

UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CLÍNICA ODONTOLÓGICA  
MESTRADO EM CLÍNICA ODONTOLÓGICA

CAROLINE LOPES BINDA

**AVALIAÇÃO DA CONDIÇÃO PERIODONTAL E DA MICROBIOTA  
SUBGENGIVAL EM ADOLESCENTES TRATADOS ORTODONTICAMENTE COM  
APARELHO FIXO**

VITÓRIA  
2019

CAROLINE LOPES BINDA

**AVALIAÇÃO DA CONDIÇÃO PERIODONTAL E DA MICROBIOTA  
SUBGENGIVAL EM ADOLESCENTES TRATADOS ORTODONTICAMENTE COM  
APARELHO FIXO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós- Graduação em Clínica Odontológica do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Clínica Odontológica.

**Área de concentração:** Clínica Odontológica.

**Orientador:** Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Selva Maria Gonçalves Guerra.

**Co-orientador:** Prof. Dr. Alfredo Carlos Rodrigues Feitosa.

VITÓRIA

2019

CAROLINE LOPES BINDA

**AVALIAÇÃO DA CONDIÇÃO PERIODONTAL E DA MICROBIOTA  
SUBGENGIVAL EM ADOLESCENTES TRATADOS ORTODONTICAMENTE COM  
APARELHO FIXO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Clínica Odontológica do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Clínica Odontológica.

**COMISSÃO EXAMINADORA**

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Selva Maria Gonçalves Guerra  
Universidade Federal do Espírito Santo  
Orientadora

---

Prof. Dr. Alfredo Carlos Rodrigues Feitosa  
Universidade Federal do Espírito Santo  
Co-orientador

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Maria Christina Tomé Pacheco  
Universidade Federal do Espírito Santo

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Lorena da Ros Gonçalves  
Examinadora externa

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus pelo dom da vida! Agradeço por me sustentar nos momentos difíceis, pelas pessoas que colocou em meu caminho!

Aos meus pais, S. A. Binda e Sandra Binda, gratidão! MUITÍSSIMO obrigada por me mostrarem que a educação e o conhecimento são bens eternos e que é necessário sonhar!

Ao meu marido, Felipe Varejão, companheiro de jornada, agradeço por acreditar em mim, muitas vezes mais que eu mesma! Obrigada pela cumplicidade e compreensão.

À Mariana Binda e ao Pedro Binda, meus irmãos, e amigos, agradeço o apoio moral e encorajamento.

À minha Orientadora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Selva Maria Gonçalves Guerra, pela orientação no desenvolvimento da dissertação e progresso intelectual.

Ao meu Co-orientador, Prof. Dr. Alfredo Carlos Rodrigues Feitosa, agradeço a dedicação e saberes compartilhados. Obrigada pela gentileza, solicitude e palavras de incentivo.

Ao Prof. Dr. Roberto Carlos Bodart Brandão agradeço os conhecimentos transmitidos e colocações durante o processo de seleção do tema da pesquisa e na qualificação dessa dissertação.

À Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Danielle R. Camisasca Barroso pelo acolhimento e confiança depositados durante o estágio em docência na graduação, bem como pelos conhecimentos transmitidos.

Aos amigos do mestrado, por terem compartilhado momentos de alegria, desânimo, desespero, e em especial à Daniela Pertel, pelo apoio incondicional, força, incentivo, e à Lorena Sossai, companheira de aflições, dicas e apoio na reta final.

Aos meus mestres e amigos, professores do curso de especialização em Ortodontia da Faculdade São Leopoldo Mandic, Unidade de Vila Velha/ES, particularmente à Prof<sup>a</sup> Neila Maria de Almeida Smanio e o Prof. Dr. Pedro Paulo Dalla R. Andrade, agradeço todo incentivo, confiança e conhecimentos compartilhados com tanta generosidade!

À Regina Lucia Sales, secretária do Programa de Pós Graduação em Clínica Odontológica da Universidade Federal do Espírito Santo, muito obrigada por ser tão prestativa e me atender prontamente, solucionando tudo que foi necessário.

À técnica Izilvânia Barreto, do Laboratório de Pesquisa em Odontologia, Microbiologia, Imunologia e Biologia Molecular da Universidade de Guarulhos, São Paulo, e à Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Magda Feres, pelo auxílio na execução laboratorial desta pesquisa.

À equipe do Laboratório de Ultraestrutura Celular Carlos Alberto Redins, em especial ao Dr. Jairo P. de Oliveira, ao Prof. Gabriel H. Taufner e ao Prof. Wanderson J. Keijok pela recepção, acolhimento e auxílio do preparo das soluções químicas para realização da análise molecular.

À equipe do Laboratório de Biologia Celular e Molecular do Câncer Humano, do Departamento de Bioquímica e Farmacologia da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), em especial à doutoranda Maria da Conceição Gomes, sempre atenciosa e disponível, e à coordenadora, Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Letícia Batista de Azevedo Rangel.

*"A tarefa não é tanto ver aquilo que ninguém viu,  
mas pensar o que ninguém ainda pensou sobre  
aquilo que todo mundo vê".*

*Arthur Schopenhauer*

## RESUMO

**Introdução:** Aparelhos ortodônticos fixos podem promover o aumento do acúmulo de placa bacteriana, modificando a composição da microbiota subgingival e levar a uma condição de inflamação gengival e, posteriormente, à destruição dos tecidos periodontais de suporte. **Objetivo:** Avaliar e comparar a condição clínica periodontal e a composição microbiológica da placa subgingival de pacientes adolescentes após o tratamento ortodôntico. **Materiais e Métodos:** Vinte e três adolescentes com idades entre 10 e 19 anos, em fase de finalização ortodôntica foram selecionados por amostragem não-probabilística por conveniência. Amostras da placa subgingival foram coletadas de seis dentes-índice (16, 11, 26, 36, 31 e 46) para análise microbiológica pela técnica Checkerboard DNA-DNA hybridization e parâmetros clínicos periodontais (Índice de placa visível, Índice de sangramento gengival marginal, Índice de profundidade à sondagem e Sangramento à sondagem) foram avaliados no dia da remoção do aparelho fixo metálico (T1) e seis meses após (T2). **Resultados:** Houve redução estatisticamente significativa dos índices clínicos periodontais seis meses após a remoção do aparelho fixo ortodôntico. Em T2, ocorreu um aumento estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ) nas médias de contagem e proporções das bactérias *C. showae*, *F. periodonticum*, *S. sanguinis*, *S. gordonii*, *C. gingivalis*, *A. odontolyticus I*, *A. naeslundii I*, e redução dos microrganismos *F. nucleatum* (sp. *vincentii*), *E. saburreum*, *S. anginosus* e *P. melaninogenica* ( $p < 0,05$ ), com maior frequência de bactérias do complexo laranja (T1: 28,28%; T2: 27,88%). **Conclusão:** Os aparelhos fixos ortodônticos modificam a saúde clínica periodontal, alterando parâmetros clínicos que tendem a retornar a valores considerados normais após sua remoção, assim como a concentração de bactérias periodontopatogênicas presentes na placa subgingival.

Palavras-chave<sup>1</sup>: Ortodontia. Índice periodontal. Microbiota.

---

<sup>1</sup> Descritores em Ciências da Saúde (DeCS): disponível em <http://decs.bvs.br/>

## ABSTRACT

**Introduction:** Plaque retention around orthodontic brackets may change subgingival microbiota composition and lead to gingival inflammation and, subsequently, to destruction of supporting periodontal tissues. **Objective:** To evaluate and compare the periodontal health and subgingival microbial plaque composition after orthodontic treatment. **Materials and Methods:** 23 participants aged between 10 and 19 years who had finished orthodontic treatment were selected by means of a non-probabilistic sampling for convenience method. Subgingival plaque samples were obtained from six index teeth (16, 11, 26, 36, 31 and 46) upon orthodontic brackets removal (T1) and after 6 months (T2), and analyzed by the Checkerboard DNA-DNA hybridization technique; in addition, the participants were submitted to clinical examination in terms of visible plaque index, gingival bleeding index, probing depth and bleeding on probing. **Results:** A significant reduction of periodontal clinical parameters was observed six months after brackets removal. Also at T2, a significant increase of mean counts and proportions of the bacteria *C. showae*, *F. periodonticum*, *S. sanguinis*, *S. gordonii*, *C. gingivalis*, *A. odontolyticus I*, *A. naeslundii I* was observed ( $p < .05$ ), as well as a significant reduction of *F. nucleatum* (sp. *vincentii*), *E. saburreum*, *S. anginosus* e *P. melaninogenica* ( $p < .05$ ), with higher frequency for bacteria from the orange complex (T1: 28.28%; T2: 27.88%). **Conclusion:** Periodontal health is negatively influenced by the use of fixed orthodontic appliances; however, clinical parameters tend to return to normal values after brackets removal as well as the concentration of periodontopathogenic bacteria present in subgingival plaque.

Keywords<sup>2</sup>: Orthodontics. Periodontal index. Microbiota.

---

<sup>2</sup> Health Sciences Descriptors (DeCS): at <http://decs.bvs.br>



## LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Análise de Concordância Kappa para os índices periodontais avaliados na calibração .....	50
--	----

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Relação das cepas empregadas para a confecção das Sondas de DNA. Agrupamento das espécies bacterianas por complexos .....	56
Tabela 2 - Índice utilizado para a determinação dos níveis dos microrganismos nas amostras de biofilme subgengival .....	60
Tabela 3 - Avaliação das proporções do Índice de placa visível em T1 e T2.....	63
Tabela 4 - Avaliação das proporções do Índice de Sangramento Gengival Marginal em T1 e T2 .....	65
Tabela 5 - Comparação do Índice de profundidade à sondagem entre os momentos avaliados.....	67
Tabela 6 - Comparação do Sangramento à sondagem entre os momentos avaliados.....	68
Tabela 7 - Comparação das porcentagens médias das bactérias entre os tempos T1 e T2.....	71
Tabela 8 - Comparação das proporções de células bacterianas e Índice de profundidade à sondagem entre os tempos T1 e T2.....	73
Tabela 9 - Comparação das proporções de células bacterianas e Sangramento à sondagem entre os tempos T1 e T2.....	75

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação esquemática dos seis complexos microbianos encontrados em placas subgengivais .....	17
Figura 2 - Representação gráfica do "Minislot" (Immunitics, Cambridge, MA, USA) e resumo da preparação e deposição das amostras de biofilme subgengival bacteriano (Técnica do Checkboard DNA-DNA hybridization).....	54
Figura 3 - Representação gráfica do "Miniblotter 45" (Immunitics, Cambridge, MA, USA) e resumo das etapas de hibridização e detecção das espécies bacterianas presentes nas amostras de biofilme subgengival bacteriano.....	56
Figura 4 - Leitura dos filmes radiográficos comparando-se a intensidade dos sinais obtidos na técnica Checkboard DNA–DNA hybridization .....	59
Figura 5 - Proporções e frequências dos complexos microbianos presentes nas amostras de biofilme subgengival em T1 e em T2.....	69
Figura 6 - Perfil microbiano das médias de proporção (%) das espécies bacterianas presentes nas amostras de biofilme subgengival ao término do tratamento ortodôntico (T1) e 06 meses após a remoção do aparelho fixo (T2).....	70

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>14</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>15</b>
2.1 OBJETIVO GERAL .....	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	15
<b>3 REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>16</b>
3.1 ETIOLOGIA DA DOENÇA PERIODONTAL.....	16
3.2 APARELHO ORTODÔNTICO FIXO E ALTERAÇÕES NO PERFIL MICROBIOLÓGICO SUBGENGIVAL E NOS PARÂMETROS CLÍNICOS PERIODONTAIS .....	21
<b>4 MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>46</b>
4.1 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS E DELINEAMENTO DO ESTUDO .....	46
4.2 AMOSTRA .....	46
4.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO .....	47
4.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO .....	48
4.5 AVALIAÇÃO CLÍNICA .....	49
<b>4.5.1. Calibração periodontal .....</b>	<b>49</b>
<b>4.5.2. Exame clínico periodontal .....</b>	<b>51</b>
4.6 REMOÇÃO DO APARELHO FIXO E COLETA DO BIOFILME SUBGENGIVAL .....	52
<b>4.6.1 Técnica Checkboard DNA-DNA Hybridization .....</b>	<b>53</b>
4.6.1.1 Hibridização DNA-DNA .....	53

4.6.1.2 Detecção das espécies .....	58
4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	60
<b>5 RESULTADOS .....</b>	<b>62</b>
5.1 RESULTADOS CLÍNICOS PERIODONTAIS .....	62
<b>5.1.1 Índice de placa visível .....</b>	<b>62</b>
<b>5.1.2 Índice de sangramento gengival marginal .....</b>	<b>64</b>
<b>5.1.3 Índice de profundidade à sondagem .....</b>	<b>67</b>
<b>5.1.4 Sangramento à sondagem .....</b>	<b>67</b>
5.2 RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS .....	68
5.3 COMPARAÇÃO ENTRE O ÍNDICE DE PROFUNDIDADE À SONDAGEM E O SANGRAMENTO À SONDAGEM E PROPORÇÃO DE CÉLULAS BACTERIANAS.....	73
<b>6 DISCUSSÃO .....</b>	<b>78</b>
6.1 PERSPECTIVAS FUTURAS .....	84
<b>7 CONCLUSÃO .....</b>	<b>86</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>87</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>94</b>
<b>APÊNDICE .....</b>	<b>105</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Além dos benefícios obtidos, como o alinhamento dos dentes e melhor relacionamento entre os maxilares, o uso de aparelhos ortodônticos apresenta riscos e complicações associados, assim como qualquer modalidade de tratamento (PREOTEASA; IONESCU, PROTEASA, 2012). Sabe-se que os aparelhos ortodônticos são compostos por vários acessórios que apresentam superfícies irregulares que funcionam como áreas de retenção, promovendo aumento no acúmulo de biofilme microbiano e elevando a concentração de microrganismos (ANDRUCIOLI et al., 2012; JURELA et al., 2013). Além disso, limitam a limpeza mecânica ocasionada pela saliva e pela movimentação da musculatura (FALTERMEIER et al., 2007; JURELA et al., 2013).

Conhecer a microbiota que coloniza os aparelhos ortodônticos é importante para o planejamento de estratégias e implementação de medidas preventivas específicas durante o tratamento (ANDRUCIOLI et al., 2012). As técnicas de biologia molecular permitem a detecção de microrganismos nutricionalmente exigentes e de difícil cultivo, tornando possível a identificação de espécies bacterianas de maneira mais confiável. Dentre essas, encontra-se a técnica Checkerboard DNA-DNA hybridization, preconizada por Socransky et al. (1994), e empregada inicialmente na Ortodontia no estudo de Anhoury et al. (2002) para avaliar a contaminação microbiana de braquetes metálicos e cerâmicos.

O presente trabalho tem por objetivo avaliar e comparar a condição clínica periodontal e a composição microbiológica subgingival em pacientes adolescentes no momento da remoção do aparelho e seis meses após a conclusão do tratamento ortodôntico.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar a influência do tratamento ortodôntico na condição periodontal periodontal e na microbiota subgengival em pacientes adolescentes.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

A) Avaliar e comparar os parâmetros clínicos periodontais através do Índice de placa visível, do Índice de sangramento gengival marginal, do Índice de profundidade à sondagem e do Índice de sangramento à sondagem em dois momentos: T1) momento da remoção do aparelho ortodôntico fixo; T2) seis meses após o término do tratamento;

B) Determinar e comparar os complexos microbianos presentes no biofilme subgengival nos momentos T1 e T2, utilizando a técnica Checkerboard DNA-DNA hybridization.

### 3 REVISÃO DA LITERATURA

#### 3.1 ETIOLOGIA DA DOENÇA PERIODONTAL

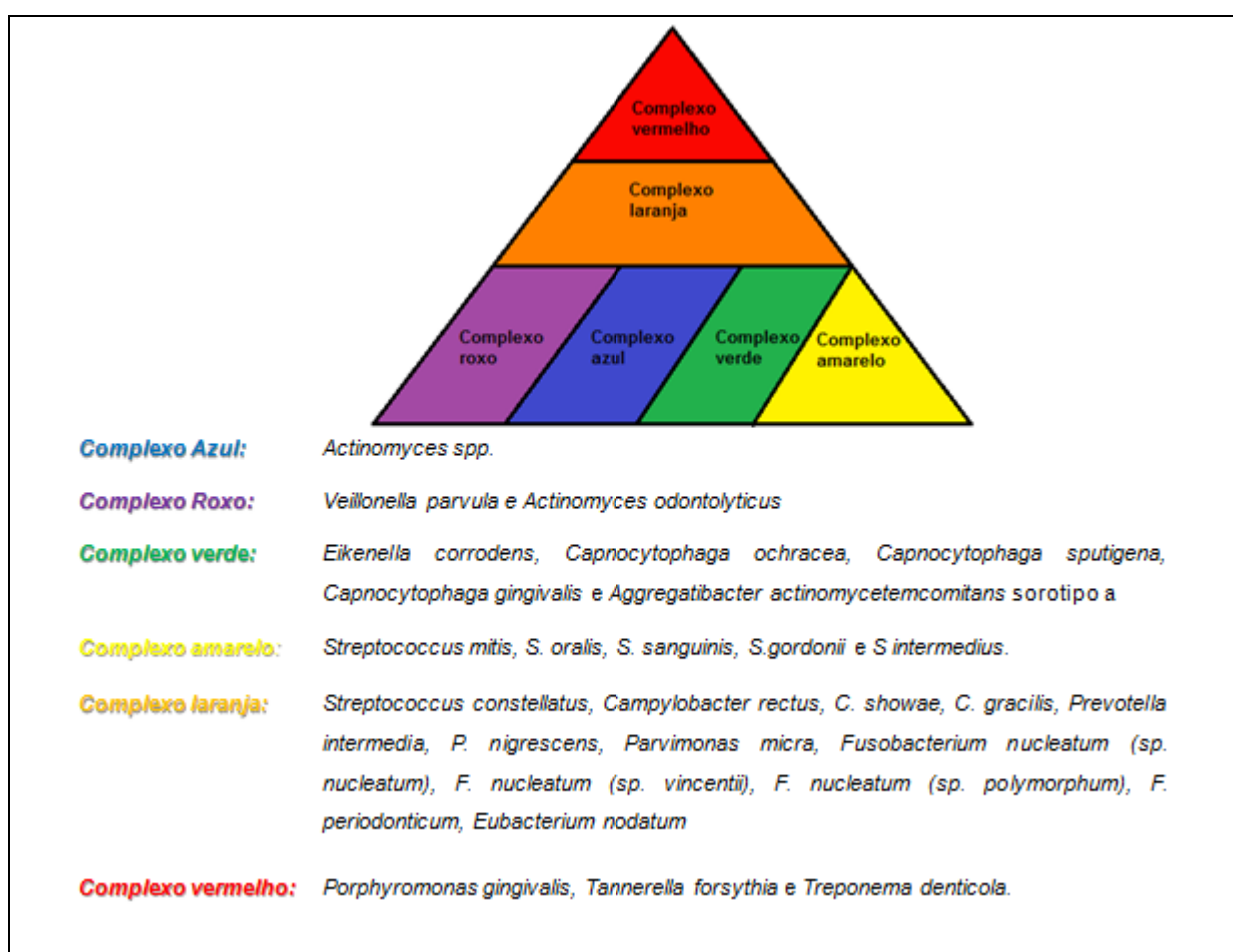
A placa dentária pode ser definida como uma película não calcificada, aderida firmemente às superfícies dentais, resistindo à presença do fluxo salivar. O termo biofilme é utilizado para caracterizar uma comunidade microbiana encapsulada em polímero que se acumula em uma superfície (WILSON, 2001). O biofilme dental é o fator etiológico mais importante no surgimento das doenças periodontais (OPPERMAN; ROSING, 2001).

Diversos microrganismos colonizam o ambiente periodontal, sendo as bactérias a principal causa de doenças infecciosas e a placa bacteriana o principal fator etiológico no desenvolvimento de inflamação gengival e periodontite (GHIJSELINGS et al; 2014). Não é somente a quantidade deles que determina as modificações que ocorrem na passagem da saúde para a periodontite, mas a atividade sinérgica que ocorre com a combinação das atividades metabólicas das espécies implantadas. Mais de 500 espécies bacterianas já foram identificadas usando técnicas de cultivo e de biologia molecular. A maioria parece ser comensal e apenas um pequeno número compreende patógenos oportunistas. As doenças periodontais destrutivas são causadas por algumas espécies microbianas diferentes e podem ocorrer em vários sítios e em intervalos irregulares. Muitos progressos têm sido feitos nos estudos sobre etiologia das doenças periodontais. Um fato a ser considerado refere-se à diversidade microbiana existente no biofilme subgengival. As doenças periodontais estão associadas com alterações na densidade e na composição dessa biomassa (TREVIZANI FILHO; SANI NETO, 2002).



Atualmente, a etiologia da doença periodontal está baseada na hipótese dos Complexos Microbianos de Socransky (SOCRANSKY et al., 1998). Neste sentido, foram descritos seis complexos microbianos que se instalam sequencialmente na placa subgengival (figura 01) (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2005).

Figura 01 - Representação esquemática dos seis complexos microbianos encontrados em placas subgengivais (SOCRANSKY et al., 1998; SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2005).



As espécies bacterianas que constituem os complexos Amarelo, Verde, Roxo, juntamente com as bactérias do grupo *Actinomyces* (complexo Azul) têm a capacidade de se aderirem à superfície dental, colonizando-a inicialmente,

constituindo a base da pirâmide do biofilme. As espécies de *Streptococcus* constituem 47% a 82% dos colonizadores pioneiros. Esses complexos basais fornecem receptores e criam condições ecológicas para a implantação das bactérias do complexo laranja (*Streptococcus constellatus*, *Campylobacter rectus*, *Campylobacter showae*, *Campylobacter gracilis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Parvimonas micra*, *Fusobacterium nucleatum* e *Fusobacterium periodonticum*), implicadas com a patogênese das doenças periodontais. O complexo laranja precede e cria condições para a implantação do complexo vermelho (ápice da pirâmide); este último grupo é formado pelas espécies *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis* e *Treponema denticola*, reconhecidas como agentes etiológicos da periodontite crônica e relacionados com o aumento de profundidade de bolsa e com a presença de sangramento à sondagem (TREVIZANI FILHO; SANI NETO, 2002). Os microrganismos dos complexos laranja e vermelho estão envolvidos no desenvolvimento da doença periodontal (SOCRANSKY et al., 1998; HAFFAJEE et al., 2009) e são diretamente associados com a inflamação gengival, comumente observada durante o tratamento ortodôntico (SALLUM et al., 2004).

A doença periodontal resulta de uma complexa interação entre o biofilme subgengival e eventos imunoinflamatórios do hospedeiro que se desenvolvem nos tecidos gengivais e periodontais, em resposta ao desafio apresentado pelas bactérias. É geralmente aceito que a gengivite antecede a periodontite, mas é claro que nem todos os casos há evolução da gengivite para a periodontite. Na gengivite, a lesão inflamatória se limita à gengiva, mas na periodontite, os processos inflamatórios estendem-se, afetando o ligamento periodontal e o osso alveolar. O resultado final dessas alterações inflamatórias é o rompimento das fibras do

ligamento periodontal, resultando em perda clínica de inserção, juntamente com a reabsorção do osso alveolar (PRESHAW; TAYLOR, 2011).

O aumento no número de bactérias e estabelecimento de possíveis interações entre as espécies envolvidas na patogênese das doenças periodontais gera consequente aumento da virulência desses microrganismos (GENCO; BORGNACKE, 2013; NISHIYAMA, 2013). Entre os periodontopatógenos, incluem-se microrganismos específicos, com potenciais fatores de virulência associados à aderência, presença de cápsula, produção de proteases, inibição dos mecanismos de defesa do hospedeiro, destruição dos tecidos gengivais e reabsorção óssea alveolar, além disso, formam complexos polimicrobianos mais resistentes à ação de drogas e à resposta imunológica (PASTER et al., 2001; ARMITAGE; ROBERTSON, 2009; NISHIYAMA, 2013). A saúde dos tecidos periodontais depende do equilíbrio entre a virulência dos microrganismos do biofilme subgengival e dos mecanismos de defesa do hospedeiro. Quando ocorrer desequilíbrio, a doença pode se instalar.

*Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Actinomyces actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Fusobacterium nucleatum*, *Dialister pneumosistes*, *Parvimonas micra*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, *Capnocytophaga sputigena* são as bactérias que mais se destacam na patogênese das doenças periodontais (AMAR; LEEMAN, 2013; NISHIYAMA, 2013).

O desenvolvimento da gengivite está associado a alterações microbiológicas da placa dental, e não é simplesmente devido ao acúmulo de placa. A microbiota subgengival da gengivite induzida por placa difere da encontrada na saúde e na periodontite crônica. Consistem em proporções praticamente iguais de espécies

Gram-positivas (56%) e Gram-negativas (44%), bem como microrganismos facultativos (59%) e anaeróbios (41%) (SLOTS, 1979).

As espécies gram-positivas predominantes incluem *Streptococcus* spp. (*S. sanguinis*, *S. mitis*, *S. intermedius*, *S. oralis* e *S. anginosus*), *Actinomyces* spp. (*A. viscosus*, *A. naeslundii*), *Eubacterium nodatum* e *Parvimonas micra*. Os microrganismos Gram-negativos são predominantemente: *Capnocytophaga* spp., *Fusobacterium* spp., *Prevotella* spp., *Campylobacter gracilis*, *Campylobacter concisus*, *Veillonella parvula*, *Haemophilus* spp. e *Eikenella corrodens*. Os dois grupos são comumente associados à gengivite. No entanto, as espécies Gram-negativas *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *P. intermedia*, *C. rectus*, *Treponema* spp., e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (sorotipo a) são comumente encontradas nas periodontites, mas também associadas à gengivite em menor número (SLOTS, 1979; MOORE; MOORE, 1994).

Na periodontite crônica, as bactérias mais frequentemente detectadas em alto nível incluem *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *C. rectus*, *Eikenella corrodens*, *F. nucleatum*, *A. actinomycetemcomitans* (frequentemente sorotipo b), *P. micra*, *E. nodatum*, *Leptotrichia buccalis*, *Treponema denticola*, *Selenomonas* spp. (*S. noxia*) e *Enteric* spp. Níveis detectáveis de *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia*, *C. rectus* e *A. actinomycetemcomitans* estão associados à progressão da doença, e sua eliminação por meio de terapia está associada a uma melhora na resposta clínica (MOORE; MOORE, 1994).

Estudos experimentais sobre a gengivite forneceram os primeiros indícios empíricos de que o acúmulo de biofilme microbiano nas superfícies limpas dos dentes resulta no desenvolvimento de um processo inflamatório ao redor do tecido gengival. A

inflamação local persiste enquanto o biofilme microbiano estiver presente adjacente aos tecidos gengivais, e pode se resolver após a remoção meticulosa do biofilme (SILNESS; LOE, 1964). A mudança microbiana encontrada em sítios saudáveis versus doentes indica que a estabilidade da comunidade de placas dentárias é um bom preditor de saúde periodontal, enquanto as mudanças nesta comunidade estão associadas à alteração no estado clínico tecidual (DARVEAU, 2010).

### 3.2 APARELHO ORTODÔNTICO FIXO E ALTERAÇÕES NO PERFIL MICROBIOLÓGICO SUBGENGIVAL E NOS PARÂMETROS CLÍNICOS PERIODONTAIS

A terapia ortodôntica pode afetar o periodonto por favorecer a retenção de placa, por lesionar diretamente a gengiva em consequência de bandas com sobrecontornos e por criar forças excessivas e/ou desfavoráveis nos dentes e nas estruturas de sustentação. Aparelhos ortodônticos não apenas tendem a reter a placa bacteriana e resíduos alimentares, resultando em gengivite, como também são capazes de modificar o ecossistema da gengiva (HINRICHS, 2011).

O uso de aparelhos ortodônticos pode levar a uma mudança qualitativa da microbiota subgengival, favorecendo o crescimento de *A. actinomycetemcomitans* (Aa) e à destruição dos tecidos periodontais e inibição da resposta imunológica do hospedeiro (PAOLANTONIO et al., 1997). Os autores realizaram um estudo prospectivo de três anos com o objetivo de relatar a colonização subgengival de Aa em pacientes ortodônticos, e relacionar a presença de Aa na placa subgengival com as alterações nos tecidos periodontais. Setenta pacientes com idades entre 12 e 20 anos foram selecionados para a pesquisa e divididos para estudo em dois grupos:

Um grupo experimental (GE) composto por 35 indivíduos em tratamento ortodôntico há pelo menos seis meses e, um grupo controle (GC) formado por pacientes sem aparelhos fixos ou próteses dentárias. Parâmetros clínicos, incluindo Índice de sangramento gengival, Profundidade à sondagem e Nível de inserção, foram avaliados, assim como a microbiota subgengival. Três anos após a avaliação inicial, novos registros foram realizados, e os resultados comparados. Os autores observaram que nos dois grupos avaliados houve redução do Índice de sangramento à sondagem, aumento na Profundidade à sondagem, e os valores obtidos para avaliar o Nível de inserção, em mm, não apresentaram modificações estatisticamente significantes. Nos pacientes submetidos ao tratamento ortodôntico, 86% dos indivíduos avaliados apresentavam sítios infectados por Aa na avaliação inicial, e, 80% na segunda avaliação, enquanto que no grupo controle foi encontrado uma frequência de 16,6% e 26,6%, respectivamente. Os resultados mostraram que o risco relativo para o aumento do Índice de sangramento à sondagem e Profundidade à sondagem, mostrou-se maior em ambos os grupos quando o Aa estava presente. Os pacientes ortodônticos positivos para Aa apresentaram risco relativo de apresentar piores condições periodontais em comparação com aqueles que na avaliação inicial não foram encontrados os microrganismos em análise.

Sallum et al. (2004) avaliaram as alterações clínicas e microbiológicas que acompanham o processo inflamatório nos tecidos periodontais ao redor dos aparelhos ortodônticos, e as alterações que ocorrem após a remoção desses. Dez pacientes com idades entre 12 e 20 anos, com sinais clínicos de inflamação gengival na fase final do tratamento ortodôntico foram selecionados para o estudo. Avaliou-se clinicamente o Índice de placa, o Índice gengival e a Profundidade à sondagem. Amostras dos biofilmes supragengival e subgengival foram coletadas dos dentes 16,

11 e 26, em dois momentos: no dia da remoção do aparelho (baseline) e trinta dias após. Para a análise microbiológica foi utilizado o método "Reação em cadeia da polimerase" (PCR) para detectar: *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, e *Prevotella nigrescens*. Uma melhora estatisticamente significativa no Índice de placa e no Índice gengival foi visto após a remoção do aparelho, bem como redução na profundidade à sondagem. No baseline, 53,33% dos sítios avaliados apresentaram Índice de placa 3; 30% Índice de placa 2; 16,67% Índice de placa 1, e nenhum sítio avaliado esteve completamente sem placa (Índice 0). Trinta dias após a remoção do aparelho, 80% dos sítios apresentaram índice de placa 0, e, 20% índice de placa 1. Em relação à avaliação do sangramento gengival, 100% dos 30 sítios clínicos avaliados apresentaram sangramento gengival no baseline, reduzindo-se consideravelmente essa prevalência 30 dias após a remoção do aparelho ortodôntico (23,33%). Nos 10 indivíduos avaliados, um total de 120 amostras de placa supragengival e placa subgengival foi obtido e analisado. Observou-se uma redução bacteriana quantitativa considerável, 30 dias após a remoção do aparelho. Em relação à placa subgengival, *T. forsythia* e *A. actinomycetemcomitans* apresentaram redução maior que 50% após a remoção do aparelho ortodôntico. No entanto, a contagem de *P. gingivalis*, *P. intermedia*, e *P. nigrescens*, mostrou-se maior. Houve melhora na saúde periodontal, em relação aos parâmetros clínicos avaliados, concomitante com a redução dos sítios *T. forsythia* e *A. actinomycetemcomitans*. Concluíram que os patógenos periodontais associados com a inflamação positivos para gengival durante o tratamento ortodôntico podem ser significativamente reduzidos pela remoção do aparelho ortodôntico e profilaxia profissional.

Naranjo et al. (2006) afirmaram que os aparelhos ortodônticos fixos podem aumentar o acúmulo de placa bacteriana, modificando a composição da microbiota subgengival e levar a uma condição de inflamação gengival e, posteriormente, à destruição dos tecidos periodontais de suporte. Compararam as alterações da microbiota subgengival e condições clínicas periodontais, antes e noventa dias após a colagem de braquetes ortodônticos. Sessenta pacientes foram selecionados e divididos em dois grupos: 1. Grupo controle (GC), com 30 pacientes que não receberam aparelho ortodôntico, e 2. Grupo experimental (GE), com 30 pacientes que receberam aparelho ortodôntico, e que foram avaliados no dia da colagem dos braquetes (Baseline), e 3 meses após. Avaliaram parâmetros clínicos de Profundidade à sondagem (PS), Nível de inserção clínica (NIC), Sangramento à sondagem (SS), Índice de placa (IP) e Índice gengival (IG), e, amostras microbiológicas foram coletadas. Os autores observaram que PS e o NIC permaneceram estatisticamente inalterados, ao passo que os valores encontrados para SS, IP e IG aumentaram no grupo experimental 90 dias após a instalação dos braquetes, quando comparado ao grupo controle e ao baseline. Além disso, comparando-se o grupo experimental 90 dias após a colagem dos braquetes, com o grupo controle e antes da instalação de aparelhos, observou-se aumento na contagem de bactérias dos complexos Vermelho e Laranja, apresentando maiores variações nas espécies *P.gingivalis* (complexo vermelho), *Fusobacterium* ssp. (laranja), *P. intermedia/P. nigrescens* (laranja). Bactérias entéricas, como *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca*, *Klebsiella pneumoniae* e *Serratia marcescens* foram encontradas no sulco subgengival dos pacientes avaliados, nos grupos controle e experimental. No baseline, o grupo experimental apresentou o maior achado (4,16%). Concluiu-se que três meses após a instalação dos aparelhos



fixos ortodônticos os Índices de placa e de sangramento gengival foram estatisticamente significantes, não houve alteração do nível de inserção clínica e da profundidade à sondagem, modificando a microbiota subgengival, com aumento quantitativo de bactérias periodontopatogênicas pertencentes aos complexos vermelho e laranja.

Ristic et al. (2007) investigaram a influência de aparelhos ortodônticos fixos sobre as mudanças quantitativas e qualitativas da microbiota subgengival e dos tecidos periodontais. Trinta e dois pacientes com idades entre 12 e 18 anos foram avaliados três semanas antes da colagem de braquetes ortodônticos e cimentação de bandas ortodônticas (T0), um mês (T1), 3 meses (T3) e 6 meses (T6) após a instalação dos aparelhos ortodônticos. A condição periodontal foi determinada segundo avaliação do Índice de placa (IP), do Índice gengival (IG), do Índice de sangramento gengival (ISG) e Profundidade à sondagem (PS). As amostras microbiológicas foram coletadas para avaliar a presença ou ausência dos anaeróbios periodontopatogênicos: *P. intermedia*, *A. actinomycetemcomitans*, e o grupo de outros anaeróbios pigmentados de negro (BAPN), como *Porphyromonas gingivalis* e *Fusobacterium nucleatum*. Todos os parâmetros clínicos periodontais mostraram valores similares, elevados três meses após a instalação de aparelhos ortodônticos, mas exibindo regressão após seis meses, exceto o Índice de sangramento gengival e profundidade à sondagem que nos incisivos e molares mostraram-se maiores no momento T6, embora as diferenças em relação ao momento T3 foram estatisticamente insignificantes. Entre os resultados obtidos na fase de investigação microbiológica, pode ser visto claramente que existe uma diferença estatisticamente significativa no número de espécies bacterianas isoladas das amostras de placa subgengival entre o início do tratamento e após a colocação de aparelho ortodôntico,

sendo observado um maior número três meses após (T3). Foi observado aumento de *P. intermedia* três meses após o início do tratamento ortodôntico, mas reduzindo no momento T6. Esses resultados mostraram-se estatisticamente semelhantes entre os dentes avaliados, sendo os incisivos os dentes com maior variação. Para as BAPN, alterações similares à *P. intermedia* foram registradas nos períodos observados, diferindo apenas no fato que os molares apresentaram, quantitativamente, maior variação. A espécie bacteriana *A. actinomycetemcomitans* (Aa), microrganismo mais associado com a periodontite juvenil, foi encontrado, dentre os 32 pacientes avaliados, em um indivíduo na fase T1, e em outro indivíduo em T3. Não foi observada a espécie Aa nos momentos T0 e T6. Concluiu-se que o uso de aparelhos fixos ortodônticos em adolescentes modifica a microbiota subgingival, aumentando o crescimento de bactérias anaeróbias e periodontopatogênicas, bem como os valores dos índices periodontais.

O tratamento ortodôntico pode melhorar a saúde periodontal em determinadas circunstâncias, mas também pode causar danos aos tecidos periodontais (BOLLEN et al., 2008). Nesse contexto, os autores realizaram uma revisão sistemática para avaliar os efeitos do tratamento ortodôntico sobre a saúde periodontal, sendo evidente uma pequena piora nos critérios clínicos, geralmente correlacionando a um quadro de inflamação gengival.

Ristic et al. (2008) investigaram a influência dos aparelhos ortodônticos nos tecidos periodontais e nas mudanças quantitativas e qualitativas da microbiota subgingival. Participaram do estudo 32 pacientes, com idades entre 12 e 18 anos. Os indivíduos foram avaliados clinicamente antes da fixação (T0) e nos intervalos 1 (T1), 3 (T2) e 6 meses (T3) após o início da terapia ortodôntica. A condição dos tecidos periodontais

foi determinada pela avaliação da Profundidade à Sondagem e Nível de Inserção Clínica nos dentes 16, 21 e 24. Foi realizada investigação microbiológica para identificar a presença ou ausência de anaeróbios periodontopatogênicos: *P. intermedia*, *A. actinomycetemcomitans* e o grupo de outros anaeróbios pigmentados de negro (BAPN), como *P. gingivalis* e *F. nucleatum*. A contagem bacteriana total mostrou alterações similares e crescentes nos três grupos de dentes, nos períodos avaliados, sendo significativamente maior na região dos incisivos três meses após a colagem dos aparelhos ortodônticos. Foi observado um maior número de pacientes com sítios positivos para colônias de *P. intermedia* no intervalo T2, reduzindo consideravelmente em T3, inclusive para índices inferiores aos encontrados antes da colocação de aparelhos ortodônticos, exceto nos incisivos. Resultados positivos para a presença de *Aa* foram observados nos incisivos em T1 e T2. A ocorrência de anaeróbios pigmentados mostrou-se similar nos registros realizados nos três grupos de dentes, atingindo valor máximo nos intervalos T0 a T2, seguido pela redução destes microrganismos na fase T3. A avaliação dos parâmetros clínicos, determinados no início da investigação expressou uma tendência estatisticamente significativa para aumentar imediatamente após o início do tratamento ortodôntico, registrando valores máximos três meses após a colagem, seguindo um decréscimo na fase T3, exceto nos molares. Os autores concluíram que, em adolescentes, o tratamento com aparelhos fixos aumenta os valores dos índices periodontais e também o crescimento de bactérias patogênicas e anaeróbias. Estas alterações clínicas e microbiológicas específicas são estritamente limitadas aos dentes com bráquetes e elas não têm um efeito destrutivo sobre os tecidos periodontais devido à sua transição e limitação durante o tempo.

A presença de aparelhos ortodônticos pode favorecer o acúmulo de placa bacteriana, afetando a composição da microbiota subgengival, aumentando, assim, a prevalência de microrganismos periodontopatogênicos. Choi et al. (2009) avaliaram as alterações que ocorrem na microbiota subgengival após a remoção dos aparelhos fixos ortodônticos. Foram estudados 30 pacientes com aparelho ortodôntico em fase de finalização (grupo experimental); e, 30 jovens sem aparelho ortodôntico e com saúde periodontal (grupo controle). Os sujeitos da pesquisa foram avaliados em dois momentos distintos: duas semanas antes da remoção dos aparelhos ortodônticos (T1); e, três meses após a conclusão do tratamento (T2). Os resultados mostraram que em T1 houve maior frequência de sítios positivos para a presença de bactérias do que no grupo controle, com redução significativa em T2, particularmente os periodontopatógenos *T. forsythia*, *C. rectus* e *E. corrodens*. Não houve diferença estatisticamente significativa na frequência das espécies investigadas entre T2 e o grupo controle. Em 19,8% dos sítios avaliados, bactérias presentes em T1 não foram identificadas após a remoção do aparelho ortodôntico. Além disso, observaram, de forma indesejada a presença de bactérias em T2 que não estavam em T1, em 11,0% dos sítios avaliados; e que em 7,6% dos sítios avaliados, houve manutenção dos periodontopatógenos detectados em T1 após a remoção dos aparelhos ortodônticos.

Van Gastel et al. (2009) compararam *in vitro* a adesão bacteriana em diferentes tipos de braquetes ortodônticos nas mesmas condições em que são utilizados clinicamente. A quantidade de colônias de bactérias anaeróbias e aeróbias foi verificada em sete marcas comerciais de braquetes: A) Damon 3, braquete metálico autoligado; B) Clarity, braquete cerâmico com ligadura elastomérica; C) Mystique, braquete cerâmico com ligadura elastomérica; D) Speed, braquete metálico

autoligado; E) Victory; F) Micro-Loc; G) Genexus; sendo esses três últimos, braquetes metálicos com ligadura elastomérica. Os resultados mostraram maior adesão e contagem bacteriana nos braquetes A, B e C se comparados aos tipos E, F e G, mostrando o grupo D contagem intermediária. Foi possível observar que os braquetes cerâmicos avaliados apresentaram maior contagem bacteriana em relação aos braquetes metálicos, e, no estudo não foi encontrado maior adesão bacteriana em braquetes que utilizam ligadura elastomérica. Concluíram assim que, in vitro, há diferença entre adesão e colonização microbiana entre diferentes tipos de braquetes ortodônticos.

Thornberg et al. (2009) descreveram a distribuição de oito patógenos periodontais em crianças e adolescentes durante e após o tratamento ortodôntico: *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Aa), *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Prevotella intermedia* (Pi), *Tannerella forsythia* (Tf), *Eikenella corrodens* (Ec), *Fusobacterium nucleatum* (Fn), *Treponema denticola* (Td) e *Campylobacter rectus* (Cr). Cento e noventa pacientes foram avaliados em períodos determinados: T1. Antes do início do tratamento; T2. Seis meses após a colagem dos braquetes ortodônticos; T3. Um ano após; T4. Mais de 12 meses após; e, T5. Três meses posteriormente à remoção de todo aparelho fixo. Os exames microbiológicos mostraram que em T2, a frequência de 06 dos 08 patógenos analisados (Pi, Tf, Ec, Fn, Td, Cr) aumentou significativamente, retornando aos valores iniciais após doze meses de tratamento ortodôntico. Em T3, T4 e T5, os níveis de Aa reduziram-se a níveis insignificantes. Em T4 e T5, a contagem de Pg, Ec, Fn, Td, reduziu-se acentuadamente. Os autores concluíram que o tratamento com aparelhos fixos ortodônticos induz alterações no nível de patógenos periodontais, durante e após o tratamento, sem elevar o risco para a presença de bactérias patogênicas, sendo necessário investigar quais fatores

seriam responsáveis pelo efeito protetor observado para a presença de algumas bactérias.

Kim et al. (2010) compararam os parâmetros clínicos e a microbiota subgengival em 33 adolescentes, com idade entre 12 e 18 anos, submetidos a tratamento com aparelho ortodôntico fixo, analisando e comparando dentes tratados com bandas ortodônticas na margem gengival ou subgengival, com aqueles tratados com braquetes supragengivais. Os resultados revelaram que a Profundidade à sondagem é significativamente maior quando as bandas são colocadas subgengivalmente em relação àquelas na margem gengival ou quando existem apenas braquetes colados, ao passo que não há diferença na Profundidade à sondagem de dentes com bandas na margem gengival e braquetes supragengivais. Em relação ao Sangramento à sondagem, este foi maior estatisticamente quando existem bandas quando comparado aos sítios com braquetes colados. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos avaliados em relação ao Índice de placa. Algumas espécies bacterianas, como *Actinomyces israelii* e *Actinomyces naeslundii* apresentaram níveis mais altos em sítios com braquetes, enquanto outras, como *Neisseria mucosa*, tinham níveis mais elevados nos locais tratados com bandas. O microrganismo *A.actinomycesetemcomitans* foi encontrado em 25% dos sítios independente do aparelho. Os autores concluíram que um maior Sangramento à sondagem e bolsas mais profundas foram encontradas quando utilizados bandas ortodônticas, e pequenas diferenças na microbiota subgengival foram encontradas com a utilização de diferentes acessórios ortodônticos, bandas ou braquetes.

Moreira (2010) avaliou as alterações microbiológicas nas superfícies dentárias, ao redor dos braquetes em 18 adolescentes, antes e sessenta dias após o início do

tratamento ortodôntico. As amostras supragengivais coletadas foram analisadas utilizando-se a técnica checkerboard DNA-DNA hybridization, que viabilizou a detecção simultânea de quarenta espécies bacterianas, sendo três cariogênicas e 37 periodontopatogênicas. Os resultados mostraram que houve aumento estatisticamente significativo nas médias das contagens e proporções das bactérias periodontopatogênicas *C. gingivalis*, *C. showae*, *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *P. gingivalis*, *E. saburreum*, *P. melaninogenica* e *S. noxia*. Entretanto, não foram encontradas diferenças significativas na contagem e proporção das bactérias cariogênicas. Desta forma, é relevante considerar o risco aos quais as estruturas dentais estão expostas durante o tratamento ortodôntico.

Em 2011, Liu et al. relataram que os aparelhos fixos ortodônticos podem dificultar uma adequada higienização, resultando no acúmulo de placa dentária e inflamação gengival, com alterações na microbiota oral, sendo a bactéria gram-negativa *P. gingivalis* um dos patógenos periodontais da placa subgengival relacionados com o surgimento e progressão das doenças periodontais. Os autores examinaram as mudanças que ocorrem na saúde periodontal de indivíduos jovens durante o tratamento ortodôntico, quantificando a variação de *P. gingivalis*. Os sujeitos da pesquisa foram avaliados de acordo com a presença de aparelho ortodôntico e inflamação gengival. Foi realizada avaliação periodontal segundo parâmetros clínicos de Índice de placa, Índice gengival, Profundidade à sondagem, e avaliação da microbiota subgengival, por meio da técnica PCR. Comparando-se os dois grupos analisados, foi observado que o Índice de Placa, o Índice gengival e a Profundidade à Sondagem mostraram-se menores ao início do tratamento ortodôntico. Após três meses de colocação dos aparelhos fixos, os parâmetros clínicos periodontais aumentaram, não retornando aos valores iniciais, mesmo seis

meses após a remoção do aparelho. Os autores observaram que a quantidade de *P. gingivalis* aumentou em valores estatisticamente significantes durante o tratamento ortodôntico, reduzindo-se acentuadamente seis meses após a remoção do aparelho fixo. Concluiu-se que os aparelhos fixos ortodônticos modificam a saúde clínica periodontal, alterando parâmetros clínicos como índice de placa e índice gengival, que, embora reduzam, não retornam aos valores antes à colocação dos braquetes ortodônticos, assim como a concentração da bactéria *P. gingivalis* da placa subgengival.

Topaloglu-ak et al. (2011) investigaram o efeito de aparelhos fixos e removíveis na contagem de *S. mutans*, *Lactobacillus sp* e presença de *C. albicans* na saliva de crianças durante os seis primeiros meses de tratamento ortodôntico. Observaram um aumento estatisticamente significativo na contagem de *S. mutans* e *Lactobacilli sp.*, sem diferença entre as contagens bacteriológicas de indivíduos com aparelhos removíveis e aparelhos fixos em qualquer período de avaliação. O número de sujeitos com presença de *C. albicans* na saliva foi maior no grupo com aparelho ortodôntico fixo. Três meses após o início do tratamento ortodôntico foi registrado um aumento significativo do número de indivíduos com *C. albicans* na saliva, reduzindo-se a valores praticamente insignificantes seis meses após a colocação de aparelhos fixos. Concluiu-se assim, que a utilização de aparelhos ortodônticos fixos e removíveis tem um efeito negativo na microbiota bucal, potencializando a colonização bucal por bactérias cariogênicas e fungos.

