há diferença entre períodos de tempo maiores de 20 segundos e a quantidade de biofilme removido com o uso de escovas sônicas. Esse período de tempo de 3 minutos também é indicado pelo fabricante da escova, como o necessário para a higienização de todos os dentes, pois as ondas do ultrassom atuam em várias direções.

Uma das limitações do presente estudo foi à utilização de um modelo de biofilme mono-espécie, composto apenas por *Streptococcus mutans*. Foi utilizado este modelo para se obter resultados preliminares sobre o efeito do ultrassom em biofilmes mais simples. O estudo do efeito da escova ultrassônica sobre biofilmes multi-espécies seria um tema interessante para futuras investigações, por se aproximar mais das condições reais encontradas na cavidade bucal.

6 CONCLUSÃO

Baseado nos resultados do presente estudo pode-se concluir que:

- A escova ultrassônica quando acionada no modo ultrassom associado com a vibração apresenta os melhores resultados em relação à redução da viabilidade de *Streptococcus mutans* em biofilme de 72 horas.
- Em relação à morfologia e à desestruturação do biofilme de *Streptococcus mutans* formado em superfície de esmalte, os modos de acionamento ultrassom e ultrassom associado à vibração demonstram os melhores resultados.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Com novos modelos de escovas dentais surgindo no mercado, é imprescindível que estudos sejam feitos para testar sua real capacidade no controle do biofilme dental.

Grande número de pacientes tem dificuldades de controlar o biofilme dental através do método mecânico tradicional. A escova ultrassônica apresenta-se como uma alternativa inovadora, pois tem como proposta a remoção do biofilme dental sem contato direto com ele, atingindo locais em que as cerdas da escova não alcançam, sem apresentar os efeitos adversos do método químico.

Entretanto mais estudos são necessários, já que os achados deste estudo *in vitro*, não podem ser transpostos diretamente à realidade clínica.

REFERÊNCIAS

- BASSOLI, D.A. **Avaliação dos efeitos do ultrasson pulsado de baixa intensidade na regeneração de músculos esqueléticos com vistas á aplicabilidade em clínica fisioterapêutica.** 2001. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo, São Carlos.
- BIESBROCK, A.R. et al. Clinical evaluation of the effects of a sonic toothbrush with ultrasound waveguide in disrupting plaque with and without bristle contact. **Am. J. Dent.**, San Antonio, United States, v. 21, no.2, p. 83-87, Apr., 2008.
- BRICE, S.L.; COLO, D. Clinical evaluation of the use of low-intensity ultrasound in the treatment of recurrent aphthous stomatitis. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.**, St. Louis, United States, v. 83, p. 14-20, 1997.
- CLARKE, J.K. On the bacterial factor in the etiology of dental caries. **Br. J. Exp. Pathol.**, v. 5, no. 3, p. 141–147, June 1924.
- COSTA, M.R. et al. Efficacy of ultrasonic, electric and manual toothbrushes in patients with fixed orthodontic appliances. **Angle Orthodontist.** Appleton, United States, v. 77, no. 2, p. 361-366, 2007.
- COSTA, M.R.; MARCANTONIO, R.A.; CIRELLIJ, A. Comparison of manual versus sonic and ultrasonic toothbrushes: a review. **Int. J. Dent. Hyg.** Oxford, England, v. 5, no. 2, p. 75-81, 2007.
- CURY, J.A. et al. Effect of dentifrice containing fluoride and/or baking soda on enamel demineralization/remineralization: an in situ study. **Caries Res.**, Basel, v. 35, no. 2, p.106-110, Mar./Apr., 2001.
- DEMIR, H. et al. Comparison of the effects of laser and ultrasound treatments on experimental wound healing in rats. **J. Rehabil. Res. Dev.**, Washington, United States, v. 41, no. 5, p. 721-728, Set., 2004.
- FEJERSKOV, O.; KIDD, E. **Cárie dentária: a doença e seu tratamento clínico.** São Paulo, Santos, 2005.
- GUGGENHEIM, B. et al. Validation of an in vitro biofilm model of supragingival plaque. **J. Dent. Res.** Chicago, United States, v. 80, no. 1, p. 363-370, 2001..
- KATANO, M. et al. Low intensity pulsed ultrasound accelerates delayed healing process by reducing the time required for the completion of endochondral ossification in the aged mouse femur fracture model. **Exp. Anim.**, Tokyo, Japan, v. 60, no. 4, p. 385-395. 2011.
- KUSANO, H. et al. Proliferative response of gingival cells to ultrasonic and/or vibration toothbrushes. **Am. J. Dent.**, San Antonio, United States, v. 19, p. 7-10, 2006.