Van Gastel et al. (2011) investigaram as alterações microbiológicas e clínicas periodontais após a instalação de aparelhos ortodônticos, determinando se após o término do tratamento ocorre a normalização desses parâmetros. Vinte e quatro



pacientes foram avaliados: 14 recebendo bandas ortodônticas nos primeiros molares superiores e braquetes nos outros dentes; e 10 indivíduos tratados apenas com braquetes ortodônticos e tubos colados nos molares. Os indivíduos foram avaliados nos intervalos: da colocação do aparelho ortodôntico (T1); da remoção do aparelho ortodôntico (T2) e três meses após a remoção do aparelho ortodôntico (T3). Amostras da placa supragengival, volume do fluido do sulco gengival e placa subgengival foram coletados nas regiões proximais méso-vestibular e disto-vestibular dos dentes 14 e 16. Fotografias digitais coloridas foram realizadas para avaliar o acúmulo de placa dental. A Profundidade à sondagem e Sangramento à sondagem foram os parâmetros clínicos utilizados para análise da saúde periodontal. Os resultados mostraram que na placa subgengival, a proporção entre anaeróbios e aeróbios diminuiu entre T1 e T2 para ambos o grupos. Entre T2 e T3, houve um aumento, mas sem diferença estatisticamente significativa. A frequência de *P. intermedia* na placa supra-gengival aumentou de T1 para T2 nos sítios que receberam bandas ortodônticas, reduzindo para valores normais de T2 para T3, sem diferença significativa entre T3 e T1. Na avaliação da frequência de *P. intermedia* na placa subgengival, não houve alterações significantes ao longo do tempo. O fluido crevicular gengival apresentou menor volume em T1, aumentando consideravelmente em T2, e, reduzindo em T3, mas não em valores semelhantes ao início do tratamento, independentemente se havia banda ortodôntica ou não. A Profundidade à sondagem e o Sangramento à sondagem mostraram aumento significativo entre T1 e T2, reduzindo-se em T3, ainda que apresentando valores maiores que em T1. Concluiu-se que a colocação de aparelhos ortodônticos fixos tem um impacto sobre os parâmetros microbiológicos e clínicos periodontais. A razão de bactérias aeróbias e anaeróbias na placa supragengival normalizou após

três meses de remoção do aparelho, possivelmente porque estes sítios são mais sensíveis às mudanças na higiene bucal. Essa mesma proporção na placa subgengival três meses após a remoção do aparelho ortodôntico (T3) apresentou-se significativamente menor em comparação com T1, indicando que as alterações induzidas pelo tratamento ortodôntico não são completamente irreversíveis. Os valores clínicos periodontais tendem a normalizar, embora a maioria dos valores permanecesse elevada em comparação com T1.

Kim et al. (2012) realizaram um estudo longitudinal para avaliar as alterações que ocorrem na microbiota subgengival durante a fase de alinhamento e nivelamento dentário do tratamento ortodôntico. Amostras de placa subgengival foram coletadas em 04 sítios em 30 pacientes jovens em 04 diferentes momentos: T1. Imediatamente antes da colagem do aparelho ortodôntico (baseline); T2. 1 semana após; T3. 3 meses; T4. Seis meses ao início do tratamento ortodôntico. O estudo mostrou que a frequência de sítios positivos de bactérias periodontopatogênicas, classificadas nos grupos laranja e vermelho, aumentou significativamente e de forma progressiva após a colocação de aparelhos ortodônticos. Além disso, houve uma tendência a microrganismos não existentes em T1, se desenvolverem.

Andrucioli et al. (2012) observaram que o tratamento ortodôntico com aparelhos fixos promovem alterações na ambiente bucal, aumentando o acúmulo de placa, e número de microrganismos cariogênicos e de periodontopatógenos. Pesquisaram a microbiota *in vivo* em braquetes metálicos ortodônticos em dezoito pacientes, com idades entre 11 e 29 anos de idade, em tratamento ortodôntico. Trinta dias após o início do tratamento, braquetes de pré-molares foram removidos e processados para análise da microbiota presente pela técnica checkerboard DNA-DNA hybridization.

Quarenta espécies microbianas (microrganismos cariogênicos, bactérias dos complexos Roxo, Amarelo, Verde, Laranja, Vermelho + *Treponema socranskii*, e o conjunto de *Actinomyces*) foram avaliadas. Entre os microrganismos cariogênicos, *Streptococcus mutans* e *Streptococcus sobrinus* foram encontrados em maior número do que *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus casei*. Em relação às bactérias periodontais, *V. parula*, um microrganismo do complexo Roxo, foi encontrado em maior número em relação aos outros complexos associados a patologias não específicas. Os números de bactérias dos complexos Amarelo, Verde e do grupo de *Actinomyces ssp.* apresentaram-se semelhantes. No estudo, as bactérias do complexo Laranja, que juntamente com as bactérias do complexo Vermelho representam os microrganismos envolvidos no desenvolvimento da doença periodontal, e são diretamente associadas com a gengivite comumente observada durante o tratamento ortodôntico, apresentaram maior prevalência, representando 40% do total da contagem bacteriana. Concluiu-se que, em um mês, a diversidade microbiológica nos braquetes metálicos é grande, incluindo microrganismos presentes em estágios mais avançados da colonização da placa, como o complexo Laranja.

Em alguns pacientes sistemicamente saudáveis, é observado a rápida perda de inserção e intensa destruição óssea; clinicamente, a quantidade de placa dental não é compatível com o grau de destruição observado, mas, diretamente proporcional à presença elevada de *A. actinomycetemcomitans* (Aa). Frente a isso, Nelso-Filho et al. (2012) realizaram um estudo piloto, *in vivo*, para avaliar a contaminação de braquetes metálicos por esse patógeno e a eficácia de controle da espécie Aa. com o uso de bochechos com clorexidina a 0,12%. Trinta e cinco pacientes com aparelho ortodôntico e idade entre 14 e 22 anos foram selecionados, e a amostra total dividida

em dois grupos: experimental (n= 17), que recebeu clorexidina a 0,12% para bochechos; controle (n=18), no qual uma solução placebo foi utilizada. Os bochechos foram prescritos duas vezes por semana durante 30 dias. Clinicamente, o índice de placa foi avaliado antes (baseline) e após o período de utilização das soluções para bochecho. Após esse período, os braquetes foram removidos e colocados em tubos tipo Eppendorf, e a suspensão bacteriana presente submetido à análise microbiológica pela técnica checkerboard DNA-DNA hybridization. Os resultados mostraram que todos os pacientes tiveram níveis de placa dental semelhantes no baseline; após o uso enxaguante bucal com clorexidina, o grupo experimental apresentou menor acúmulo de placa em comparação ao grupo controle. Em termos de prevalência, *A. actinomycetemcomitans* foi detectada em 100% dos braquetes no grupo controle e em 82,3% no grupo experimental. Além disso, foi observado que 40% dos braquetes no grupo controle apresentaram níveis considerados muito altos ( $5 \times 10^5$ ) de *Aa*, versus menos de 10% no grupo experimental. Os autores concluíram que os níveis totais da espécie *Aa* foram significativamente menores nos indivíduos que realizaram bochechos semanais com clorexidina a 0,12%.

Torlakovic et al. (2013) realizaram um estudo para determinar as alterações microbiológicas da placa supragengival nos cinco primeiros meses após a colocação de aparelhos fixos e mostrar como parâmetros clínicos estão relacionados com essas mudanças. Vinte pacientes com idades entre 10 e 16 anos, foram avaliados. Fotografias padronizadas foram feitas para comparar visualmente a evolução da condição clínica gengival utilizando o Índice de placa. Durante o período de observação, nenhum paciente desenvolveu lesão de mancha branca. Após a colocação de braquetes ortodônticos, a porcentagem de pacientes que

apresentaram elevado Índice de placa, aumentou em 20%. Antes da colagem dos aparelhos ortodônticos, 25% dos pacientes apresentavam gengivite ao redor dos incisivos centrais superiores. Após cinco meses de tratamento ortodôntico, 74% dos pacientes mostraram inflamação gengival; 20% apresentando gengivite severa, quadro que não foi observado, inicialmente, em nenhum paciente. Não foram observadas alterações significativas da microbiota durante o período de cinco meses. No entanto, os resultados da análise microbiológica mostraram uma tendência para o aumento de bactérias cariogênicas e associadas à doença periodontal, como *Tannerella forsythia*, *Campylobacter concisus* e *C. rectus*. Observou-se uma correlação positiva para a presença de bactérias associadas com a periodontite, como a *P. gingivalis*, *F. nucleatum*, *C. concisus* e *C. retus*, e o acúmulo de placa supragengival e inflamação tecidual ao redor dos dentes avaliados. Concluiu-se que a colagem de braquetes ortodônticos causa um aumento nos níveis de placa, mudança na composição da microbiota da placa supragengival, agravando o quadro de inflamação gengival.

Investigações clínicas têm demonstrado a presença de inflamação gengival associada a tratamento ortodôntico. Mártha et al. (2013) realizaram um estudo histológico e imunohistoquímico sobre o tipo e extensão da inflamação gengival em diferentes períodos do tratamento ortodôntico. Foram analisados espécimes gengivais de 2mm de largura, da papila interdental da região de segundo pré-molares e primeiros molares, em 11 pacientes. Os tecidos foram preparados para análise histológica e corados com eosina-hematoxilina. Os resultados mostraram a existência de inflamação gengival durante o tratamento ortodôntico, sendo encontradas alterações inflamatórias hiperplásicas crônicas de severidade leve a moderada. Após a remoção do aparelho ortodôntico, o tecido gengival voltou à sua

condição normal, permanecendo poucos, embora ainda presentes, sinais inflamatórios.

Ghijsselings et al. (2014), em continuidade ao estudo desenvolvido por Van Gastel et al. em 2011, avaliaram as modificações microbiológicas e periodontais que ocorrem com a colocação com a colocação de bandas e braquetes, e, determinaram se esses parâmetros se normalizaram ou não dois anos após o término do tratamento ortodôntico. Observaram que não houve diferença estatisticamente significativa na patogenicidade da placa supragengival do início do tratamento ortodôntico (baseline), e dois anos após a sua remoção. A relação subgengival entre bactérias aeróbias e anaeróbias mostrou-se nitidamente inferior após dois anos quando comparado ao baseline. O volume do Fluido do Sulco Gengival, o Índice de Sangramento à Sondagem, e a Profundidade à Sondagem apresentaram valores estatisticamente semelhantes entre o baseline e dois anos após a remoção dos aparelhos ortodônticos, exceto a profundidade à sondagem nos molares que receberam bandas ortodônticas que foram maiores. Concluiu-se que, as alterações clínicas e microbiológicas associadas à colocação de aparelhos fixos ortodônticos tendem a retornar, parcialmente, aos valores observados antes do início do tratamento.

Segundo Liu et al. (2014), os aparelhos ortodônticos dificultam a manutenção de uma higienização satisfatória podendo acelerar o acúmulo de placa bacteriana e afetar a composição da microbiota subgengival, aumentando a prevalência de periodontopatógenos. A bactéria *Fusobacterium nucleatum* está envolvida no processo de inflamação gengival em pacientes ortodônticos, sendo a adesina fadA um importante fator relacionado com a adesão bacteriana. Avaliaram a prevalência

de *F. nucleatum* e o fator de virulência da adesina fadA no biofilme subgingival em 55 pacientes em tratamento ortodôntico com gengivite (grupo GO), em 49 indivíduos com gengivite e não estavam com aparelho fixo (grupo NOG), em 35 casos de pacientes com periodontite (grupo PG) e, em 30 sujeitos periodontalmente saudáveis (grupo GC). Os resultados da análise microbiológica pela técnica PCR mostraram que *F.nucleatum* foi encontrada em 69,09% dos pacientes com aparelho ortodôntico e gengivite, em 46,67% dos pacientes periodontalmente saudáveis, em 83,67% dos indivíduos com inflamação gengival e que não estavam em tratamento ortodôntico, e, em 82,86% dos pacientes com doença periodontal. Em todos pacientes avaliados, 59,79% apresentaram resultado positivo para a presença de adesina fadA, sendo mais frequente no grupo de pacientes com doença periodontal. Foi observado uma correlação positiva entre a Índice gengival e a presença da fadA. Concluiu-se que a presença de adesina fadA é um indicador de inflamação gengival, sendo a bactéria *F.nucleatum* mais prevalente nos casos com doença periodontal. Entretanto, o uso de aparelhos ortodônticos não é determinante para aumentar a prevalência de microrganismos periodontopagênicos.

A presença de bandas e braquetes ortodônticos é considerada o principal fator responsável pelo acúmulo de placa, podendo aumentar a presença de bactérias e inflamação gengival. Com o objetivo de comparar as mudanças na microbiota subgingival e os parâmetros periodontais, antes e após a colocação de aparelhos ortodônticos, Sargolzaie et al. (2014) realizaram um estudo com trinta pacientes com idades entre 13 e 25 anos. Os indivíduos foram divididos em dois grupos para avaliação: Grupo Controle (GC), formado por 15 pacientes que não usavam aparelho ortodôntico e sem indicação para corrigir maloclusões dentárias; e Grupo Experimental (GE), composto por 15 indivíduos, que seria avaliado antes e três

meses após a colocação de aparelho ortodôntico. Registrou-se a Profundidade à Sondagem (PS), o Índice de Placa (IP), o Nível de Inserção clínica (NIC), o Sangramento à sondagem (SS) e, o Índice Gengival (IG) para avaliação da condição clínica periodontal. Não foram encontradas modificações significantes na profundidade à sondagem e no nível de inserção clínica. No entanto, os resultados mostraram que três meses após o início do tratamento ortodôntico os valores referentes ao sangramento à sondagem, índice de placa e índice gengival aumentaram significativamente no Grupo Experimental. Em relação à microbiota avaliada, a contagem de *Prevotella intermedia* aumentou no GE três meses após a colocação de braquetes ortodônticos, o que não foi observado com *A. actinomycetemcomitans* e *T. forsythia*. Assim, pode-se concluir que o tratamento ortodôntico pode transitoriamente aumentar o crescimento de bactérias periodontopatogênicas, e, resultar num quadro de resposta inflamatória, sem causar efeitos destrutivos profundos nos tecidos periodontais.

Uzuner et al. (2014) avaliaram a influência do uso de aparelhos ortodônticos autoligados, e aparelhos convencionais utilizando ligaduras elastoméricas na colonização de *S. mutans* e *Lactobacillus sp.* na saliva, na placa e na condição da saúde periodontal de 40 pacientes. Os registros periodontais e microbiológicos foram obtidos antes da colagem nos arcos superior e inferior (T1) e um mês após a colagem (T2). Foi observado que após a colocação dos aparelhos ortodônticos os parâmetros periodontais avaliados aumentaram, indicando um quadro de inflamação gengival. No entanto, não houve entre os grupos avaliados mudanças estatisticamente significantes entre a prevalência das bactérias cariogênicas avaliadas antes, e quatro semanas após a colagem de braquetes ortodônticos, independentemente do tipo de aparelho usado para o tratamento. Os resultados do



estudo sugerem que o tipo de braquete utilizado parece não interferir na colonização bacteriana dos aparelhos ortodônticos.

Al-Anezi (2015) investigou as condições clínicas periodontais em pacientes que utilizaram tubos colados e bandas ortodônticas nos primeiros três meses de tratamento ortodôntico. O argumento que motivou sua pesquisa foi que os tubos colados aos dentes previnem ou minimizam as mudanças nos tecidos periodontais se comparados às bandas ortodônticas. Assim, em 24 pacientes foram avaliados Sangramento à Sondagem (SS) e Profundidade à Sondagem (PS), no início do tratamento (T0) e três meses após (T3). O estudo mostrou que houve um aumento significativo de SS entre T0 e T3 no grupo que recebeu as bandas e nos valores de PS para o grupo com bandas, concluindo-se que bandas ortodônticas estão associadas a maiores valores de SS e PS comparados aos tubos colados em fase inicial do tratamento ortodôntico.

Para Yáñez-Vico et al. (2015) aparelhos fixos ortodônticos colados às superfícies dentárias dificultam uma higienização adequada. A composição da microbiota subgingival pode ser afetada, levando à colonização por microrganismos associados com inflamação e destruição periodontal. Avaliaram 122 pacientes divididos em dois grupos: 1. Grupo experimental, composto por 61 indivíduos avaliados dez dias antes à remoção do aparelho fixo (T1), e dez dias após a remoção da aparatologia ortodôntica (T2); 2. Grupo controle, com adultos jovens que nunca usaram aparelho ortodôntico. Clinicamente, foram avaliados Índice de placa visível e Índice de sangramento gengival. Amostras da placa subgingival foram coletadas e as espécies *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia* e *T. denticola* foram analisadas pela técnica PCR. Os resultados mostraram

uma redução significativa nos valores clínicos de Índice de Placa Visível e Índice de Sangramento Gengival após a remoção do aparelho ortodôntico, comparando, inclusive com o grupo controle. Indicaram ainda a diminuição da prevalência de *T. denticola* entre o baseline e 10 dias após a remoção, e uma correlação positiva entre o Índice de sangramento à sondagem e a prevalência de *A. actinomycetemcomitans* e de *P. intermedia*, associando com inflamação gengival. Foi também observada outra correlação positiva entre o Índice de placa e *T. forsythia* no Grupo controle e em T2. Assim, a colocação de aparelho ortodôntico pode alterar o microbioma subgengival levando ao aumento do quadro inflamatório, com a presença de sangramento gengival.

Para confirmar o efeito dos aparelhos ortodônticos nos tecidos periodontais e nas alterações ecológicas bucais, Guo et al. (2016) conduziram um estudo para detectar e interpretar as condições encontradas, e quais seriam as diferenças em indivíduos adultos e crianças. Critérios clínicos de saúde periodontal e microbiota subgengival de 46 adultos, e 62 crianças foram avaliados em 3 momentos diferentes: no dia da colocação do aparelho fixo ortodôntico (baseline), um mês e três meses após o início do tratamento. Os resultados para os indicadores microbiológicos mostraram que as taxas de detecção para *P. gingivalis*, *F. nucleatum*, *P. intermedia*, *T. forsythia* aumentaram desde o baseline até um mês e três após o início do tratamento, apresentando uma tendência maior de crescimento nas crianças, enquanto nos adultos mostrou-se mais estável. Clinicamente, o Índice de placa aumentou gradualmente, sendo significativamente maior nas crianças no baseline. Além disso, o Índice de sangramento marginal mostrou um aumento significativo após a colocação do aparelho ortodôntico, não sendo observada diferença entre os grupos analisados. Embora tenha sido observado aumento na Profundidade à

Sondagem um mês após o início do tratamento, e nos adultos significativamente maiores que nas crianças no baseline, esse índice permaneceu dentro da normalidade durante todo o período de observação, bem como os níveis de Inserção clínica.

A maioria dos patógenos periodontais relacionados com a inflamação gengival e destruição periodontal aumentam consideravelmente após a colocação de braquetes ortodônticos. Buscando analisar a influência do uso de aparelhos fixos ortodônticos nos níveis salivares de *Aa*, *F. nucleatum*, *P. intermedia*, *P. gingivalis* e *Tannerella forsythia* em pacientes adultos, Kim et al. (2016) avaliaram 54 indivíduos em 04 momentos: T1. Imediatamente após a remoção do aparelho ortodôntico, que representaria a condição periodontal e microbiológica durante o tratamento; T2. Uma semana após a remoção; T3. Cinco semanas após T1; T4. Treze semanas após a remoção do aparelho ortodôntico. Os resultados mostraram que houve uma diminuição significativa no nível total de bactérias, *P. intermedia*, *P. gingivalis*, *T. forsythia*, e nos parâmetros clínicos periodontais (Índice de Placa, Índice de Higiene Oral simplificado e Índice gengival) após a remoção do aparelho ortodôntico. Além disso, *Aa* e *F. nucleatum* estavam presentes em níveis mais altos que os outros microrganismos em todos os momentos analisados, não sendo detectadas alterações significativas na frequência. Os autores concluíram que a remoção de aparelhos ortodônticos induziu a reduções significativas nos níveis totais bacterianos associado a uma melhoria na higienização bucal, embora os níveis salivares de *Aa* e *F. nucleatum* permanecessem inalterados 3 meses após o término do tratamento, sugerindo que o risco de problemas periodontais não pode ser completamente eliminado pela remoção do aparelho fixo.

Pan et al. (2017) reconheceram que microrganismos anaeróbios da placa subgengival são fatores-chave para o início e progressão da gengivite e periodontite. Buscando compreender a composição e alterações da microbiota subgengival durante o tratamento ortodôntico afim de evitar danos potencialmente irreversíveis, avaliaram quantitativamente *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia* e o número total de bactérias por meio da técnica PCR, e critérios clínicos periodontais em diferentes momentos após o tratamento ortodôntico. Dois grupos foram analisados: 1. Grupo caso, composto por 20 pacientes com aparelho ortodôntico fixo, avaliados em 3 momentos diferentes (T0- Previamente à remoção do aparelho; T1 - um mês após e, T2- três meses após); 2. Grupo controle, com 19 indivíduos periodontalmente saudáveis que nunca realizaram tratamento ortodôntico. Em ambos os grupos foram avaliados: Índice gengival, Profundidade à sondagem e Índice de sangramento à sondagem. Os resultados mostraram que no grupo caso, não houve diferença estatisticamente significativa na prevalência de *Aa*, nos três momentos e comparativamente ao grupo controle. Houve acentuada redução na prevalência de *P. intermedia* no decorrer dos momentos avaliados, apresentando diferença entre os dois grupos avaliados (94,73% nos grupo caso e 31,58% no grupo controle). No momento inicial do tratamento ortodôntico, a frequência de *P.gingivalis* foi de 94,73%, sem diferença estatística com o grupo controle; reduzindo a 73,68% três meses após a primeira avaliação. Ao avaliar os parâmetros clínicos periodontais, verificou-se que três meses após o início do tratamento, não havia diferença significativa entre os valores observados no grupo controle e no caso para o Sangramento à sondagem e o Índice gengival. No entanto, a Profundidade à sondagem ainda encontrava-se mais elevada que no grupo controle.

Em uma revisão sistemática da literatura e meta-análise, Guo et al. (2017) analisaram trabalhos que investigaram as alterações e a composição da microbiota subgengival em diferentes momentos do tratamento ortodôntico em pacientes com braquetes metálicos. Após a seleção inicial de 214 artigos nas bases de dados Cochrane Library, Pubmed e Embase, 13 estudos foram analisados. Quatro periodontopatógenos foram avaliados: *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia* e *T. forsythia*. De acordo com essa revisão, as alterações da microbiota podem ser transitórias durante o tratamento ortodôntico; há um aumento significativo na frequência de patógenos associados a o desenvolvimento e progressão da gengivite e periodontite, retornando meses depois a níveis de normalidade.

## 4 MATERIAIS E MÉTODOS

### 4.1 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS E DELINEAMENTO DO ESTUDO

O estudo realizado foi do tipo analítico longitudinal prospectivo, conduzido em concordância com as normas e diretrizes da pesquisa envolvendo seres humanos, (Resolução n.º 466, aprovada em 12 de dezembro de 2012 pelo Conselho Nacional de Saúde), aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências em Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo (Parecer nº 2.186.305), de acordo com o ANEXO A. Todos os pacientes e responsáveis receberam esclarecimentos sobre os objetivos e metodologia da pesquisa. Somente foram incluídos no estudo aqueles que concordaram em participar voluntariamente do estudo, após autorização em Termo de Consentimento livre e esclarecido (ANEXO B).

### 4.2 AMOSTRA

As normas e políticas de saúde do Ministério da Saúde do Brasil utilizam os critérios de classificação das faixas etárias segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS). De acordo com a OMS, adolescente é o indivíduo com idade de 10 a 19 anos (WHO, 1986). Os pacientes avaliados foram adolescentes em fase de finalização ortodôntica selecionados por amostragem não-probabilística por conveniência da pesquisadora em uma clínica odontológica particular localizada no município de Cariacica/ES, de acordo com os critérios de inclusão e exclusão, após anamnese (APÊNDICE).

Para a determinação do número de amostras (n) adequado ao experimento proposto foi adotado o procedimento de calibração do poder do teste. Inserindo todos esses parâmetros no software *G-power*, chegou-se ao número de 19 amostras totais para

salvaguardar a pesquisadora (caso algum teste dê não-significativo) e garantir que a mesma pudesse afirmar com segurança a não existência de um efeito para publicação. Levando-se em consideração a possível desistência e/ou opção por não participar da pesquisa, e, para poder atingir o "n" mínimo determinado estatisticamente, 23 pacientes adolescentes com dentição permanente, após anamnese, entendimento e concordância com a pesquisa, foram selecionados e avaliados.

A idade média dos participantes avaliados na pesquisa foi  $16 \pm 2,5$  anos.

#### 4.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Para a inclusão no estudo, a seleção dos participantes respeitou os seguintes critérios:

- a) Concordância em participar da pesquisa após entendimento e assinatura do paciente ou responsável do Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE);
- b) Idade de 10 a 19 anos de idade;
- c) Indivíduos em fase de finalização ortodôntica, ou seja, após o refinamento do caso, quando os dentes já se aproximam de suas posições finais;
- d) Indivíduos classificados como periodontalmente saudáveis no início do tratamento ortodôntico, avaliados por uma especialista em Periodontia. Entende-se por saúde clínica em Periodontia um periodonto íntegro com sangramento à sondagem em menos de 10% dos sítios e sem perda óssea radiográfica, sem perda de inserção, profundidade à sondagem de até 3mm (LANG; BARTHOLD, 2018).

- e) Pacientes em tratamento ortodôntico com duração menor que 24 meses, sem exodontias;
- f) Presença de tubos ortodônticos simples colados aos primeiros molares permanentes, e braquetes ortodônticos metálicos convencionais colados aos incisivos, caninos e pré-molares.

Todos os pacientes seguiram o mesmo protocolo de colagem do aparelho ortodôntico fixo: 1. Profilaxia dentária com pedra-pomes; 2. Condicionamento dentário da superfície do esmalte com ácido fosfórico a 37%; 3. Utilização do sistema adesivo Adapter Single Bond 2 (3M do Brasil); 4. Colagem dos braquetes e tubos ortodônticos metálicos prescrição MBT (3M do Brasil) com resina Filtek Z250 (3M do Brasil); 5. Utilização de ligaduras elastoméricas (Morelli Ortodontia, Sorocaba-SP, Brasil).

Os pacientes foram atendidos pela mesma profissional e receberam orientações de higienização padronizadas durante o tratamento ortodôntico. Após a remoção do aparelho ortodôntico, todos os pacientes receberam contenção ortodôntica maxilar do tipo Arco Vestibular contínuo removível e contenção fixa inferior reta à lingual dos dentes ântero-inferiores. Entre T1 e T2 não foram realizados procedimentos terapêuticos periodontais.

#### 4.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Os critérios de exclusão foram os seguintes:

- a) História de antibioticoterapia nos três meses anteriores às avaliações;
- b) História de doença sistêmica que comprometesse a resposta do hospedeiro ou exigisse medicação profilática ao tratamento;



- c) História de uso de enxaguatórios bucais nos três meses anteriores às avaliações;
- d) Gestantes ou lactantes;
- e) Tabagistas;
- f) Pacientes que apresentassem bandas ortodônticas cimentadas aos primeiros molares permanentes.

#### 4.5 AVALIAÇÃO CLÍNICA

Para análise dos parâmetros clínicos periodontais e da microbiota subgengival, foram escolhidos os dentes 16, 11, 26, 36, 31, 46, considerados dentes-índice de acordo com o Índice Periodontal Comunitário, preconizado pela OMS para avaliar a condição periodontal de populações em pesquisas epidemiológicas para indivíduos abaixo de 20 anos de idade (WHO, 1997).

As avaliações clínicas e as coletas das amostras microbiológicas foram realizadas pela mesma examinadora, previamente calibrada com um especialista em Periodontia através de teste duplo-cego, em dois momentos diferentes:

1. No dia da remoção do aparelho ortodôntico (T1), que representaria a condição microbiológica durante o tratamento (KIM et al., 2016), já sem a presença de movimentação dentária induzida;
2. Seis meses após o término do tratamento ortodôntico (T2).

##### **4.5.1 Calibração periodontal**

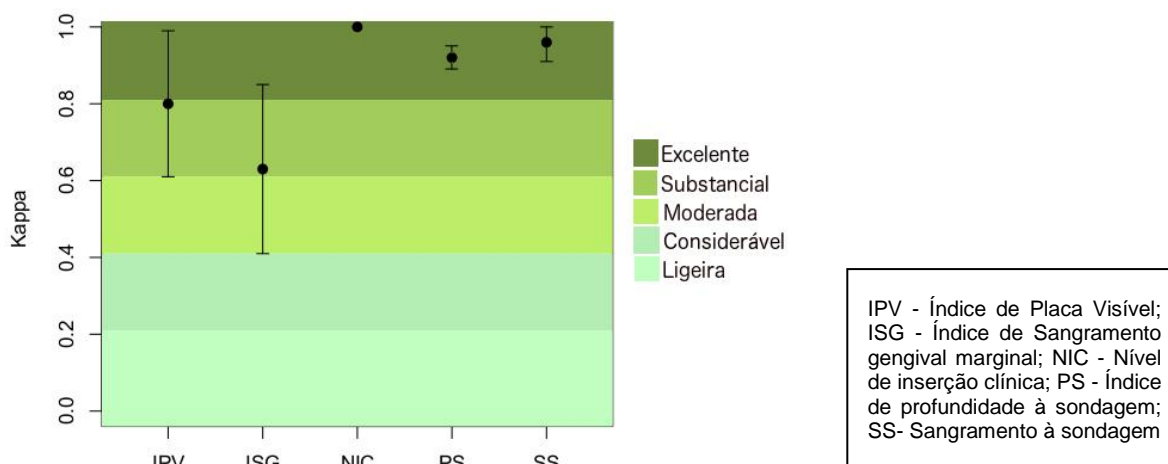
A padronização de critérios diagnósticos para estudos em saúde bucal foi proposta pela OMS (1991) como pré-requisito para avaliar a confiabilidade dos dados coletados (FRIAS; ANTUNES, NARVAL, 2004). Objetivando-se reduzir os desvios

nos critérios e procedimentos de avaliação, antes da coleta dos dados, os examinadores devem participar de um exercício de calibração para assegurar a interpretação, compreensão e aplicação uniforme dos critérios a serem analisados e registrados (WHO, 1997).

Embora não haja consenso na literatura sobre qual o valor mínimo de concordância considerado adequado, a maioria dos autores reconhece o valor de kappa de 0,60 como o valor mínimo aceitável (MS, 2001).

Parâmetros clínicos periodontais (Índice de Placa Visível, Índice de sangramento gengival, Índice de profundidade à sondagem, Sangramento à sondagem e Nível de Inserção clínica) de 138 amostras (sítios) foram avaliados em dois momentos diferentes pela pesquisadora principal e um especialista e doutor em Periodontia. As análises foram realizadas no programa R versão 3.4.1 (R TEAM, 2017) com auxílio do pacote psych versão 1.7.8 (REVELLE, 2017). O gráfico 1 mostra concordância maior que o aceitável, tornando a pesquisadora apta a iniciar a coleta dos dados.

Gráfico 1 - Análise de Concordância Kappa para os índices periodontais avaliados na calibração.



#### 4.5.2 Exame clínico periodontal

Clinicamente mensurou-se:

**a) Índice de placa visível (IPV) (AINAMO; BAY, 1975):**

Seguindo o índice dicotômico proposto por Ainamo & Bay (1975), após lavagem e secagem dos dentes com ar comprimido, observou-se a presença (escore 1) ou ausência (escore 0) de placa ou biofilme dental supragengival visível, sem a utilização de sonda periodontal.

Com auxílio de sonda clínica periodontal milimetrada manual do tipo Carolina do Norte (PCPUNC - BR15, Hufriedy do Brasil, RJ, Brasil) foram avaliados:

**b) Índice de sangramento gengival marginal (ISG) (AINAMO; BAY, 1975):**

A sonda foi passada levemente de maneira linear no sulco gengival, para verificar a presença ou não de sangramento. Registra-se 0 para a ausência de sangramento, e 1 para a presença de sangramento. Deve ser observada a presença/ausência de sangramento até 10 segundos após a remoção da sonda periodontal.

Considerando que a avaliação clínica da coloração, forma e textura da gengiva é subjetiva por natureza, o sangramento gengival é um sinal de diagnóstico objetivo da inflamação (BECKER; ARBES JR., 2007). Nesse índice não existe a preocupação de quantificar o sangramento, pois a noção básica é que se houver sangramento, existe a doença periodontal e também a necessidade de tratamento.

**c) Índice de profundidade à sondagem (PS):**

Mensurou-se, em milímetros, a distância entre a margem gengival livre e a porção mais apical sondável do sulco gengival. O PS de um sulco gengival clínico normal é em torno de 2mm a 3 mm (FRANCO et al., 2013).

**d) Sangramento à Sondagem (SS):**

Registrou-se a presença (escore 1) ou ausência (escore 0) de sangramento na margem da gengiva após 30 segundos transcorridos da aferição da profundidade de sondagem. Atualmente, o Sangramento à Sondagem tem sido utilizado como uma indicação para necessidade de tratamento; contudo, somente o SS não é uma forma de predizer um risco para a perda de inserção clínica futura.

Os IPV e ISG foram avaliados nos sítios distovestibular, medianovestibular e mésiovestibular dos dentes-índice. O PS e o SS foram registrados na face mésiovestibular.

**4.6 REMOÇÃO DO APARELHO FIXO E COLETA DO BIOFILME SUBGENGIVAL**

Após a avaliação clínica periodontal, o aparelho ortodôntico foi removido bem como a placa supragengival de todos os dentes, com taça de borracha com pedra-pomes e água, mantendo-se o cuidado de preservar uma margem de segurança de cerca de 1mm do tecido gengival, para evitar sangramentos e/ou interferências na placa subgengival. Os dentes-índice foram então isolados com rolos de algodão e as superfícies dentárias secas com jato de ar comprimido. Amostras do biofilme subgengival foram coletadas da face mésio-vestibular desses dentes usando-se curetas periodontais estéreis Gracey do tipo mini-five (Hu Friedy, Chicago, Illinois-USA), posicionadas na porção mais apical do sulco gengival, e em um único movimento de raspagem no sentido ápico-coronal. As amostras foram imediatamente depositadas em tubos plásticos do tipo Eppendorf (Axygen, EUA) de 1,5ml identificados com a data da coleta, com a sigla representando o nome e prenome do paciente, o momento de coleta (T1- 1ª avaliação ou T2-2ª avaliação) e o

sítio de onde a amostra foi removida. Os tubos continham 150 µl de solução TE (10mM Tris-HCl, 0,1mM EDTA, pH 7,6), ao qual, após a deposição da placa subgengival, foram adicionados 100µl de hidróxido de sódio (NaOH) a 0,5M com auxílio de uma micropipeta de alta performance (Peguepet®) calibrada (ANEXO C). Imediatamente após a coleta, as amostras foram transportadas em isopor contendo dióxido de carbono sólido ("gelo-seco"), e armazenadas em freezer a -80°C até o processamento, no Laboratório de Biologia Celular e Molecular do Câncer Humano, do Departamento de Bioquímica e Farmacologia da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES). As amostras de biofilme dental foram encaminhadas ao Laboratório de Pesquisa em Odontologia, Microbiologia, Imunologia e Biologia Molecular da Universidade de Guarulhos (UnG) / São Paulo- Brasil, onde foram processadas e analisadas pelo método "Checkerboard DNA-DNA Hybridization" descrito por Socransky et al. (1994).

Para o segundo momento da pesquisa (T2), a micropipeta foi novamente calibrada (ANEXO D), e o processo de coleta da placa subgengival foi repetido seguindo o protocolo descrito anteriormente.

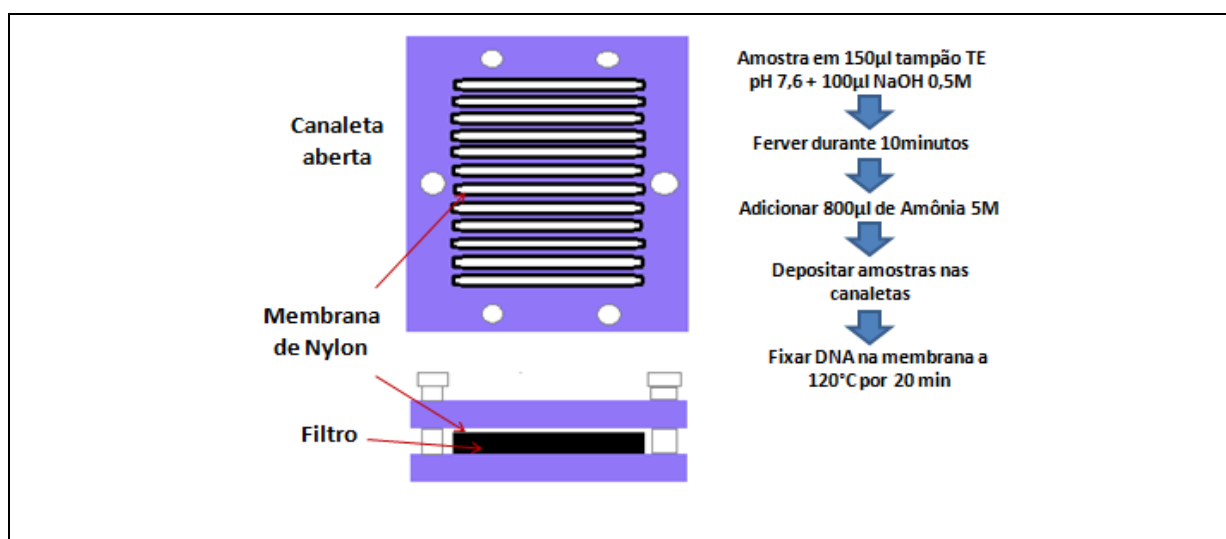
#### **4.6.1 Técnica Checkerboard DNA-DNA Hybridization**

##### **4.6.1.1 Hibridização DNA- DNA**

As suspensões contidas nos tubos foram fervidas em banho-maria por 10 minutos e, em seguida, neutralizadas pela adição de 0,8 ml de acetato de amônia a 5M. Com isso, as células bacterianas foram lisadas e o DNA ficou suspenso na solução. Cada suspensão de placa contendo DNA livre foi depositada nas fendas do "Minislot" (Immunitics, Cambridge, MA, USA) e o DNA concentrado na membrana de nylon

(15cm X 15 cm) com carga positiva (Boehringer Mannheim, Indianápolis, IN, USA). A membrana foi removida do aparato e o DNA depositado na membrana então fixado na mesma por intermédio de aquecimento em forno a 120°C por 20 min. As duas últimas canaletas do "Minislot" foram reservadas para a colocação dos controles, contendo uma mistura do DNA das espécies de microrganismos que foram investigados pelas sondas de DNA, nas concentrações correspondentes a  $10^5$  e  $10^6$  células bacterianas, ou seja, 1ng e 10 ng de DNA de cada espécie, respectivamente (SOCRANSKY et al., 1994). A membrana foi então removida do Minislot e o DNA nela concentrado, fixado por meio de aquecimento em forno a 120° C por 20 minutos (figura 02).

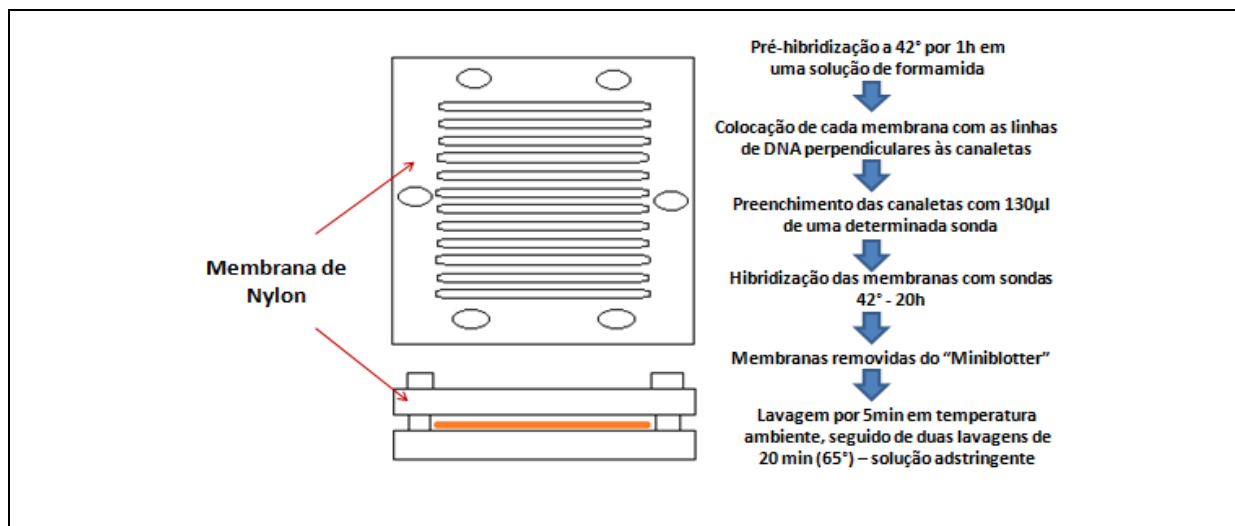
Figura 02 - Representação gráfica do Minislot (Immunetics, Cambridge, MA, USA) e resumo da preparação e deposição das amostras de biofilme subgengival bacteriano (Técnica do Checkboard DNA-DNA hybridization).



Fonte: Modificação da ilustração de Lucena (2014).

Após fixação do DNA nas membranas, essas foram pré-hibridizadas a 42°C por 1 hora numa solução de 50% formamida, 1% caseína, 5 X *standart saline citrate* - SSC (1 x SSC = 150 mM NaCl, 15 mM de citrato de sódio, p 7,0), 25 mM de fosfato de sódio (pH 6.5) e 0,5 mg/ml de RNA de levedura. Em seguida, cada membrana foi colocada sob a placa acrílica do “Miniblotter 45” (Immunetics, Cambridge, MA, USA) com as linhas de DNA perpendiculares às canaletas do aparato. O “Miniblotter” contém 45 canaletas que servem cada uma para a colocação de uma sonda de DNA (figura 03). As sondas de DNA foram confeccionadas usando o “random primer digoxigenin labeling Kit” (Boehringer Mannheim), como descrito por Feinberg & Vogelstein, em 1983. Sondas de DNA específicas para 40 espécies (tabela 1), selecionadas devido à sua associação com diferentes tipos de doenças e saúde periodontais, foram usadas nesse estudo (HAFFAJEE; SOCRANSKY, 1994). Anteriormente ao seu uso, as sondas foram testadas com uma mistura controle contendo as espécies investigadas, numa concentração de  $10^4$  células bacterianas. Suas concentrações foram ajustadas de tal modo que as intensidades dos sinais de todas as sondas fossem semelhantes. Cada canaleta do “Miniblotter 45” foi preenchida com 130  $\mu$ l de uma determinada sonda, contida numa solução de hibridização (45% formamida, 5 X SSC, 20 mM de fosfato de sódio (pH 6.5), 0,2 mg/ml de RNA de levedura, 10% de sulfato de dextrano, 1% caseína e 20 ng/ml de sonda de DNA). As sondas hibridizaram o material localizado perpendicularmente às linhas contendo o DNA bacteriano fixado, propiciando um formato de xadrez com as linhas de DNA, horizontais, e as sondas, verticais. O aparato contendo as membranas foi colocado dentro de um saco plástico para evitar a desidratação das mesmas. A hibridização das membranas com as sondas ocorreu a 42°C, durante um período mínimo de 20 horas.

Figura 03 - Representação gráfica do “Miniblotter 45” (Immunitics, Cambridge, MA, USA) e resumo das etapas de hibridização e detecção das espécies bacterianas presentes nas amostras de biofilme subgengival bacteriano.



Fonte: Modificação da ilustração de Lucena (2014).

Tabela 1 - Relação das cepas empregadas para a confecção das Sondas de DNA. Agrupamento das espécies bacterianas por complexos (SOCRANSKY et al., 1998; SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2005).

(continua)

Complexo bacteriano	Espécie	Cepa
<b>Azul</b>	<i>Actinomyces gerencseriae</i>	23860*
	<i>Actinomyces israelii</i>	23860*
	<i>Actinomyces naeslundii I</i>	12104*
	<i>Actinomyces oris</i>	43146*
<b>Roxo</b>	<i>Actinomyces odontolyticus</i>	17929 <sup>a</sup>
	<i>Veillonella parvula</i>	10790 <sup>a</sup>



Tabela 1 - Relação das cepas empregadas para a confecção das Sondas de DNA. Agrupamento das espécies bacterianas por complexos (SOCRANSKY et al., 1998; SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2005).

(continuação)

Complexo bacteriano	Espécie	Cepa	
<b>Amarelo</b>	<i>Streptococcus gordonii</i>	10558 <sup>a</sup>	
	<i>Streptococcus intermedius</i>	27335 <sup>a</sup>	
	<i>Streptococcus mitis</i>	49456 <sup>a</sup>	
	<i>Streptococcus oralis</i>	35037 <sup>a</sup>	
	<i>Streptococcus sanguinis</i>	10556 <sup>a</sup>	
<b>Verde</b>	<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> a+ b	43718 <sup>a</sup> + 29523 <sup>a</sup>	
	<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	33624 <sup>a</sup>	
	<i>Capnocytophaga ochracea</i>	33596 <sup>a</sup>	
	<i>Capnocytophaga sputigena</i>	33612 <sup>a</sup>	
	<i>Eikenella corrodens</i>	23834 <sup>a</sup>	
	<b>Laranja</b>	<i>Fusobacterium nucleatum ssp.</i> <i>Polymorphum</i>	10953 <sup>a</sup>
<i>Fusobacterium nucleatum ssp.</i> <i>Vincentii</i>		49256 <sup>a</sup>	
<i>Fusobacterium periodonticum</i>		33693 <sup>a</sup>	
<i>Parvimonas micra</i>		33270 <sup>a</sup>	
<i>Prevotella intermedia</i>		25611 <sup>a</sup>	
<i>Prevotella nigrescens</i>		33563 <sup>a</sup>	
<i>Streptococcus constellatus</i>		27823 <sup>a</sup>	
<b>Vermelho</b>		<i>Tannerella forsythia</i>	43037 <sup>a</sup>
		<i>Porphyromonas gingivalis</i>	33277 <sup>a</sup>
	<i>Treponema denticola</i>	B1 <sup>b</sup>	

Tabela 1 - Relação das cepas empregadas para a confecção das Sondas de DNA. Agrupamento das espécies bacterianas por complexos (SOCRANSKY et al., 1998; SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2005).

(conclusão)

Complexo bacteriano	Espécie	Cepa
<b>Outras espécies</b>	<i>Eubacterium saburreum</i>	33271 <sup>a</sup>
	<i>Gemella morbillorum</i>	27824 <sup>a</sup>
	<i>Leptotrichia buccalis</i>	14201 <sup>a</sup>
	<i>Neisseria mucosa</i>	19696 <sup>a</sup>
	<i>Prevotella melaninogenica</i>	25845 <sup>a</sup>
	<i>Propionibacterium acnes I + II</i>	11827*+ 11828*
	<i>Selenomonas noxia</i>	43541*
	<i>Streptococcus anginosus</i>	33397*
	<i>Treponema socranskii</i>	S1 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> ATCC (American Type Culture Collection)  
<sup>b</sup> Forsyth Institute, Boston, MA.