- LEITÃO, D.P.S. et al. Evaluation of the influence of cetylamine fluoride and sodium fluoride on acid production by *S. mutans*. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, São Paulo, Brasil. v. 37, p. 364-372, 2001.
- LEITES, A.C.B.R.; PINTO, M. B.; SOUSA, E.R.S. Aspectos microbiológicos da cárie dental. **Salusvita**, Bauru, v. 25, no. 2, p. 239- 252, 2006.
- LOESCHE, W.J.; STRAFFON, L.H. Longitudinal investigation of the role of *Streptococcus mutans* in human fissure decay. **Infection. And. Immunity.**, Washington, United States, v. 26, no. 2, p. 498-507, Nov., 1979.
- MACHADO, S.M.O. **Avaliação do efeito do antimicrobiano do surfactante cloreto de benzalcônio no controlo da formação de biofilmes indesejáveis.** 2005. Dissertação (Mestrado)-Universidade do Minho, Portugal.
- MARSH, P.D. Dental plaque as a microbial biofilm. **Caries Res.**, Basel, v. 38, p. 204–211, 2004.
- MARSH, P.D. Dental plaque as a biofilm: the significance of pH in health and caries. **Compend. Contin. Educ. Dent.**, Jamesburg, United States, v. 30, no. 2, p. 76-87, 2009.
- MOMOSE, D.R. et al. Quantificação de estreptococos do grupo mutans em crianças portadoras de manchas extrínsecas nos dentes. **Ver. Biociênc.**, Taubaté, Brasil, v. 9, no. 4, p. 53-58, Out./Dez., 2003.
- NOCE, E. et al. Aquisição de estreptococos mutans e desenvolvimento de cárie dental em primogênitos. **Pesq. Bras. Odontoped. Clin. Integr.**, João Pessoa, Brasil, v. 8, n. 2, p. 239-244, Maio/Ago., 2008.
- OKADA, M. et al. Longitudinal study of dental caries incidence associated with *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sobrinus* in pre-school children. **J. Med. Microbiol.**, Edinburgh, Edinburgh, v. 54, no. 7, p. 661-665, Jul., 2005.
- OZAWA, Y. et al. Low-energy laser irradiation stimulates bone nodule formation at early stages of cell culture in rat calvarial cells. **Bone.**, Elmsford, United States, v. 22, no. 4, p. 347-354, 1998.
- OLIVEIRA, P. et al. Comparison of the effects of low-level laser therapy and low-intensity pulsed ultrasound on the process of bone repair in the rat tibia. **Rev. Bras. Fisioter.**, São Carlos, Brasil, v. 15, no. 3, p. 200-205, 2011.
- PARINI, M.R.; EGGETT, D.L.; PITT, W.G. Removal of *Streptococcus mutans* biofilm by bubbles. **J. Clin. Periodontol.** Provo, United States, v. 32, p. 1151–1156, 2005.
- PEDRAZZI, V. et al. Métodos mecânicos para o controle do biofilme dentário supragengival. **R. Periodontia**, v. 19, no. 3, p. 26-33, 2008.
- ROBERTS, F.A. Evaluation of the use of ultrasound within a power toothbrush to dislodge oral bacteria using an *in vitro Streptococcus mutans* biofilm model. **Am. J. Dent.**, San Antonio, United States, v. 23, p. 65-69, April. 2010.