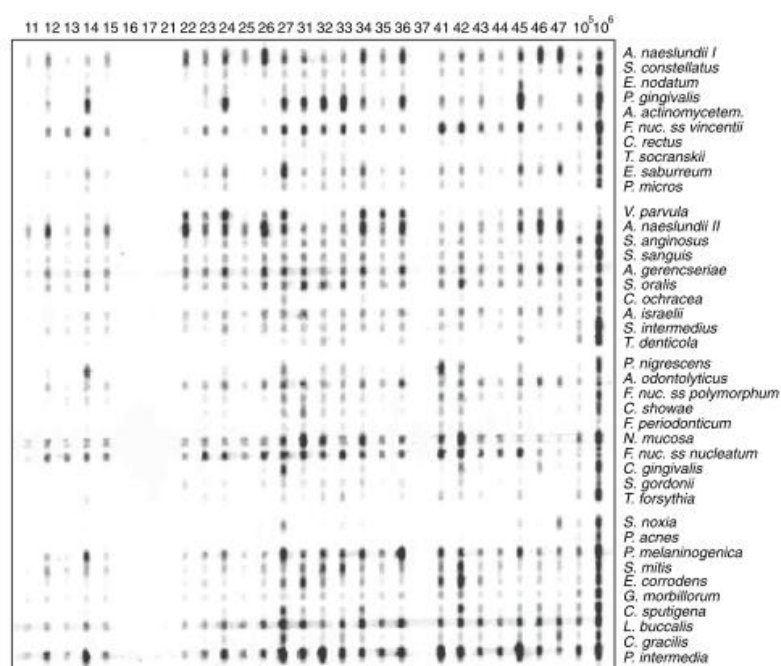
#### 4.6.1.2 Detecção das espécies

Após hibridização com as sondas, as membranas foram removidas do “Miniblotter” e lavadas por 5 minutos em temperatura ambiente, seguido de duas lavagens de 20 minutos, a 65°C, numa solução adstringente (0,1 X SSC, 0,1% SDS), a fim de remover sondas que não hibridizaram completamente. Em seguida, as membranas foram imersas por 1 hora numa solução contendo 0,1 M ácido maléico, 3M NaCl, 0,2M NaOH, 0,3% Tween 20, 0,5% caseína, pH 8,0, e por 30 minutos na mesma solução contendo o anticorpo anti-digoxigenina conjugado à fosfatase alcalina (Boehringer Mannheim), numa diluição de 1:10.000. As membranas foram, então,

lavadas com uma solução de 0,1M ácido maleico, 3M NaCl, 0,2M NaOH, 0.3% Tween 20, pH 8.0, 2 vezes por 20 minutos, e uma vez por 5 minutos em 0,1M Tris HCl, 0,1M NaCl, 50 mM MgCl<sub>2</sub>, pH 9.5. Em seguida, as membranas foram incubadas em uma solução detectora, Lumi Phos 530 (Lumigen, Southfield, MI, USA), por 45 minutos a 37°C. Finalmente, as membranas foram colocadas num cassete sob um filme radiográfico (KodaK X-OMAT) por aproximadamente 40 minutos, e os filmes revelados manualmente pelo método convencional temperatura-tempo, de acordo com as orientações do fabricante.

A leitura dos filmes radiográficos foi realizada por um único examinador treinado, da seguinte forma: cada sinal produzido por uma determinada sonda na amostra de placa foi comparado em intensidade ao sinal produzido pela mesma sonda nos dois controles contendo 10<sup>5</sup> e 10<sup>6</sup> bactérias, como exemplificado na figura 4.

Figura 4 - Leitura dos filmes radiográficos comparando-se a intensidade dos sinais obtidos na técnica Checkboard DNA–DNA hybridization ( SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2005).



Desta forma, o número 0 foi registrado quando não houve detecção do sinal; 1 equivaleu a um sinal menos intenso que o controle de  $10^5$  células; 2 equivaleu a aproximadamente  $10^5$  células; 3, entre  $10^5$  e  $10^6$  células; 4 aproximadamente  $10^6$  células e 5, mais de  $10^6$  células. Estes registros foram então utilizados para determinar os níveis das diferentes espécies investigadas no estudo, expressos em nível médio de cada espécie (contagem) em cada sítio (tabela 2).

Tabela 2 - Índice utilizado para a determinação dos níveis dos microrganismos nas amostras de biofilme subgengival.

Índice	Nível do microrganismo	Contagem
0	Não detectado	0
1	Menos de $10^5$ células	10.000
2	Aproximadamente $10^5$ células	100.000
3	Entre $10^5$ a $10^6$ células	500.000
4	Aproximadamente $10^6$ células	1.000.000
5	Mais de $10^6$ células	10.000.000

#### 4.7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os testes estatísticos foram realizados pelo programa IBM SPSS *Statistics* versão 24. A descrição dos resultados periodontais e microbiológicos foram apresentados pela frequência observada, porcentagem, média e desvio padrão.

A comparação dos resultados das doenças periodontais e microbiológicos ao término do tratamento e após seis meses foi realizada pelo teste de McNemar e de Wilcoxon.

O nível de significância adotado para todas as análises foi igual a 5% ( $p < 0.05$ ), o que estabeleceu um nível de confiança de 95% para os resultados apresentados.

## **5 RESULTADOS**

No total, 23 indivíduos (6 do sexo masculino e 17 do sexo feminino) selecionados por amostragem não-probabilística por conveniência foram incluídos nesse estudo. Os participantes foram avaliados em dois momentos: T1 - no momento da remoção do aparelho ortodôntico fixo; T2 - 06 meses após o término do tratamento ortodôntico.

### **5.1 RESULTADOS CLÍNICOS PERIODONTAIS**

Os critérios clínicos periodontais avaliados foram registrados e tabulados, em T1 e T2 para análise estatística.

#### **5.1.1 Índice de placa visível**

Alterações estatisticamente significantes ( $p < 0.05$ ) no Índice de Placa Visível entre os períodos avaliados (T2 e T1) foram verificadas nas seguintes regiões: sítio mesiovestibular dos dentes 11 e 31, na região distovestibular do 31, e no sítio mediano da face vestibular dos dentes 26 e 31. Em todos os pacientes que apresentaram presença de placa visível no sítio mesiovestibular dos dentes 11 e 31 em T1, não foi registrado presença de placa em T2. 71.43% dos registros positivos para a presença de placa visível no sítio mediano do dente 26 em T1 foram convertidos em T2 para registros negativos (tabela 3).

Tabela 3 - Avaliação das proporções do Índice de placa visível em T1 e T2.

(continua)

		Ausente		Presente		Valor p*
		n	%	n	%	
<b>IPV - 16 MV (T1)</b>						
<b>IPV - 16 MV (T2)</b>	Ausente	15	93.75	6	85.71	0.125
	Presente	1	6.25	1	14.29	
<b>IPV - 16 Med (T1)</b>						
<b>IPV - 16 Med (T2)</b>	Ausente	11	84.62	7	70.00	0.180
	Presente	2	15.38	3	30.00	
<b>IPV - 16 DV (T1)</b>						
<b>IPV - 16 DV (T2)</b>	Ausente	10	83.33	6	54.55	0.289
	Presente	2	16.67	5	45.45	
<b>IPV - 11 MV (T1)</b>						
<b>IPV - 11 MV (T2)</b>	Ausente	14	93.33	8	100.00	<b>0.039</b>
	Presente	1	6.67	0	0.00	
<b>IPV - 11 Med (T1)</b>						
<b>IPV - 11 Med (T2)</b>	Ausente	19	100.00	4	100.00	-----
	Presente	0	0.00	0	0.00	
<b>IPV - 11 DV (T1)</b>						
<b>IPV - 11 DV (T2)</b>	Ausente	15	93.75	7	100.00	0.07
	Presente	1	6.25	0	0.00	
<b>IPV - 26 MV (T1)</b>						
<b>IPV - 26 MV (T2)</b>	Ausente	11	78.57	7	77.78	0.344
	Presente	3	21.43	2	22.22	
<b>IPV - 26 Med (T1)</b>						
<b>IPV - 26 Med (T2)</b>	Ausente	9	100.00	10	71.43	<b>0.002</b>
	Presente	0	0.00	4	28.57	
<b>IPV - 26 DV (T1)</b>						
<b>IPV - 26 DV (T2)</b>	Ausente	9	75.00	6	54.55	0.508
	Presente	3	25.00	5	45.45	
<b>IPV - 36 MV (T1)</b>						
<b>IPV - 36 MV (T2)</b>	Ausente	20	100.00	2	66.67	0.065
	Presente	0	0.00	1	33.33	
<b>IPV - 36 Med (T1)</b>						
<b>IPV - 36 Med (T2)</b>	Ausente	16	94.12	5	83.33	0.219
	Presente	1	5.88	1	16.67	
<b>IPV - 36 DV (T1)</b>						
<b>IPV - 36 DV (T2)</b>	Ausente	16	88.89	4	80.00	0.688
	Presente	2	11.11	1	20.00	

Tabela 3 - Avaliação das proporções do Índice de placa visível em T1 e T2.

(conclusão)

		Ausente		Presente		Valor p*
		n	%	n	%	
<b>IPV - 31 MV (T1)</b>						
<b>IPV - 31 MV (T2)</b>	Ausente	10	50.00	0	0.00	<b>0.002</b>
	Presente	10	50.00	3	100.00	
<b>IPV - 31Med (T1)</b>						
<b>IPV - 31Med (T2)</b>	Ausente	12	52.17	0	0.00	<b>0.001</b>
	Presente	11	47.38	0	0.00	
<b>IPV - 31DV (T1)</b>						
<b>IPV - 31DV (T2)</b>	Ausente	9	47.37	1	25.00	<b>0.012</b>
	Presente	10	52.63	3	75.00	
<b>IPV - 46 MV (T1)</b>						
<b>IPV - 46 MV (T2)</b>	Ausente	18	81.82	1	100.00	0.375
	Presente	4	18.18	0	0.00	
<b>IPV - 46 Med (T1)</b>						
<b>IPV - 46 Med (T2)</b>	Ausente	14	70.00	3	100.00	0.508
	Presente	6	30.00	0	0.00	
<b>IPV 46DV (T1)</b>						
<b>IPV - 46DV (T2)</b>	Ausente	18	90.00	3	100.00	0.999
	Presente	2	10.00	0	0.00	

(\*) Teste de McNemar; MV –Mesiovestibular; Med - Mediano; DV - Distovestibular  
 IPV - Índice de placa visível  
 T1 - Término do tratamento; T2 - Seis meses após a remoção do aparelho fixo

### 5.1.2 Índice de sangramento gengival marginal

Após a remoção do aparelho fixo ortodôntico (T2) houve redução do Índice de sangramento gengival marginal na mesiovestibular dos dentes-índice 16, 31 e 46, na distovestibular do 31, e no sítio mediano do 26 ( $p < 0.05$ ). Foi observado que 90,91% dos registros positivos (escore 1 para o Índice de sangramento gengival marginal) na mesiovestibular do 16 e do 31 em T1 apresentaram escore 0 em T2 (tabela 4).



Tabela 4 - Avaliação das proporções do Índice de sangramento gengival marginal em T1 e T2.

(continua)

		Ausente		Presente		Valor p*
		n	%	n	%	
<b>ISG - 16 MV (T1)</b>						
<b>ISG - 16 MV (T2)</b>	Ausente	11	91.67	10	90.91	<b>0.012</b>
	Presente	1	8.33	1	9.09	
<b>ISG - 16 Med (T1)</b>						
<b>ISG - 16 Med (T2)</b>	Ausente	17	100.00	5	83.33	0.063
	Presente	0	0.00	1	16.67	
<b>ISG - 16 DV (T1)</b>						
<b>ISG - 16 DV (T2)</b>	Ausente	17	94.44	4	80.00	0.375
	Presente	1	5.56	1	20.00	
<b>ISG - 11 MV (T1)</b>						
<b>ISG - 11 MV (T2)</b>	Ausente	15	93.75	7	100.00	0.070
	Presente	1	6.25	0	0.00	
<b>ISG - 11 Med (T1)</b>						
<b>ISG - 11 Med (T2)</b>	Ausente	19	95.00	3	100.00	0.250
	Presente	1	5.00	0	0.00	
<b>ISG - 11 DV (T1)</b>						
<b>ISG - 11 DV (T2)</b>	Ausente	16	88.89	4	80.00	0.688
	Presente	2	11.11	1	20.00	
<b>ISG - 26 MV (T1)</b>						
<b>ISG - 26 MV (T2)</b>	Ausente	9	75.00	10	90.91	0.092
	Presente	3	25.00	1	9.09	
<b>ISG - 26 Med (T1)</b>						
<b>ISG - 26 Med (T2)</b>	Ausente	16	100.00	6	85.71	<b>0.031</b>
	Presente	0	0.00	1	14.29	
<b>ISG - 26 DV (T1)</b>						
<b>ISG - 26 DV (T2)</b>	Ausente	17	100.00	5	83.33	0.063
	Presente	0	0.00	1	16.67	
<b>ISG - 36 MV (T1)</b>						
<b>ISG - 36 MV (T2)</b>	Ausente	9	81.82	9	75.00	0.065
	Presente	2	18.18	3	25.00	

Tabela 4 - Avaliação das proporções do Índice de Sangramento Gengival Marginal em T1 e T2.

(conclusão)

		Ausente		Presente		Valor p*
		n	%	n	%	
<b>ISG - 36 Med (T1)</b>						
<b>ISG - 36 Med (T2)</b>	Ausente	15	93.75	7	100.00	0.070
	Presente	1	6.25	0	0.00	
<b>ISG - 36 DV (T1)</b>						
<b>ISG - 36 DV (T2)</b>	Ausente	15	93.75	6	85.71	0.125
	Presente	1	6.25	1	14.29	
<b>ISG - 31 MV (T1)</b>						
<b>ISG - 31 MV (T2)</b>	Ausente	11	91.67	10	90.91	<b>0.012</b>
	Presente	1	8.33	1	9.09	
<b>ISG - 31Med (T1)</b>						
<b>ISG - 31Med (T2)</b>	Ausente	17	100.00	5	83.33	0.063
	Presente	0	0.00	1	16.67	
<b>ISG - 31DV (T1)</b>						
<b>ISG - 31DV (T2)</b>	Ausente	11	100.00	8	66.67	<b>0.008</b>
	Presente	0	0.00	4	33.33	
<b>ISG - 46 MV (T1)</b>						
<b>ISG - 46 MV (T2)</b>	Ausente	14	100.00	8	88.89	<b>0.008</b>
	Presente	0	0.00	1	11.11	
<b>ISG - 46 Med (T1)</b>						
<b>ISG - 46 Med (T2)</b>	Ausente	15	93.75	7	100.00	0.070
	Presente	1	6.25	0	0.00	
<b>ISG 46DV (T1)</b>						
<b>ISG - 46DV (T2)</b>	Ausente	16	88.89	5	100	0.453
	Presente	2	11.11	0	0	

(\*) Teste de McNemar; MV –Mesiovestibular; Med - Mediano; DV - Distovestibular  
 ISG - Índice de Sangramento Gengival Marginal  
 T1 - Término do tratamento; T2 - Seis meses após a remoção do aparelho fixo

### 5.1.3 Índice de profundidade à sondagem

Seis meses após a remoção do aparelho fixo ortodôntico (T2) houve redução estatisticamente significativa do Índice de profundidade à sondagem nos sítios avaliados dos dentes-índice 16, 11, 31 e 46 ( $p < 0.05$ ), enquanto que nos dentes 26 e 36 mantiveram-se constantes (tabela 5).

Tabela 5 - Comparação do Índice de profundidade à sondagem entre os momentos avaliados.

		Média dos postos	Valor p*
PS 16MV (T2) - PS 16MV (T1)	Postos Negativos	8.15	<b>0.006</b>
	Postos Positivos	7.00	
PS 11MV (T2) - PS 11MV (T1)	Postos Negativos	6.15	<b>0.009</b>
	Postos Positivos	4.50	
PS 26MV (T2) - PS 26MV (T1)	Postos Negativos	6.60	0.694
	Postos Positivos	6.43	
PS 36MV (T2) - PS 36MV (T1)	Postos Negativos	4.50	0.781
	Postos Positivos	6.00	
PS 31MV (T2) - PS 31MV (T1)	Postos Negativos	8.70	<b>&lt; 0.001</b>
	Postos Positivos	5.50	
PS 46MV (T2) - PS 46MV (T1)	Postos Negativos	5.50	<b>0.002</b>
	Postos Positivos	0.00	

(\*) Teste de Wilcoxon; PS - Índice de profundidade à sondagem; MV - Mesiovestibular

T1 - Término do tratamento; T2 - Após seis meses do término do tratamento

### 5.1.4 Sangramento à sondagem

Em relação a avaliação do Sangramento à sondagem, foi observado redução estatisticamente significativa ( $p < 0.05$ ) nos dentes 16, 46 e 31. Todos os sujeitos da amostra com presença de sangramento à sondagem no sítio mesiovestibular dos dentes 16 e 46 em T1, registraram escore 0, ou seja, ausência de sangramento em T2. No dente-índice 31, 76,92% dos registros positivos para presença de

Sangramento à sondagem em T1, não apresentaram o mesmo comportamento em T2 (tabela 6).

Tabela 6 - Comparação do Sangramento à sondagem entre os momentos avaliados.

		Ausente		Presente		Valor p*
		n	%	n	%	
<b>SS - 16 MV (T1)</b>						
<b>SS - 16 MV (T2)</b>	Ausente	9	90.00	13	100.00	<b>0.002</b>
	Presente	1	10.	0	0.00	
<b>SS - 11 MV (T1)</b>						
<b>SS - 11 MV (T2)</b>	Ausente	13	86.67	6	75.00	0.508
	Presente	2	13.33	2	25.00	
<b>SS - 26 MV (T1)</b>						
<b>SS - 26 MV (T2)</b>	Ausente	10	83.33	7	63.64	0.180
	Presente	2	16.67	4	36.36	
<b>SS - 36 MV (T1)</b>						
<b>SS - 36 MV (T2)</b>	Ausente	9	81.82	9	75.00	0.065
	Presente	2	18.18	3	25.00	
<b>SS - 31 MV (T1)</b>						
<b>SS - 31 MV (T2)</b>	Ausente	8	80.00	10	76.92	<b>0.039</b>
	Presente	2	20.00	3	23.8	
<b>SS - 46 MV (T1)</b>						
<b>SS - 46 MV (T2)</b>	Ausente	10	83.33	11	100.00	<b>0.022</b>
	Presente	2	16.67	0	0.00	

(\*) Teste de McNemar; MV -Mesiovestibular

SS - Sangramento à sondagem

T1 - Término do tratamento; T2 - Seis meses após o término do tratamento

## 5.2 RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS

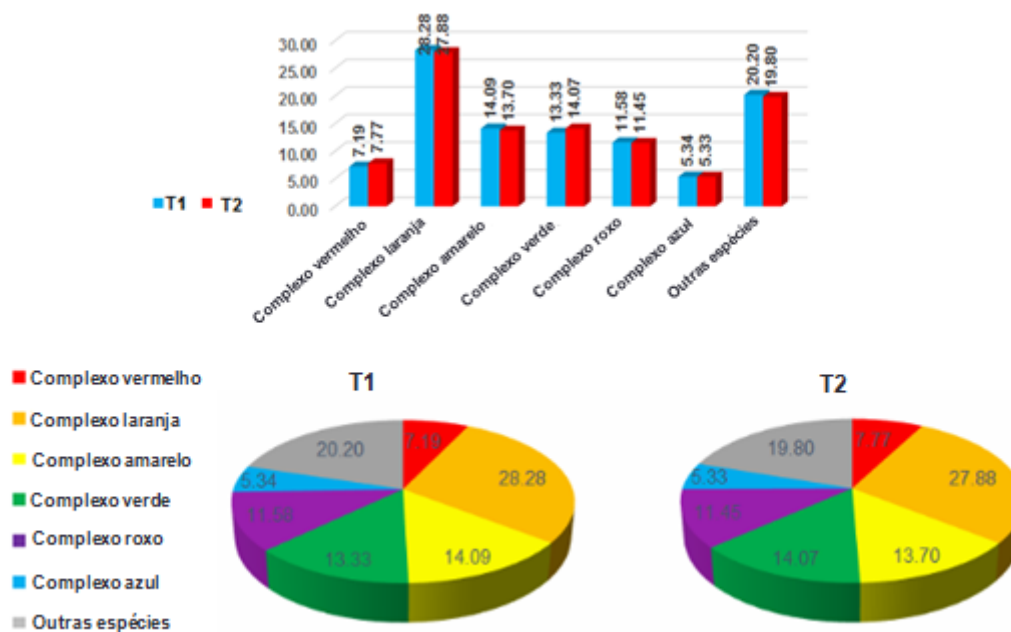
A contagem microbiana para os dois momentos da avaliação (T1 e T2) foi registrada e tabulada em planilhas para análise estatística.

Ao avaliar as proporções e frequências das 40 bactérias agrupadas em 5 complexos microbianos (vermelho, laranja, amarelo, verde e roxo) e "outras espécies" verificou-

se semelhanças nas amostras de biofilme subgingival em T1 e T2, sendo mais frequente o grupo laranja (T1= 28,28%; T2= 27,88) (Figura 05).

Os valores p das comparações apontadas na figura 5, são demonstradas na tabela 07.

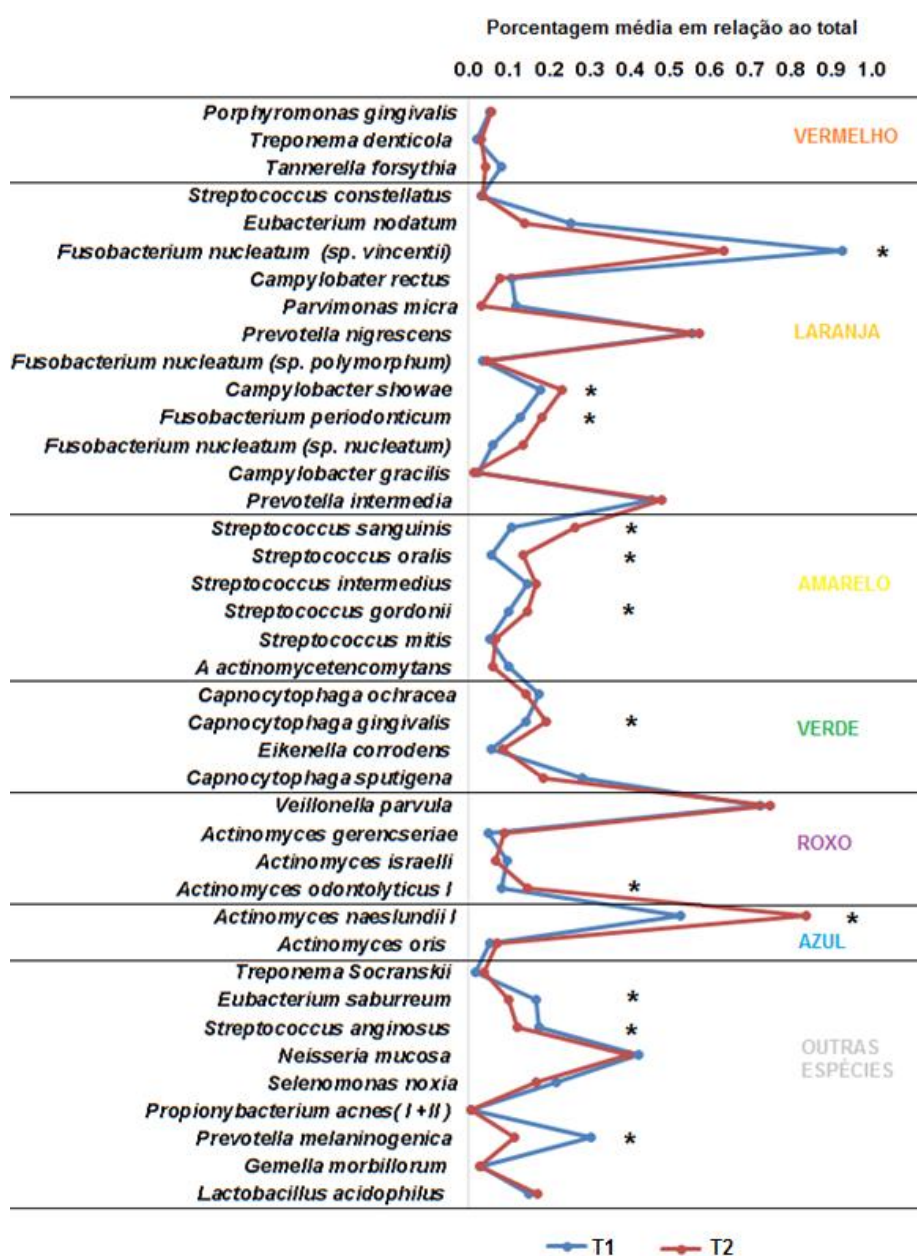
Figura 5 - Proporções e frequências dos complexos microbianos presentes nas amostras de biofilme subgingival em T1 e em T2.



Seis meses após a remoção do aparelho fixo ortodôntico, algumas espécies bacterianas apresentaram diferenças entre suas proporções médias, notando-se aumento médio quantitativo em T2 das seguintes espécies: *Campylobacter showae*, *Fusobacterium periodonticum*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus gordonii*, *Capnocytophaga gingivalis*, *Actinomyces odontolyticus I* e *Actinomyces naeslundii I*. Em contrapartida, as seguintes espécies apresentaram redução: *Fusobacterium nucleatum (sp. vincentii)*, *Eubacterium saburreum*, *Streptococcus anginosus* e

*Prevotella melaninogenica*. As demais espécies mantiveram-se contagem semelhantes nos períodos avaliados (figura 6).

Figura 6- Perfil microbiano das médias de proporção (%) das espécies bacterianas presentes nas amostras de biofilme subgingival ao término do tratamento ortodôntico (T1) e 06 meses após a remoção do aparelho fixo (T2).



(\*) Estatisticamente significativo ao nível de 5%

Tabela 7 - Comparação das porcentagens médias das bactérias entre os tempos T1 e T2.

(continua)

		Média dos postos	Valor p*
<i>Eubacterium nodatum</i> (T2) - <i>Eubacterium nodatum</i> (T1)	Postos Negativos	39.34	0.879
	Postos Positivos	35.75	
<i>Treponema denticola</i> (T2) - <i>Treponema denticola</i> (T1)	Postos Negativos	37.16	0.613
	Postos Positivos	35.05	
<i>Tannerella forsythia</i> (T2) - <i>Tannerella forsythia</i> (T1)	Postos Negativos	44.04	0.116
	Postos Positivos	38.25	
<i>Streptococcus constellatus</i> (T2) - <i>Streptococcus constellatus</i> (T1)	Postos Negativos	37.71	0.176
	Postos Positivos	34.90	
<i>Eubacterium nodatum</i> (T2) - <i>Eubacterium nodatum</i> (T1)	Postos Negativos	49.87	0.054
	Postos Positivos	54.25	
<i>Fusobacterium nucleatum</i> (sp. <i>vincentii</i> ) (T2) - <i>Fusobacterium nucleatum</i> (sp. <i>vincentii</i> ) (T1)	Postos Negativos	51.98	<b>&lt; 0.001</b>
	Postos Positivos	46.82	
<i>Campylobacter rectus</i> (T2) - <i>Campylobacter rectus</i> (T1)	Postos Negativos	45.61	0.391
	Postos Positivos	40.11	
<i>Parvimonas micra</i> (T2) - <i>Parvimonas micra</i> (T1)	Postos Negativos	42.38	0.098
	Postos Positivos	31.96	
<i>Prevotella nigrescens</i> (T2) - <i>Prevotella nigrescens</i> (T1)	Postos Negativos	55.65	0.928
	Postos Positivos	49.17	
<i>Fusobacterium nucleatum</i> (sp. <i>polymorphum</i> ) (T2) - <i>Fusobacterium nucleatum</i> (sp. <i>polymorphum</i> ) (T1)	Postos Negativos	35.15	0.431
	Postos Positivos	33.73	
<i>Campylobacter showae</i> (T2) - <i>Campylobacter showae</i> (T1)	Postos Negativos	42.18	<b>0.024</b>
	Postos Positivos	52.24	
<i>Fusobacterium periodonticum</i> (T2) - <i>Fusobacterium periodonticum</i> (T1)	Postos Negativos	43.26	<b>0.007</b>
	Postos Positivos	52.09	
<i>Fusobacterium nucleatum</i> (sp. <i>nucleatum</i> ) (T2) - <i>Fusobacterium nucleatum</i> (sp. <i>nucleatum</i> ) (T1)	Postos Negativos	37.79	0.061
	Postos Positivos	39.71	
<i>Campylobacter gracilis</i> (T2) - <i>Campylobacter gracilis</i> (T1)	Postos Negativos	32.84	0.947
	Postos Positivos	27.30	
<i>Prevotella intermedia</i> (T2) - <i>Prevotella intermedia</i> (T1)	Postos Negativos	50.16	0.893
	Postos Positivos	44.76	
<i>Streptococcus sanguinis</i> (T2) - <i>Streptococcus sanguinis</i> (T1)	Postos Negativos	48.31	<b>0.025</b>
	Postos Positivos	58.36	
<i>Streptococcus oralis</i> (T2) - <i>Streptococcus oralis</i> (T1)	Postos Negativos	41.63	<b>0.013</b>
	Postos Positivos	47.96	
<i>Streptococcus intermedius</i> (T2) - <i>Streptococcus intermedius</i> (T1)	Postos Negativos	45.23	0.806
	Postos Positivos	39.66	

Tabela 7 - Comparação das porcentagens médias das bactérias entre os tempos T1 e T2.

(continuação)

		Média dos postos	Valor p*
<i>Streptococcus gordonii</i> (T2) - <i>Streptococcus gordonii</i> (T1)	Postos Negativos	48.47	<b>0.049</b>
	Postos Positivos	50.18	
<i>Streptococcus mitis</i> (T2) - <i>Streptococcus mitis</i> (T1)	Postos Negativos	46.39	0.336
	Postos Positivos	47.97	
<i>A. actinomycetencomytans</i> (T2) - <i>A. actinomycetencomytans</i> (T1)	Postos Negativos	43.16	0.286
	Postos Positivos	37.86	
<i>Streptococcus oralis</i> (T2) - <i>Streptococcus oralis</i> (T1)	Postos Negativos	52.51	0.417
	Postos Positivos	36.98	
<i>Capnocytophaga gingivalis</i> (T2) - <i>Capnocytophaga gingivalis</i> (T1)	Postos Negativos	49.73	<b>0.031</b>
	Postos Positivos	55.45	
<i>Eikenella corrodens</i> (T2) - <i>Eikenella corrodens</i> (T1)	Postos Negativos	41.06	0.768
	Postos Positivos	43.06	
<i>Capnocytophaga sputigena</i> (T2) - <i>Capnocytophaga sputigena</i> (T1)	Postos Negativos	48.78	0.145
	Postos Positivos	50.54	
<i>Veillonella parvula</i> (T2) - <i>Veillonella parvula</i> (T1)	Postos Negativos	51.22	0.898
	Postos Positivos	53.81	
<i>Actinomyces gerencseriae</i> (T2) - <i>Actinomyces gerencseriae</i> (T1)	Postos Negativos	38.61	0.819
	Postos Positivos	37.38	
<i>Actinomyces israelii</i> (T2) - <i>Actinomyces israelii</i> (T1)	Postos Negativos	51.55	0.458
	Postos Positivos	41.25	
<i>Actinomyces odontolyticus I</i> (T2) - <i>Actinomyces odontolyticus I</i> (T1)	Postos Negativos	48.34	<b>0.001</b>
	Postos Positivos	51.67	
<i>Actinomyces naeslundii I</i> (T2) - <i>Actinomyces naeslundii I</i> (T1)	Postos Negativos	53.29	<b>&lt; 0.001</b>
	Postos Positivos	57.72	
<i>Actinomyces oris</i> (T2) - <i>Actinomyces oris</i> (T1)	Postos Negativos	48.41	0.113
	Postos Positivos	44.76	
<i>Treponema Socranskii</i> (T2) - <i>Treponema Socranskii</i> (T1)	Postos Negativos	40.33	0.361
	Postos Positivos	38.00	
<i>Eubacterium saburreum</i> (T2) - <i>Eubacterium saburreum</i> (T1)	Postos Negativos	47.71	<b>&lt; 0.001</b>
	Postos Positivos	42.14	
<i>Streptococcus anginosus</i> (T2) - <i>Streptococcus anginosus</i> (T1)	Postos Negativos	48.41	<b>0.004</b>
	Postos Positivos	43.09	
<i>Neisseria mucosa</i> (T2) - <i>Neisseria mucosa</i> (T1)	Postos Negativos	56.58	0.601
	Postos Positivos	50.42	
<i>Selenomonas noxia</i> (T2) - <i>Selenomonas noxia</i> (T1)	Postos Negativos	55.91	0.588
	Postos Positivos	45.03	

Tabela 7 - Comparação das porcentagens médias das bactérias entre os tempos T1 e T2.



(conclusão)

		Média dos postos	Valor p*
<i>Propionibacterium acnes</i> (I +II) (T2) - <i>Propionibacterium acnes</i> (I +II) (T1)	Postos Negativos	29.12	0.949
	Postos Positivos	28.90	
<i>Prevotella melaninogenica</i> (2) - <i>Prevotella melaninogenica</i> (T1)	Postos Negativos	37.86	<b>&lt; 0.001</b>
	Postos Positivos	50.94	
<i>Gemella morbillorum</i> (T2) - <i>Gemella morbillorum</i> (T1)	Postos Negativos	28.68	0.661
	Postos Positivos	21.13	
<i>Lactobacillus acidophilus</i> (T2) - <i>Lactobacillus acidophilus</i> (T1)	Postos Negativos	51.66	0.569
	Postos Positivos	46.28	

(\*) Teste de Wilcoxon; T1 - Término do tratamento; T2 - Após seis meses do término do tratamento.

### 5.3 COMPARAÇÃO ENTRE O ÍNDICE DE PROFUNDIDADE À SONDAGEM E O SANGRAMENTO À SONDAGEM E PROPORÇÃO DE CÉLULAS BACTERIANAS

As células bacterianas apresentaram proporções semelhantes entre a ausência e presença de profundidade à sondagem nos momentos T1 e T2 (tabela 8).

Tabela 8 - Comparação das proporções de células bacterianas e Índice de profundidade à sondagem entre os tempos T1 e T2.

(continua)

		Profundidade à sondagem								
		Ausente		T1		Valor p*	T2		Valor p*	
		n	%	n	%		n	%		
Complexo vermelho	Não detectado	13	10.83	0	0.00	0.111	10	8.26	0	0.00
	Menos de 10 <sup>5</sup> células	60	50.00	7	38.89		71	58.68	13	76.47
	Aproximadamente 10 <sup>5</sup> células	27	22.50	5	27.78		20	16.53	2	11.76
	Entre 10 <sup>5</sup> e 10 <sup>6</sup> células	13	10.83	3	16.67		19	15.70	2	11.76
	Aproximadamente 10 <sup>6</sup> células	7	5.83	2	11.11		1	0.83	0	0.00
	Mais de 10 <sup>6</sup> células	0	0.00	1	5.56		0	0.00	0	0.00

Tabela 8 - Comparação das proporções de células bacterianas e Índice de profundidade à sondagem entre os tempos T1 e T2.

(continuação)

		Profundidade à sondagem									
		T1					T2				
		Ausente		Presente		Valor p*	Ausente		Presente		Valor p*
n	%	n	%	n	%		n	%			
Complexo laranja	Não detectado	-	-	-	-	2	1.65	0	0.00	0.198	
	Menos de 10 <sup>5</sup> células	14	11.67	0	0.00	16	13.22	7	41.18		
	Aproximadamente 10 <sup>5</sup> células	31	25.83	4	22.22	35	28.93	4	23.53		
	Entre 10 <sup>5</sup> e 10 <sup>6</sup> células	35	29.17	3	16.67	43	35.54	4	23.53		
	Aproximadamente 10 <sup>6</sup> células	20	16.67	5	27.78	13	10.74	1	5.88		
	Mais de 10 <sup>6</sup> células	20	16.67	6	33.33	12	9.92	1	5.88		
Complexo amarelo	Não detectado	6	5.00	0	0.00	7	5.79	1	5.88	0.165	
	Menos de 10 <sup>5</sup> células	33	27.50	4	22.22	36	29.75	10	58.82		
	Aproximadamente 10 <sup>5</sup> células	26	21.67	8	44.44	28	23.14	4	23.53		
	Entre 10 <sup>5</sup> e 10 <sup>6</sup> células	41	34.17	5	27.78	35	28.93	1	5.88		
	Aproximadamente 10 <sup>6</sup> células	12	10.00	1	5.56	12	9.92	1	5.88		
	Mais de 10 <sup>6</sup> células	2	1.67	0	0.00	3	2.48	0	0.00		
Complexo verde	Não detectado	3	2.50	0	0.00	5	4.13	1	5.88	0.344	
	Menos de 10 <sup>5</sup> células	31	25.83	3	16.67	33	27.27	7	41.18		
	Aproximadamente 10 <sup>5</sup> células	21	17.50	4	22.22	32	26.45	6	35.29		
	Entre 10 <sup>5</sup> e 10 <sup>6</sup> células	37	30.83	10	55.56	37	30.58	2	11.76		
	Aproximadamente 10 <sup>6</sup> células	23	19.17	1	5.56	14	11.57	1	5.88		
	Mais de 10 <sup>6</sup> células	5	4.17	0	0.00	0	0.00	0	0.00		
Complexo roxo	Não detectado	5	4.17	0	0.00	3	2.48	1	5.88	0.336	
	Menos de 10 <sup>5</sup> células	11	9.17	4	22.22	30	24.79	8	47.06		
	Aproximadamente 10 <sup>5</sup> células	28	23.33	3	16.67	31	25.62	2	11.76		
	Entre 10 <sup>5</sup> e 10 <sup>6</sup> células	46	38.33	5	27.78	36	29.75	4	23.53		
	Aproximadamente 10 <sup>6</sup> células	18	15.00	3	16.67	14	11.57	1	5.88		
	Mais de 10 <sup>6</sup> células	12	10.00	3	16.67	7	5.79	1	5.88		
Complexo azul	Não detectado	13	10.83	1	5.56	9	7.44	0	0.00	0.053	
	Menos de 10 <sup>5</sup> células	14	11.67	2	11.11	14	11.57	7	41.18		
	Aproximadamente 10 <sup>5</sup> células	16	13.33	5	27.78	26	21.49	4	23.53		
	Entre 10 <sup>5</sup> e 10 <sup>6</sup> células	39	32.50	8	44.44	37	30.58	2	11.76		
	Aproximadamente 10 <sup>6</sup> células	30	25.00	2	11.11	29	23.97	3	17.65		
	Mais de 10 <sup>6</sup> células	8	6.67	0	0.00	6	4.96	1	5.88		

Tabela 8 - Comparação das proporções de células bacterianas e Índice de profundidade à sondagem entre os tempos T1 e T2.

(conclusão)

		Profundidade à sondagem									
		T1					T2				
		Ausente		Presente		Valor p*	Ausente		Presente		Valor p*
n	%	n	%	n	%		n	%			
Complexo cinza	Não detectado	6	5.00	0	0.00	0.122	5	4.13	3	17.65	0.418
	Menos de 10 <sup>5</sup> células	22	18.33	1	5.56		17	14.05	2	11.76	
	Aproximadamente 10 <sup>5</sup> células	15	12.50	6	33.33		31	25.62	5	29.41	
	Entre 10 <sup>5</sup> e 10 <sup>6</sup> células	39	32.50	3	16.67		45	37.19	5	29.41	
	Aproximadamente 10 <sup>6</sup> células	29	24.17	6	33.33		20	16.53	2	11.76	
	Mais de 10 <sup>6</sup> células	9	7.50	2	11.11		3	2.48	0	0.00	

(\*) Testes do Qui-quadrado de Pearson e Exato de Fisher; (-) Não foi computado na estatística porque não houveram casos

T1 - Término do tratamento; T2 - Após seis meses do término do tratamento

As células bacterianas apresentaram proporções semelhantes entre a ausência e presença de sangramento à sondagem no tempo T1 e T2 (tabela 9).

Tabela 9 - Comparação das proporções de células bacterianas e Sangramento à sondagem entre os tempos T1 e T2.

(continua)

		Sangramento à sondagem									
		T1					T2				
		Ausente		Presente		Valor p*	Ausente		Presente		Valor p*
n	%	n	%	n	%		n	%			
Complexo vermelho	Não detectado	6	8.45	7	10.45	0.555	8	6.40	2	15.38	0.501
	Menos de 10 <sup>5</sup> células	39	54.93	28	41.79		76	60.80	8	61.54	
	Aproximadamente 10 <sup>5</sup> células	13	18.31	19	28.36		21	16.80	1	7.69	
	Entre 10 <sup>5</sup> e 10 <sup>6</sup> células	8	11.27	8	11.94		19	15.20	2	15.38	
	Aproximadamente 10 <sup>6</sup> células	5	7.04	4	5.97		1	0.80	0	0.00	
	Mais de 10 <sup>6</sup> células	0	0.00	1	1.49		0	0.00	0	0.00	

Tabela 9 - Comparação das proporções de células bacterianas e Sangramento à sondagem entre os tempos T1 e T2.

(continuação)

		Sangramento à sondagem								
		T1				Valor p*	T2			
		Ausente		Presente			Ausente		Presente	
		n	%	n	%	n	%	n	%	Valor p*
Complexo laranja	Não detectado	-	-	-	-	1	0.80	1	7.69	0.370
	Menos de 10 <sup>5</sup> células	7	9.86	7	10.45	21	16.80	2	15.38	
	Aproximadamente 10 <sup>5</sup> células	24	33.80	11	16.42	36	28.80	3	23.08	
	Entre 10 <sup>5</sup> e 10 <sup>6</sup> células	15	21.13	23	34.33	41	32.80	6	46.15	
	Aproximadamente 10 <sup>6</sup> células	11	15.49	14	20.90	13	10.40	1	7.69	
	Mais de 10 <sup>6</sup> células	14	19.72	12	17.91	13	10.40	0	0.00	
Complexo amarelo	Não detectado	4	5.63	2	2.99	5	4.00	3	23.08	0.076
	Menos de 10 <sup>5</sup> células	22	30.99	15	22.39	42	33.60	4	30.77	
	Aproximadamente 10 <sup>5</sup> células	13	18.31	21	31.34	30	24.00	2	15.38	
	Entre 10 <sup>5</sup> e 10 <sup>6</sup> células	24	33.80	22	32.84	33	26.40	3	23.08	
	Aproximadamente 10 <sup>6</sup> células	7	9.86	6	8.96	13	10.40	0	0.00	
	Mais de 10 <sup>6</sup> células	1	1.41	1	1.49	2	1.60	1	7.69	
Complexo verde	Não detectado	3	4.23	0	0.00	5	4.00	1	7.69	0.687
	Menos de 10 <sup>5</sup> células	20	28.17	14	20.90	36	28.80	4	30.77	
	Aproximadamente 10 <sup>5</sup> células	10	14.08	15	22.39	36	28.80	2	15.38	
	Entre 10 <sup>5</sup> e 10 <sup>6</sup> células	22	30.99	25	37.31	34	27.20	5	38.46	
	Aproximadamente 10 <sup>6</sup> células	13	18.31	11	16.42	14	11.20	1	7.69	
	Mais de 10 <sup>6</sup> células	3	4.23	2	2.99	0	0.00	0	0.00	
Complexo roxo	Não detectado	4	5.63	1	1.49	3	2.40	1	7.69	0.198
	Menos de 10 <sup>5</sup> células	7	9.86	8	11.94	32	25.60	6	46.15	
	Aproximadamente 10 <sup>5</sup> células	18	25.35	13	19.40	32	25.60	1	7.69	
	Entre 10 <sup>5</sup> e 10 <sup>6</sup> células	24	33.80	27	40.30	36	28.80	4	30.77	
	Aproximadamente 10 <sup>6</sup> células	10	14.08	11	16.42	15	12.00	0	0.00	
	Mais de 10 <sup>6</sup> células	8	11.27	7	10.45	7	5.60	1	7.69	
Complexo azul	Não detectado	9	12.68	5	7.46	9	7.20	0	0.00	0.736
	Menos de 10 <sup>5</sup> células	11	15.49	5	7.46	19	15.20	2	15.38	
	Aproximadamente 10 <sup>5</sup> células	8	11.27	13	19.40	25	20.00	5	38.46	
	Entre 10 <sup>5</sup> e 10 <sup>6</sup> células	23	32.39	24	35.82	35	28.00	4	30.77	
	Aproximadamente 10 <sup>6</sup> células	15	21.13	17	25.37	30	24.00	2	15.38	

Tabela 9 - Comparação das proporções de células bacterianas e Sangramento à sondagem entre os tempos T1 e T2.

(conclusão)

		Sangramento à sondagem									
		T1					T2				
		Ausente		Presente		Valor p*	Ausente		Presente		Valor p*
		n	%	n	%		n	%	n	%	
Complexo azul	Mais de 10 <sup>6</sup> células	5	7.04	3	4.48	0.412	7	5.60	0	0.00	0.736
	Não detectado	5	7.04	1	1.49		7	5.60	1	7.69	
	Menos de 10 <sup>5</sup> células	12	16.90	11	16.42	0.259	16	12.80	3	23.08	0.700
	Aproximadamente 10 <sup>5</sup> células	14	19.72	7	10.45		34	27.20	2	15.38	
Complexo cinza	Entre 10 <sup>5</sup> e 10 <sup>6</sup> células	17	23.94	25	37.31		46	36.80	4	30.77	
	Aproximadamente 10 <sup>6</sup> células	18	25.35	17	25.37		19	15.20	3	23.08	
	Mais de 10 <sup>6</sup> células	5	7.04	6	8.96		3	2.40	0	0.00	

(\*) Testes do Qui-quadrado de Pearson e Exato de Fisher; (-) Não foi computado na estatística porque não houveram casos

T1- Término do tratamento; T2- Seis meses após a remoção do aparelho fixo

## 6 DISCUSSÃO

O tratamento ortodôntico tem sido associado a alterações, incluindo a reabsorção radicular, o desenvolvimento de lesões de mancha branca ou de doenças

periodontais, com reações inflamatórias nos tecidos gengivais e modificações no periodonto de suporte e de sustentação (BOLLEN et al., 2008; RISTIC et al., 2008).

Vários estudos têm investigado as alterações microbiológicas e periodontais envolvidas com o tratamento ortodôntico (KIM et al., 2010; VAN GASTEL et al., 2011; MARTHA et al., 2013; TORLAKOVIC et al., 2013; PAN et al., 2017). Nesta pesquisa clínica, foi realizado uma avaliação e comparação dos parâmetros clínicos periodontais e da microbiota subgengival em pacientes adolescentes ao término do tratamento ortodôntico com aparelho fixo metálico convencional, e 06 meses após à conclusão do tratamento (LIU et al., 2011). Muitos trabalhos avaliam os pacientes por um período de até 03 meses após a remoção do aparelho ortodôntico (SALLUM et al., 2004; CHOI et al., 2009; YAÑEZ-VICO et al., 2015; KIM et al., 2016; PAN et al., 2017), sem no entanto justificar por que, e se esse período de avaliação após a remoção da aparatologia ortodôntica é suficiente para determinar o impacto da colocação de aparelhos fixos ortodônticos na saúde periodontal. No entanto, o período de acompanhamento de 06 meses após a remoção dos aparelhos ortodônticos, faz-se necessário e é indicado. Durante o tratamento ortodôntico, interferências oclusais maiores são eliminadas e, aparelhos de contenção após a remoção do aparelho fixo são utilizados. Seis meses após o término do tratamento, indica-se a realização de ajuste oclusal, para corrigir pequenos erros e promover melhor estabilidade oclusal e mandibular. Durante esse período, ocorre aumento da quantidade de contatos oclusais, melhorando a qualidade dos resultados do tratamento ortodôntico (BRANDÃO; BRANDÃO, 2008). Ainda em relação ao período de avaliação pós tratamento ortodôntico, pacientes com doença periodontal avançada podem ter indicação de extrações dentárias anteriormente ao tratamento ortodôntico. Entretanto, esses elementos podem ser úteis com ancoragem

ortodôntica se a inflamação periodontal for controlada. Após o tratamento ortodôntico, há um período de seis meses de estabilização antes da reavaliação da condição periodontal. Ocasionalmente, o dente irrecuperável pode estar tão restabelecido após o tratamento ortodôntico que ele é mantido (KOKICH, 2007).