SCHIMIDT, J.C. et al. Brushing without brushing? – a review of the efficacy of powered toothbrushes in noncontact biofilm removal. **Clin. Oral Invest.**, Berlin, Germany, v. 17, p. 687-709, 2013.

SHINADA, K. et al. Efeito da escova ultrassônica sobre *Streptococcus mutans*: um estudo *in vitro*. **The Japanese J. Conservative Dent.**, Tóquio, Japão, v. 42, no. 2, p. 410-417, 1999.

SORENSEN, J.A.; PHAM, M.M.; MCLNNES C. *In vitro* safety evaluation of a new ultrasound power toothbrush. **J. Clin. Dent.**, Yardley, United States, v. 19, no. 1, p. 28-32, 2008.

TEREZHNLN, G.T. et al. Clinical evaluation of the efficacy and safety of the ultraSonex@ ultrasonic toothbrush: a 30-day study. **Compend. Contin. Educ. Den.**, v. 15, no. 7, p. 866-874, 1994.

THYLSTRUP, A.; FEJERSKOV, O. **Tratado de cariologia**. Rio de Janeiro, Brasil, 1988.

WHAITES, E. **Princípios de radiologia odontológica**. 3.ed., Porto Alegre: Artes Medicas, 2003.

WHITMYER, C.C. et al. Clinical evaluation of the efficacy and safety of an ultrasonic toothbrush system in an elderly patient population. **Geriatr. Nurs.**, New York, United States, v. 19, no. 1, p. 29-33, Jan./Feb., 1998.

ZANATTA, F.B.; RÖSING, C.K. Clorexidina: mecanismo de ação e evidências atuais de sua eficácia no contexto do biofilme supragengival. **Scientific-A**, v. 1, no. 2, p. 35-43, 2007.

ZANATTA, F.B. et al. Palito dental: razões para sua utilização e perfil cultural de usuários. **R. Periodontia**, v. 18, no. 3, p. 90-96, 2008.

ANEXO - TERMO DE DOAÇÃO DE MATERIAL BIOLÓGICO**Avaliação *in vitro* da eficácia da escova ultrassônica sobre *Streptococcus mutans***

Pesquisadora responsável: Prof^a.Dr^a Lina Naomi Hashizume.

Telefone para contato com pesquisador: (51) 3308-5193

A doença cárie continua sendo a maior responsável pela perda dentária em todas as idades. Esta doença tem origem microbiana e decorre da interação de diversos fatores que levam ao desequilíbrio no processo desmineralização e remineralização, conduzindo à perda mineral dos tecidos dentários. Desta forma, para que haja sucesso tanto na prevenção, quanto na terapia desta doença, torna-se indispensável o controle do biofilme supragengival, realizado por meio da sua remoção mecânica durante a escovação dentária, uso do fio dental ou utilizando métodos alternativos, tais como uso de produtos químicos e aparelhos ultrassônicos.

Objetivo do estudo: Uma vez que a literatura se mostra controversa no que se refere à efetividade do ultrassom em remover o biofilme dental, este estudo terá como objetivo avaliar, *in vitro*, a eficácia de escova dental ultrassônica sobre *Streptococcus mutans*.

Procedimento: Serão coletados dentes permanentes (terceiros molares), extraídos por motivos terapêuticos, doados pelos pacientes ou responsáveis. Os dentes doados farão parte de um estudo *in vitro* em que serão observados dados obtidos por meio de microscopia eletrônica de varredura, análise quantitativa de *Streptococcus mutans* e quantificação de polissacarídeo extracelular.

Sigilo: Todas as informações obtidas neste estudo poderão ser publicadas com finalidade científica, sem divulgação dos nomes das pessoas envolvidas.

Consentimento: Declaro ter lido e compreendido integralmente as informações acima antes de assinar este termo, não restando dúvidas quanto ao conteúdo deste documento. Assim, livre de qualquer forma de constrangimento e/ou coação faço a doação do dente.

Nome do participante: _____

Assinatura participante ou responsável _____

Assinatura pesquisador: _____

Data: _____