Neste estudo, os dentes-índice utilizados são preconizados pela OMS para avaliação da condição periodontal de indivíduos com idade biológica inferior a 20 anos de idade (WHO, 1997). Não há na literatura, um protocolo ou padronização de quais dentes ou sítios devem ser avaliados. Optou-se por não avaliar pacientes com a presença de bandas ortodônticas. No estudo de Kim et al. (2010), quando comparou-se dentes com bandas e elementos com tubos ortodônticos, observou-se que o Sangramento à sondagem nos primeiros era estatisticamente maior que aqueles com acessórios colados à superfície dentária. Al-Anezi (2015) identificou maiores valores do Sangramento à sondagem e do Índice de Profundidade à sondagem associados às bandas ortodônticas.

No presente estudo, os indivíduos participantes da pesquisa foram selecionados por amostragem não-probabilística por conveniência, sendo a amostra composta por 6 pacientes do sexo masculino e 17 do sexo feminino, em idade de 10 a 19 anos. Durante a puberdade, a inflamação gengival e o aumento gengival podem ser mais prevalentes. A alta concentração de hormônios sexuais (estrógeno e progesterona) no tecido gengival, saliva e fluido crevicular gengival poderia exacerbar a resposta tecidual, e os hormônios esteróides parecem ser capazes de influenciar a flora bacteriana normal induzindo alterações na flora subgengival (AUFDEMORTE; SHERIDAN, 1981; SCHROEDER et al., 2005; DUPERON; TAKEI, 2007). Esses fatores hormonais são capazes de modificar o progresso, a intensidade e a resposta

da doença periodontal ao tratamento (SPEZZIA, 2018). A maioria das manifestações mais frequentes nos adolescentes são sangramento e inflamação das áreas interproximais, e os picos da incidência da gengivite marginal ocorrem entre 11 e 13 anos de idade, diminuindo levemente após a puberdade (MORDÉER; WONDIMU, 2000). A exacerbação desses quadros inflamatórios pode, no entanto, ser revertida e controlada quando utilizado corretamente técnicas de higienização bucal (SPEZZIA, 2016).

No presente estudo, as amostras subgengivais foram processadas e analisadas pelo método “Checkerboard DNA-DNA Hybridization” (SOCRANSKY et al., 1994). Embora considerado um método que requeira equipamento e perícias laboratoriais sofisticados, é altamente específico, e particularmente aplicável por não exigir bactérias viáveis (SANZ et al., 2007). Além disso, essa técnica é considerada um método eficiente, econômico e sensível para a detecção de espécies bacterianas, e permite o processamento simultâneo das amostras, nas quais um grande número e múltiplas espécies podem ser analisadas em condições similares (DAHLEN et al., 2015). Na literatura estudos utilizam a tecnologia com PCR padrão (SALLUM et al., 2004; TORLAKOVIC et al., 2013; SARGOLZAIE et al., 2014; GUO et al., 2016; PAN et al., 2017). Apesar de demonstrar altas sensibilidade e especificidade para identificação de patógenos periodontais, essa técnica é incapaz de quantificá-los precisamente em amostras clínicas (SANZ et al., 2007).

Nesse estudo foi demonstrado a presença de inflamação gengival associado ao tratamento ortodôntico (MÁRTHA et al., 2013; SARGOLZAIE et al., 2014). Após a remoção do aparelho fixo, foi possível observar um impacto positivo nos parâmetros clínicos periodontais, porém essas alterações não foram reversíveis para todos os



sítios avaliados. Resultados semelhantes foram encontrados por Pan et al (2017) em seu estudo com 18 indivíduos adolescentes. Liu et al (2011) avaliaram 20 pacientes com idade média de  $17,6 \pm 5,68$  anos, e concluíram que nem mesmo seis meses após a remoção do aparelho fixo ortodôntico, parâmetros clínicos indicativos de saúde periodontal (Índice de placa, Índice gengival e Índice de profundidade à sondagem) não retornaram à condição inicial. Yañez-Vico et al. (2015) verificaram redução significativa nos índices clínicos periodontais avaliados (Índice de placa visível e Índice de sangramento gengival marginal) 10 dias após a remoção do aparelho fixo ortodôntico. Justifica-se esse estudo não ter sido avaliado o Nível de inserção clínica na revisão sistemática da literatura e metanálise de Papageorgiou et al. (2018) a qual, baseada em evidências de estudos longitudinais prospectivos, verificou-se pouco ou nenhum efeito estatisticamente significativo sobre o Nível de Inserção clínica em pacientes adolescentes com má oclusão.

A quantidade de patógenos possui o papel principal na relação com a doença, e não a sua presença. O limiar para os periodontopatógenos entre a saúde e a doença é desconhecido e dependente do indivíduo (QUIRYNEN et al., 2007). As diferenças entre os estados de saúde e doença periodontal são evidentes quando os morfotipos das bactérias de locais saudáveis e doentes são avaliados. As bactérias de locais com periodonto saudável consistem, predominantemente em cocos e bastonetes gram-positivos facultativos (aproximadamente 75%) (SLOTS, 1979). São primariamente espécies gram-positivas facultativas e membros do gênero *Streptococcus* e *Actinomyces* (p. ex., *S. sanguis*, *S. mitis*, *A. viscosus*, *A. naeslundii*). Pequenas proporções de espécies gram-negativas também são encontradas e as mais frequentes são *P. intermedia*, *F.nucleatum* e espécies de *Capnocytophaga*, *Neisseria* e *Veillonella*. Determinadas espécies de bactérias protegem ou

beneficiam o hospedeiro, incluindo *S. sanguis*, *Veillonella parvula* e *C. ochraceus* (SIMONSSON, 1989).

A microbiota da gengivite induzida por placa dentária consiste em proporções aproximadamente iguais de espécies gram-positivas (56%) e gram-negativas (44%), assim como de microrganismos facultativos (59%) e anaeróbicos (41%) 228 As espécies gram-positivas que predominam incluem *S. mitis*, *S. sanguis*, *S. intermedius*, *S. oralis*, *A. viscosus*, *A. naseledii* e *P. micros*. Os microrganismos gram-negativos são predominantemente *F. nucleatum*, *P. intermedia* e *V. parvula*, bem como espécies de *Haemophilus spp.*, *Capnocytophaga spp.* e *Campylobacter spp.* (SLOTS, 1979; MOORE; MOORE, 1994).

A microbiota associada à periodontite localizada é predominantemente composta de bastonetes gram-negativos, capnofílicos e anaeróbicos (SLOTS, 1979). Todos os locais doentes abrigam Aa. Outros microrganismos encontrados em níveis significativos incluem *P. gingivalis*, *E. corrodens*, *C. rectus*, *F. nucleatum* (QUIRYNEN et al., 2007).

Os estudos que investigam as alterações clínicas periodontais e microbiológicas decorrentes da colocação de aparelhos fixos ortodônticos avaliam a frequência das bactérias *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Actinomyces actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens* (SALLUM et al. 2004; RISTIC et al., 2008; CHOI et al., 2009; THORNBERG et al., 2009; LIU et al., 2011; VAN GASTEL et al., 2011; KIM et al., 2012; ANDRUCIOLI et al., 2012; TORLAKOVIC et al., 2013; YAÑEZ-VICO et al., 2015; PAN et al., 2017), visto que essas são as bactérias que mais se destacam na patogênese das doenças periodontais (AMAR;

LEEMAN, 2013; NISHIYAMA, 2013). Diferentes trabalhos com semelhantes metodologias de pesquisa (NARANJO et al., 2006; CHOI et al., 2009; THORNBERG et al., 2009; LIU et al, 2009; YAÑEZ-VICO et al., 2015; PAN et al., 2017), avaliaram a microbiota subgengival em sítios periodontais considerados saudáveis determinando a frequência inclusive de periodontopatógenos, como *Aa.*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *F. nucleatum* e *T. forsythia*.

Na avaliação da microbiota subgengival nesta pesquisa, foi observado que seis meses após a remoção do aparelho ortodôntico há redução estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ) da bactéria *Fusobacterium nucleatum*, microrganismo envolvido no processo de inflamação gengival em pacientes ortodônticos, resultado semelhante ao encontrado nos estudos de Thornberg et al. (2009). As demais espécies mantiveram contagem semelhantes nos períodos avaliados (T1 e T2), assim como Pan et al. (2017), que não verificaram redução significativa de *A. actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* e *Tanerella forsythia*. A semelhança na frequência de bactérias presentes em pacientes em tratamento ortodôntico e após a remoção do aparelho se opõe aos encontrados nas pesquisas de Sallum et al. (2004), Choi et al. (2009), Liu et al. (2011) com a redução significativa para a presença de bactérias, embora não retornasse para os índices registrados antes do início do tratamento.

Neste trabalho, diferentemente dos apresentados até então na literatura, foi realizado uma comparação entre Índices peridontais relacionados com a periodontite e a contagem de células bacterianas, o que permitiu observar que ainda que haja redução nos índices periodontais, seis meses após a remoção do aparelho fixo

ortodôntico, a contagem total de microrganismos apresenta proporções semelhantes ao período em que o paciente estava em tratamento ortodôntico.

## 6.1 PERSPECTIVAS FUTURAS

Um dos grandes desafios na Periodontia é encontrar um teste de diagnóstico precoce que facilite o diagnóstico e prevenção das doenças periodontais. Avanços nas pesquisas de diagnóstico periodontal estão direcionando os métodos para que o risco e a atividade da doença possam ser identificados e quantificados por meio de biomarcadores em amostras de fluido crevicular gengival, soro e saliva (TABA et al., 2005). Estudos centrados na imunopatogênese da doença periodontal têm apresentado interesse no papel das citocinas, como mediadores capazes de governar a atividade biológica de destruição em tecidos inflamados, sendo a determinação dos níveis desses biomarcadores inflamatórios em fluidos biológicos bons indicadores da atividade inflamatória (COSTA et al., 2010; SEXTON et al., 2011). As citocinas presentes no fluido gengival, e que são consideradas marcadores diagnósticos em potencial para doença periodontal são: Interleucina 1- $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ), Interleucina 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), Interleucina 6 (IL-6), Interleucina 8 (IL-8) e Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- $\alpha$ ) (GRAVES et al., 1998). A maioria dos novos testes de diagnóstico para doença periodontal tem o objetivo de estudar a resposta inflamatória do hospedeiro utilizando o fluido gengival crevicular (FGC). Este método de análise representa um diagnóstico não somente da alteração instalada, como também apresenta valor preditivo quando consegue identificar a condição de risco para determinada doença (ULKER et al., 2008).

Quando se refere ao controle químico da placa bacteriana, a clorexidina (CHX), considerada coadjuvante na higiene dentária e adjuvante na doença periodontal, é o agente químico mais amplamente empregado (SHETTY et al., 2013). No entanto, seu uso diário a longo prazo (períodos maiores que 30 dias) não é recomendado por apresentar efeitos adversos locais, como: pigmentação acastanhada em superfícies dentárias e dorso da língua, descamação e perda da sensibilidade oral, dor na mucosa, interferência na sensação gustativa como alterações no sabor dos alimentos, sabor desagradável e gosto amargo (LIM; KAM, 2008). A fim de minimizar essas alterações, sem comprometer a sua eficácia clínica, diferentes substâncias foram adicionadas à CHX. Mais recentemente, a adição do metabissulfito de sódio e do ácido ascórbico deu origem ao sistema de antidescoloração ADS (Anti-Discoloration System) (BERNARDI et al., 2004), que vem apresentando resultados promissores (LI et al., 2014; MARRELLI; AMANTEA, TATULLO, 2015).

Assim, têm-se como perspectiva em prosseguimento a esse estudo, avaliar por períodos maiores, a condição clínica periodontal e a microbiota subgingival, e os biomarcadores imune-inflamatórios relacionados com a progressão da doença periodontal presentes no fluido do sulco gengival, analisando se as alterações observadas são reversíveis e regridem em níveis de saúde periodontal. Além disso, instituir um protocolo de orientação de higiene bucal aliado ao uso de solução de digluconato de clorexidina a 0,12% com o sistema de antidescoloração ADS.

## **7 CONCLUSÃO**

Baseados nos resultados do presente estudo, conclui-se:

A) Há uma associação entre a presença de inflamação gengival e a presença de aparelho fixo. Seis meses após conclusão do tratamento ortodôntico houve redução do Índice de placa visível, Índice de sangramento gengival marginal, Índice de profundidade à sondagem e Sangramento à sondagem.

B) Ao avaliar as proporções e frequências das 40 bactérias agrupadas em 5 complexos microbianos (vermelho, laranja, amarelo, verde e roxo) e "outras espécies" verificou-se semelhanças nas amostras de biofilme subgengival em T0 e T1, com maior frequência de microrganismos do complexo laranja.

### REFERÊNCIAS<sup>3</sup>

- AINAMO, J.; BAY, I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. **Int Dent J**, London, v. 25, n. 4, p. 229-35, 1975.
- AL-ANEZI, S. A. The effect of orthodontic bands or tubes upon periodontal status during the initial phase of orthodontic treatment. **Saudi Dent J**, Riyadh v. 27, n.3, p. 120-124, 2015.
- AMAR, S.; LEEMAN, S. Periodontal innate immune mechanisms relevant to obesity. **Mol. Oral Microbiol.**, v. 28, n. 5, p. 331-341, 2013.
- ANDRUCIOLI, M. C. D.; NELSON FILHO, P.; MATSUMOTO, M. A. N.; SARAIVA, M. C. P.; FERES, M.; DE FIGUEIREDO, L. C.; MARTINS, L. P. Molecular detection of in-vivo microbial contamination of metallic orthodontic brackets by checkerboard DNA-DNA hybridization. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, St. Louis, v.141, n.1, p. 24-29, 2012.
- ANHOURY, P.; NATHANSON, D.; HUGHES, C. V.; SOCRANSKY, S.; FERES, M. Microbial profile on metallic and ceramic bracket materials. **Angle Orthod**, Appleton, v. 72, n.4, p. 338-343, 2002.
- ARMITAGE, G. C.; ROBERTSON, P. B. The biology, prevention, diagnosis and treatment of periodontal diseases: scientific advances in the United States. **J. Am. Dent. Assoc.**, v. 140, p. 36S-43S, 2009.
- AUFDEMORTE, T. B.; SHERIDAN, P. J. Nuclear uptake of sex steroids in gingiva of the baboon. **J Periodontol**, Chicago, v. 52, n. 8, p. 430-434, 1981.
- BECKER, J. D.; ARBES JR, S. J. Epidemiologia das doenças gengivais e periodontais. In: CARRANZA JR, F., NEWMAN, M. G. **Periodontia Clínica**. São Paulo: Elsevier, 10ed. 2007. cap. 8, p. 110- 131.
- BERNARDI, F.; PINCELLI, M. R.; CARLONI, S.; GATTO, M. R.; MONTEBUGNOLI, L. Chlorhexidine with an Anti Discoloration System. A comparative study. International. **Int J Dent Hyg**, Oxford, v. 2, n. 3, p. 122-126, 2004.
- BRANDÃO, R. C. B.; BRANDÃO, L. B. C. Ajuste oclusal na Ortodontia: por que, quando e como? **R Dental Press Ortodon Ortop Facial**. Maringá, v. 13, n. 3, p. 124-156, 2008.
- BOLLEN, A. M.; CUNHA-CRUZ, J.; BAKKO, D. W.; HUANG, G. J.; HUJOEL, P. P. The effects of orthodontic therapy on periodontal health - A systematic review of controlled evidence. **J Am Dent Assoc**, Rome, v. 139, n. 4, p. 413-422, 2008.
- CHOI, D. S.; CHA, B. K.; JOST-BRINKMANN, P. G.; LEE, S. Y.; CHANG, B. S.; JANG, I.; SONG, J. S. Microbiologic changes in subgingival plaque after removal of fixed orthodontic appliances. **Angle Orthod**, Appleton, v. 79, n. 6, p. 1149-1155, nov., 2009.
- COSTA, P. P.; TREVISAN, G. L.; MACEDO, G. O.; PALIOTO, D. B.; SOUZA, S. L.; GRISI, M. F.; NOVAES, A. B. JR.; TABA, M. JR. Salivary interleukin-6, matrix

<sup>3</sup> Normalização de Referências: NBR 6023:2002 / Universidade Federal do Espírito Santo (UFES).

- metalloproteinase-8, and osteoprotegerin in patients with periodontitis and diabetes. **J Periodontol**, Chicago, v. 81, n. 3, p. 384-391, 2010.
- DAHLEN, G.; PREUS, H. R.; BAELUM, V. Methodological issues in the quantification of subgingival microorganisms using the checkerboard technique. **J. Microbiol. Methods**, Amsterdam, v. 110, p. 68-77, 2015.
- DARVEAU, R. P. Periodontitis: a polymicrobial disruption of host homeostasis. **Nat. Rev. Microbiol.**, London, v. 8, n. 7, p. 481-490, 2010.
- DUPERON, D.; TAKEI, H. H. Doenças gengivais na infância. In: CARRANZA JR, F., NEWMAN, M. G. **Periodontia Clínica**. São Paulo: Elsevier, 10ed. 2007. cap. 25, p. 404-410.
- FALTERMEIER, A.; BURGERS, R.; ROSENTRITT, M. Bacterial adhesion of *Streptococcus mutans* to orthodontic adhesives with various filler-volume fractions. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, St. Louis, v.132, n.6, 2007.
- FRANCO, M. M. P.; SOUSA, D. F. B. S.; RIBEIRO, C. C.; PEREIRA, A. F. V.; BENATTI, B. B.; ALVES, C. M. C. Profundidade do sulco gengival nas dentições decídua, mista e permanente. **Revista de Pesquisa em Saúde**, São Luiz, v. 14, n. 3, p. 156-159, 2013.
- MOREIRA, L. F. **Avaliação da Microbiota Bucal Antes e Após a Instalação de Aparelhos Ortodônticos**. 2010. 66f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Programada de Pós-graduação em Ciências da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília.
- FRIAS, A. C. ; ANTUNES, J. L. F.; NARVAL, P. C. Precisão e validade de levantamentos epidemiológicos em saúde bucal: cárie dentárias na cidade de São Paulo. **Rev Bras Epidemiol**, São Paulo, v. 7, n. 2, p. 144-154, 2004.
- GENCO, R. J.; BORGNACKE, W. S. Risk factors for periodontal disease. **Periodontol**. 2000, v. 62, n. 1, p. 59-94, 2013.
- GHIJSELINGS, E.; COUCKE, W.; VERDONCK, A.; TEUGHEL, W.; QUIRYNEN, M.; PAUWELS, M.; CARELS, C.; VAN GASTEL, J. Long-term changes in microbiology and clinical periodontal variables after completion of fixed orthodontic appliances. **Orthod Craniofac Res**, Oxford, v. 17, n. 1, p. 49-59, feb., 2014.
- GRAVES, D.; DELIMA, A. J.; ASSUMA, R.; AMAR, S.; OATES, T.; COCHRAN, D. Interleukin-1 and tumor necrosis factor antagonist inhibit the progression of inflammatory cell infiltration toward alveolar bone in experimental periodontitis. **J Periodontol**, Chicago, v.69, p.1419- 1425, 1998.
- GUO, L.; FENG, Y.; GUO, H. G.; LIU, B. W.; ZHANG, Y. Consequences of orthodontic treatment in malocclusion patients: clinical and microbial effects in adults and children. **BMC Oral Health**, London, v. 16, p. 112-119, 2016.
- GUO, R.; LIN, Y.; ZHENG, Y.; LI, W. The microbial changes in subgingival plaques of orthodontic patients: a systematic review and meta-analysis of clinical trials. **BMC Oral Health**, London, v. 17, p. 90-100, 2017.
- HAFFAJEE, A. D., SOCRANSKY, S. S. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. **Periodontol 2000**, Copenhagen, v. 5, n.1, p.78-111, jun., 1994.



HAFFAJEE, A. D.; YASKELL, T.; TORRESYAP, G.; TELES, R.; SOCRANSKY, S. S. Comparison between polymerase chain reaction-based and checkerboard DNA hybridization techniques for microbial assessment of subgingival plaque samples. **J. Clin. Periodontol.**, Malden, v. 36, n. 8, p. 642-649, 2009.

HINRICHS, J. E. O papel do cálculo dentário e de outros fatores predisponentes locais. In: NEWMAN, M. G.; TAKEI, H. R.; KLOKKEVOLD, P. R.; CARRANZA, F. A. **Carranza - Periodontia Clínica**. Rio de Janeiro: Elsevier, 11 ed., 2011.

JURELA, A.; REPIC, D.; PEJDA, S.; JURIC, H.; VIDA KOVIC, R.; MATIC, I.; BOSNJAK, A. The effect of two brackets types on the salivary levels of *S. mutans* and *S. sobrinus* in the early phase of orthodontic treatment. **Angle Orthod**, Appleton, v.83, n.1, p. 140-145, 2013.

KIM, K.; HEIMISDOTTIR, K.; GEBAUER, U.; PERSSON, G.R. Clinical and microbiological findings at sites treated with orthodontic fixed appliances in adolescents. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, St. Louis, v. 137, n. 2, p. 223-228, 2010.

KIM, S. H.; CHOI, D. S.; JANG, I.; CHA, B. K.; JOST-BRINKMANN, P. G.; SONG, J. S. Microbiologic changes in subgingival plaque before and during the early period of orthodontic treatment. **Angle Orthod**, Appleton, v. 82, n. 2, p. 254- 260, 2012.

KIM, K.; JUNG, W. S.; CHO, S.; AHN, S. J. Changes in salivary periodontal pathogens after orthodontic treatment: An vivo prospective study. **Angle Orthod**, Appleton, v. 86, n. 6, 2016.

KOKICH, V. G. Papel auxiliar na terapia ortodôntica. In: CARRANZA JR, F., NEWMAN, M. G. **Periodontia Clínica**. São Paulo: Elsevier, 10ed. 2007. cap. 57, p. p856- 870.

LANG, N. P.; BARTHOLD, P. M. Periodontal health. **J. Clin. Periodontol.**, Malden, v. 45, n. 20, 2018. Disponível em: <<http://https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/jcpe.12936/>>. Acesso em: 11 dezembro 2018.

LIM, K. S.; KAM, P. C. Chlorhexidine--pharmacology and clinical applications. **Anaesth Intensive Care**, Sidney, v. 36, n. 4, p.502-512, 2008.

LIU, H.; SUN, J.; DONG, Y.; LU, H.; ZHOU, H.; HANSEN, F.; SONG, X. Periodontal health and relative quantity of subgingival *Porphyromonas gingivalis* during orthodontic treatment. **Angle Orthod**, Appleton, v. 81, n. 4, p. 609-615, jul., 2011.

LIU, P.; WANG, J.; GUO, Y.; ZHANG, Y.; XIAO, S. Detection of *Fusobacterium nucleatum* and fadA Adhesin gene in patients with orthodontic gingivitis and non-orthodontic periodontal inflammation. **PLoS ONE**, San Francisco, v. 9, n. 1, 2014.

LI, W.; WANG, R. E.; FINGER, M.; LANG, N. P. Evaluation of the antigingivitis effect of a chlorhexidine mouthwash with or without an antidiscoloration system compared to placebo during experimental gingivitis. **J Investig Clin Dent**, Richmond, v. 5, n. 1, p.15-22, 2014.

LUCENA, G. A. B. **Análise microbiológica da cavidade interna de implantes dentais osseointegrados utilizando o checkerboard DNA-DNA hybridization**. 2014. 56 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Rio Grande do Norte.

MARRELLI, M.; AMANTEA, M.; TATULLO, M. A comparative, randomized, controlled study on clinical efficacy and dental staining reduction of a mouthwash containing Chlorhexidine 0.20% and Anti Discoloration System (ADS). **Ann Stomatol**, Roma, v. 6, n. 2, p.35-42, 2015.

MÁRTHA, K.; MEZEI, T.; JÁNOSI, K. A histological analysis of gingival condition associated with orthodontic treatment. **Rom J Morphol Embryolog**, Bucuresti, v. 54, n. 2, p. 823-827, 2013.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. **Projeto SB2000: Manual de calibração de examinadores**. Brasília: Ministério da Saúde, 2001.

MOORE, W. E.; MOORE, L. V. The bacteria of peridontal diseases. **Periodontol 2000**, Copenhagen, v.5, p. 66-77, 1994.

MORDÉER, T.; WONDIMU, B. Periodontal diseases in children and adolescents. **Dent Clin North Am**, Philadelphia, v. 44, n. 3, p.633-58, 2000.

NARANJO, A. A.; TRIVIÑO, M. M.; JARAMILLO, A.; BETANCOURTH, M.; BOTERO, J. E. Changes in the subgingival microbiota and periodontal parameters before and 3 months after bracket placement. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, St. Louis, v. 130, n. 3, p. 275.e17-275.e22., 2006.

NELSON-FILHO, P.; CARPIO-HORTA, ANDRUCIOLI, M. C. D.; FERES, M.; DA SILVA, R. A. B.; PAULA-SILVA, F. W. G.; ROMANO, F. Molecular detection of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* on metallic brackets by the checkerboard DNA-DNA hybridization technique. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, St. Louis, v. 142, v. 4, p. 481-486, 2012.

NISHIYAMA, S. A. B. **Possíveis impactos da cirurgia bariátrica sobre a saúde periodontal de indivíduos obesos**. Determinação do perfil microbiológico e imunológico. 2013. 100f. Tese. (Doutorado em Ciências) - Programa de pós-graduação em Microbiologia, Universidade de São Paulo. São Paulo.

OPPERMAN, R. V., ROSING, C. K. **Periodontia ciência e clínica**. São Paulo, Artes Médicas, 2001.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE. **Levantamento epidemiológico básico de saúde bucal**. 3ª ed. São Paulo: Santos; 1991.

PAN, S.; LIU, Y.; ZHANG, L.; LI, S.; ZHANG, Y., LIU, J.; WANG, C.; XIAO, S. Profiling of subgingival plaque biofilm microbiota in adolescents after completion of orthodontic therapy. **PloS ONE**, San Francisco, v. 12, n. 2, 2017.

PAOLANTONIO, M.; PEDRAZZOLI, V.; MURRO, C.; PLACIDO, G.; PICCIANI, C.; CATAMO, G.; LUCCA, M.; PICCOLOMINI, R. Clinical significance of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in young individuals during orthodontic treatment. **J. Clin. Periodontol.**, Malden, v. 24, p. 610-617, 1997.

PASTER, B. J. et al. Bacterial diversity in human subgingival plaque. **J. Bacteriol.**, v. 183, n. 12, p. 3770-3783, 2001.

PREOTEASA, C. T.; IONESCU, E.; PREOTEASA, E. **Risks and complications associated with orthodontic treatment**. In: Orthodontics-Basic Aspects and Clinical Considerations. INTECH Open Access Publisher, 2012. cap. 18, p. 403-428. Disponível em: <http://

cdn.intechopen.com/pdfs/31388/InTechRisks\_and\_complications\_associated\_with\_o  
rthodontic\_treatment.pdf>. Acesso em 08 ago. 2016.

PRESHAW, P. M.; TAYLOR, J. J. Patogênese Periodontal. In: NEWMAN, M. G.; TAKEI, H. R.; KLOKKEVOLD, P. R.; CARRANZA, F. A. **Carranza - Periodontia Clínica**. Rio de Janeiro: Elsevier, 11 ed., 2011.

QUIRYNEN, M.; TEUGHEL, W.; HAAKE, S. K.; NEWMAN, M. G. Microbiologia das doenças periodontais. In: CARRANZA JR, F., NEWMAN, M. G. **Periodontia Clínica**. São Paulo: Elsevier, 10ed. 2007. cap. 9, p. 134-169.

REVELLE, W. **Psych: Procedures for Personality and Psychological Research**. 2017. Illinois: North Western University Evanston. Disponível em: <CRAN.R-project.org/package=psychVersion=1.7.8>.

R CORE TEAM: **A language and environment for statistical computing**. 2017. Viena, Áustria: R Foundation for Statistical Computing. Disponível em: <www.R-project.org>.

RISTIC, M.; VLAHOVIC SVABIC, M.; SASIC, M.; ZELIC, O. Clinical and microbiological effects of fixed orthodontic appliances on periodontal tissues in adolescents. **Orthod Craniofacial Res**, Oxford, v. 10, n. 4, p. 187-195, 2007.

RISTIC, M.; VLAHOVIC SVABIC, M.; SASIC, M.; ZELIC, O. Effects of fixed orthodontic appliances on subgingival microflora. **Int J Dent Hyg**, Oxford, v. 6, n. 2, p. 129-136, 2008.

SALLUM, E. J.; NOUER, D. F.; KLEIN, M. I.; GONÇALVES, R. B.; MACHION, L.; SALLUM, A. W.; SALLUM, E. A. Clinical and microbiologic changes after removal of orthodontic appliances. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, St. Louis, v. 126, n. 3, p. 363-366, 2004.

SANZ, M.; NEWMAN, M. G.; QUIRYNEN, M. Técnicas diagnósticas avançadas. In: CARRANZA JR, F., NEWMAN, M. G. **Periodontia Clínica**. São Paulo: Elsevier, 10ed. 2007. cap. 37, p. 579-601.

SARGOLZAIE, N.; AMEL-JAMEDAR, S.; MOKHTARI, M.R.; ARAB, H.R. PIROOZI, S. Evaluation of Subgingival Dental Plaque Microbiota Changes In Fixed Orthodontic Patients with Syber Green Real Time PCR. **J Dent Mater Tech**, Mashhad, v. 3, n. 3, p. 123-127, 2014.

SCHROEDER, M. D. S.; ODEBRECHT, C. M.; CORDEIRO, M. C. B.; CORREA, C. G. M. M. L. Os efeitos dos fatores hormonais nos tecidos periodontais. **RSBO**, v. 2, n. 2, p.49-53, 2005.

SEXTON, W. M.; LIM, Y.; KRYSCIO, R. J.; DAWSON, D. R.; EBERSOLE, J. L.; MILLER, C. S. Salivary biomarkers of periodontal disease in response to treatment. **J. Clin. Periodontol.**, Malden v. 38, n. 5, p. 434-441, 2011.

SHETTY, P. R.; SETTY, S. B.; KAMAT, S. S.; ALDARTI, A. S. LESS, S. S. Comparison of the antigingivitis and antiplaque efficacy of the herboral (herbal extract) mouthwash with chlorhexidine and listerine mouthwashes: a clinical study. **Pakistan Oral & Dental Journal**, Pakistan, v. 33, p.76-81, 2013.

SILNESS, J.; LOE, H. Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. **Acta Odontol. Scand.**, Stockholm, v. 22, 1964.

- SIMONSSON, T. Aspects of dental plaque formation with special reference to colloid-chemical phenomena. **Swed Dent J Suppl.**, Sweden, v. 58, p. 1-67, 1989.
- SLOTS, J. Subgingival microflora and periodontal disease. **J. Clin. Periodontol.**, Malden, v.6, n. 5, p. 351-382, 1979.
- SOCRANSKY, S. S.; SMITH, C. L.; MARTIN, L.; PASTER, B. L.; DEWHIRTS, F. E.; LEVIN, A. E. "Checkerboard" DNA-DNA hybridization. **BioTechniques**, Naticks, v. 17, n. 4, p. 788-792, 1994.
- SOCRANSKY, S. S.; HAFFAJEE, A. D.; CUGINI, M. A.; SMITH, C.; KENT JR, R.L. Microbial complexes in subgingival plaque. **J. Clin. Periodontol.**, Malden, v. 25, n. 2, p. 134-144, 1998.
- SOCRANSKY, S. S.; HAFFAJEE, A.D. Periodontal microbial ecology. **Periodontol 2000**, Copenhagen, v.38, 135-187, 2005.
- SPEZZIA, S. Inter-relação entre Hormônios Sexuais e Doenças Periodontais nas Mulheres. **Braz J Periodontol**, v. 26, n. 2, p.40-47, 2016.
- SPEZZIA, S. Alterações periodontais na adolescência. **Braz J Periodontol**, v. 28, n. 1, p. 43-47, 2018.
- TABA JR, M.; KINNEY, J.; KIM, A. S.; GIANNOBILE, W. V. Diagnostic biomarkers for oral and periodontal diseases. **Dent. Clin. North. Am.**, Philadelphia, v. 49, n. 3, p. 551-571, 2005.
- THORNBERG, M. J.; RIOLO, C. S.; BAYIRLI, B.; RIOLO, M. L.; VAN TUBERGEN, E. A.; KULBERSH, R. Periodontal pathogen levels in adolescents before, during, and after fixed orthodontic appliance therapy. **Am J Orthod Dentofacial Orthop**, St. Louis, v. 135, p. 95-98, 2009.
- TREVIZANI FILHO, E.; SANI NETO, J. Manual de Periodontia. Editora Atheneu. 2002, 74p. São Paulo.
- TOPALOGLU-AK, A.; ERTUGRUL, F.; EDEN, E.; ATES, M.; BULUT, H. Effect of orthodontic appliances on oral microbiota - 6 month follow up. **J Clin Pediatr Dent**, Birmingham, v. 35, n. 4, p.4433-4436, 2011.
- TORLAKOVIC, L.; PASTER, B.J.; OGAARD, B.; OLSEN, I. Changes in the supragingival microbiota surrounding brackets of upper central incisors during orthodontic treatment. **Acta Odontol. Scand**, Stockholm, v. 71, n. 6, p.1547-1554, nov., 2013.
- UZUNER, F. D.; KAYGISIZ, E.; CANKAYA, Z. T. Effect of the bracket types on microbial colonization and periodontal status. **Angle Orthod**, Appleton, v. 84, n. 6, p. 1062-1067, 2014.
- ULKER, A. E.; TULUNOGLU, O.; CAN, M.; DEMIRTAS, S. The evaluation of cystatin C, IL-1beta, and TNF-alpha levels in total saliva and gingival crevicular fluid from 11- to 16-year-old children. **J Periodontol**, Chicago, v. 79, n. 5, p. 854-860, 2008.
- VAN GASTEL, J.; QUIRYNEN, M.; TEUGHEL, W.; PAUWELS, M.; COUCKE, W.; CARELS, C. Microbial adhesion on different bracket types in vitro. **Angle Orthod**, v. 79, n. 5, p. 915-921, 2009.
- VAN GASTEL, J.; QUIRYNEN, M.; TEUGHEL, W.; COUCKE, W.; CARELS, C. Longitudinal changes in microbiology and clinical periodontal parameters after

removal of fixed orthodontic appliances. **Eur J Orthod**, Oxford, v. 33, n. 1, p. 15-21, feb., 2011.

YÁÑEZ-VICO, R. M.; IGLESIAS-LINARES, A.; BALLESTA-MUDARRA, S.; ORTIZ-ARIZA, E.; SOLANO-REINA, E.; PEREA, E. J. Short-term effect of removal of fixed orthodontic appliances on gingival health and subgingival microbiota: A prospective cohort study. **Acta Odontol. Scand.**, Stockholm v. 73, n. 7, p. 496-502, 2015

WADE, W.G. The oral microbiome in health and disease. **Pharmacol. Res.**, London, v.69, n.1, p. 137-143, 2013.


WILSON, M. Bacterial biofilms and human disease. **Sci Pro**, Oxford, v. 84, n. 3, p.235-254, 2011.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Young People's Health. A Challenge for Society. Report of a WHO Study Group on Young People an Health for All.** Technical Report Series 731. Geneva, 1986.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Oral Health Surveys: Basic Methods.** 4th ed. Geneva, 1997.

## ANEXOS

## ANEXO A - Parecer consubstanciado do CEP.

<div style="display: flex; justify-content: space-between; align-items: center;"> <div style="text-align: center;"> <p><b>UFES - CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO</b></p> </div> <div style="text-align: right;">  </div> </div>								
<b>PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP</b>								
<b>DADOS DO PROJETO DE PESQUISA</b>								
<b>Título da Pesquisa:</b> ANÁLISE DA CONDIÇÃO PERIODONTAL, DA MICROBIOTA SUBGENGIVAL E DA RESPOSTA IMUNE-INFLAMATÓRIA EM INDIVÍDUOS ADOLESCENTES PORTADORES DE APARELHO ORTODÔNTICO FIXO								
<b>Pesquisador:</b> CAROLINE LOPES BINDA								
<b>Área Temática:</b>								
<b>Versão:</b> 2								
<b>CAAE:</b> 67178517.4.0000.5060								
<b>Instituição Proponente:</b> Centro de Ciências da Saúde								
<b>Patrocinador Principal:</b> Financiamento Próprio								
<b>DADOS DO PARECER</b>								
<b>Número do Parecer:</b> 2.186.305								
<b>Apresentação do Projeto:</b>								
O presente projeto de Mestrado em Clínica Odontológica é um estudo clínico que tem por objetivo avaliar a condição clínica periodontal, a composição microbiológica subgengival e biomarcadores imuno-inflamatórios relacionados com o desenvolvimento da doença periodontal em pacientes adolescentes em fase de finalização ortodôntica. As avaliações serão realizadas no momento da remoção do aparelho ortodôntico e seis meses após a conclusão do tratamento ortodôntico. Os resultados deste projeto poderão contribuir no conhecimento das modificações na saúde gengival que ocorrem com a colocação do aparelho fixo ortodôntico.								
<b>Objetivo da Pesquisa:</b>								
<b>OBJETIVO GERAL</b>								
Avaliar os parâmetros clínicos periodontais, a microbiota subgengival, e biomarcadores imuno-inflamatórios relacionados com o desenvolvimento da periodontite em pacientes adolescentes ao término do tratamento ortodôntico, e seis meses após a remoção do aparelho fixo ortodôntico.								
<b>OBJETIVOS ESPECÍFICOS</b>								
A) Avaliar e comparar parâmetros clínicos periodontais (Índice de placa visível, Índice de sangramento gengival marginal e Profundidade à sondagem) de pacientes ao término do tratamento ortodôntico e seis meses após a remoção do aparelho fixo;								
<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td><b>Endereço:</b> Av. Marechal Campos 1498</td> <td><b>CEP:</b> 29.040-091</td> </tr> <tr> <td><b>Bairro:</b> S/N</td> <td><b>Município:</b> VITÓRIA</td> </tr> <tr> <td><b>UF:</b> ES</td> <td><b>Telefone:</b> (27)3335-7211</td> </tr> <tr> <td colspan="2" style="text-align: right;"><b>E-mail:</b> cep.ufes@hotmail.com</td> </tr> </table>	<b>Endereço:</b> Av. Marechal Campos 1498	<b>CEP:</b> 29.040-091	<b>Bairro:</b> S/N	<b>Município:</b> VITÓRIA	<b>UF:</b> ES	<b>Telefone:</b> (27)3335-7211	<b>E-mail:</b> cep.ufes@hotmail.com	
<b>Endereço:</b> Av. Marechal Campos 1498	<b>CEP:</b> 29.040-091							
<b>Bairro:</b> S/N	<b>Município:</b> VITÓRIA							
<b>UF:</b> ES	<b>Telefone:</b> (27)3335-7211							
<b>E-mail:</b> cep.ufes@hotmail.com								
Página 01 de 02								

UFES - CENTRO DE CIÊNCIAS  
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO ESPÍRITO



Continuação do Protocolo: 2.186.308

- B) Detectar, avaliar e comparar os complexos microbianos subgingivais presentes pela técnica Checkerboard DNA-DNA hybridization;  
C) Avaliar quantitativamente a presença de citocinas inflamatórias no fluido crevicular gengival pela técnica de citometria de fluxo.

**Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

De acordo com o pesquisador responsável os riscos e benefícios do projeto "ANÁLISE DOS PARÂMETROS CLÍNICOS PERIODONTAIS, MICROBIOLÓGICOS E DA RESPOSTA IMUNE-INFLAMATÓRIA APÓS A REMOÇÃO DE APARELHO FIXO ORTODÔNTICO", são:

**Riscos:**

Esses procedimentos serão realizados no consultório odontológico onde o tratamento ortodôntico foi desenvolvido, por um período de no máximo uma hora. O desconforto será mínimo, oriundo apenas da realização da raspagem subgingival e colocação de uma ponta de papel absorvente no sulco gengival. Para minimizar os riscos e desconfortos serão utilizados instrumentos e materiais esterilizados, segundo as precauções-padrão das Normas de Biossegurança. Além disso, a profissional será previamente calibrada para aplicação adequada de força durante os exames periodontais e o posicionamento correto dos instrumentos utilizados. Além disso, os pacientes poderão receber anestesia tópica e/ou anestesia infiltrativa regional para minimizar os riscos, bem como a prescrição de analgésicos e anti-inflamatórios para redução do desconforto pós-operatório da raspagem dos dentes.

**Benefícios:**

Os resultados desta pesquisa poderão contribuir para saber quais são as alterações que ocorrem na quantidade e nas espécies de bactérias, bem como as modificações na saúde gengival, com a colocação do aparelho fixo ortodôntico, e o quanto essas mudanças regredem, após a remoção do aparelho. Dessa maneira, o ortodontista poderá orientar melhor os pacientes, enfatizando os cuidados que devem ser tomados em relação à adequada higienização bucal no período de tratamento ortodôntico, bem como alertar à população das consequências do uso de aparelhos ortodôntico sem indicação e acompanhamento com especialistas.

Os riscos e benefícios atendem a Res. CNS N° 466/12.

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

Pesquisa bem delimitada, sem pendências.

Endereço: Av. Marechal Campos 1498  
Bairro: S/N CEP: 29.040-091  
UF: ES Município: VITORIA  
Telefone: (27)3335-7211 E-mail: cep.ufes@hotmail.com

UFES - CENTRO DE CIÊNCIAS  
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO ESPÍRITO



Continuação de Parecer: 2.186.308

**Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:**

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

No projeto "ANÁLISE DOS PARÂMETROS CLÍNICOS PERIODONTAIS, MICROBIOLÓGICOS E DA RESPOSTA IMUNE-INFLAMATÓRIA APÓS A REMOÇÃO DE APARELHO FIXO ORTODONTICO", constam os seguintes documentos:

- Folha de rosto: apresentada e adequada;
- Projeto detalhado: apresentado e adequado;
- TCLE: apresentado e adequado;
- Cronograma: apresentado e adequado;
- Orçamento: apresentado e adequado.

Os termos de apresentação obrigatória estão em conformidade com a Resolução CNS 466/12.

**Recomendações:**

O projeto não apresenta pendências.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

O projeto não apresenta pendências.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

- TCLE: Colocar quadro de rubricas na primeira página, segundo modelo disponível na página do CEP.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	P8_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_P ROJETO_889638.pdf	25/06/2017 13:28:06		Aceito
Folha de Rosto	Folhad rostero.pdf	25/06/2017 13:28:24	CAROLINE LOPES BINDA	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto corrigido 25062017.doc	25/06/2017 13:25:21	CAROLINE LOPES BINDA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	tcle.doc	20/06/2017 00:11:31	CAROLINE LOPES BINDA	Aceito

Endereço: Av. Marechal Campos 1498  
 Bairro: S/N CEP: 29.040-091  
 UF: ES Município: VITORIA  
 Telefone: (27)3335-7211 E-mail: cep.ufes@hotmail.com



UFES - CENTRO DE CIÊNCIAS  
DA SAÚDE DA UNIVERSIDADE  
FEDERAL DO ESPÍRITO



Continuação de Parecer: 2.185.308

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

VITÓRIA, 25 de Julho de 2017

---

Assinado por:

**KARLA DE MELO BATISTA**  
(Coordenador)

Endereço: Av. Marechal Campos 1488

Bairro: SIN

CEP: 29.040-091

UF: ES

Município: VITÓRIA

Telefone: (27)3335-7211

Email: cep.ufes@hotmail.com

**ANEXO B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido.****MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO****Universidade Federal do Espírito Santo-UFES**

Av. Marechal Campos, 1468, Maruípe, Vitória- ES, CEP 29040-091.

**TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

O Sr.(a), NOME COMPLETO DO PARTICIPANTE DA PESQUISA foi convidado(a) a participar da pesquisa intitulada "AVALIAÇÃO DA CONDIÇÃO PERIODONTAL E DA MICROBIOTA SUBGENGIVAL EM ADOLESCENTES TRATADOS ORTODONTICAMENTE COM APARELHO FIXO", sob responsabilidade de CAROLINE LOPES BINDA.

**JUSTIFICATIVA**

A presença de aparelhos ortodônticos pode causar acúmulo de placa bacteriana, afetando a composição da microbiota subgengival, aumentando a prevalência de microrganismos peridontopatogênicos, e desenvolvendo um quadro de inflamação gengival. Através do presente estudo, o impacto do uso de aparelhos fixos ortodônticos sobre os parâmetros microbiológicos e clínicos periodontais e se as alterações são irreversíveis.

**OBJETIVOS DA PESQUISA**

A pesquisa tem por objetivo avaliar as condições clínicas periodontais e a composição da microbiota subgengival presentes na fase de finalização ortodôntica e as modificações que ocorrem seis meses após a remoção de aparelho fixo ortodôntico.

**PROCEDIMENTOS**

Esta pesquisa constará de exame clínico da gengiva e de dentes superiores e inferiores, através de um espelho bucal, sonda periodontal e ponta de papel, estéreis. Esse exame será realizado por uma especialista em Ortodontia, no dia da remoção do aparelho ortodôntico e seis meses após, para coletar amostras do material microbiológico (biofilme bacteriano) através da raspagem realizada com uma cureta, no sulco gengival, para posterior análise microbiológica.

**DURAÇÃO E LOCAL DA PESQUISA**

Esses procedimentos serão realizados no consultório odontológico onde o tratamento ortodôntico foi desenvolvido, por um período de no máximo uma hora.

<i>RUBRICA</i>
----------------

## RISCOS E DESCONFORTOS

O riscos e desconfortos serão mínimos, oriundo apenas da realização da raspagem subgingival.

## FORMA DE MINIMIZAR OS RISCOS E DESCONFORTOS

Para minimizar os riscos e desconfortos serão utilizados instrumentos e materiais esterilizados, segundo as precauções-padrão das Normas de Biossegurança. Além disso, a profissional será previamente calibrada para aplicação adequada de força durante os exames periodontais e o posicionamento correto dos instrumentos utilizados. Além disso, os pacientes poderão receber anestesia tópica e/ou anestesia infiltrativa regional para minimizar os riscos, bem como a prescrição de analgésicos e antiinflamatórios para redução do desconforto pós-operatório. da raspagem dos dentes.

## BENEFÍCIOS

Os resultados desta pesquisa poderão contribuir para saber quais são as alterações que ocorrem na quantidade e nas espécies de bactérias, bem como as modificações na saúde gengival, com a colocação do aparelho fixo ortodôntico, e o quanto essas mudanças regridem, após a remoção do aparelho. Dessa maneira, o ortodontista poderá orientar melhor os pacientes, enfatizando os cuidados que devem ser tomados em relação à adequada higienização bucal no período de tratamento ortodôntico, bem como alertar à população das consequências do uso de aparelhos ortodôntico sem indicação e acompanhamento com especialistas.

## GARANTIA DE MANUTENÇÃO DO SIGILO E PRIVACIDADE

Toda informação obtida neste estudo será confidencial. Em nenhum momento o seu nome será divulgado, sendo tratado apenas por um número. Apenas as pessoas envolvidas no estudo terão acesso a estas informações. Os pesquisadores se comprometem a resguardar sua identidade durante todas as fases da pesquisa, inclusive após publicação.

## OBRIGAÇÕES FINANCEIRAS

Este projeto não implicará em qualquer custo ao paciente. Do mesmo modo, o participante voluntário desta pesquisa não será beneficiado financeiramente ou receberá qualquer ajuda, prêmios ou bonificações.

## DESTINO DE MATERIAIS E/OU DADOS DA PESQUISA

Todos os resultados do trabalho em questão serão tornados públicos pelos meios normais de comunicação científica. Poderão ser apresentados através de publicações em periódicos científicos nacionais e internacionais, apresentados oralmente, como palestras, conferências e sob forma de painéis em encontros científicos ou congressos na área tratada.

## GARANTIA DE INDENIZAÇÃO

Há garantia de indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa.

## GARANTIA DE RECUSA EM PARTICIPAR DA PESQUISA E/OU RETIRADA DE CONSENTIMENTO

O(a) Sr.(a) ou o(a) responsável pelo(a) menor não é obrigado(a) a participar da pesquisa, podendo deixar de participar dela em qualquer momento de sua execução, sem que haja penalidades ou prejuízos decorrentes de sua recusa, bem como caso decida retirar seu consentimento.

#### ESCLARECIMENTOS E DÚVIDAS

Em caso de dúvidas sobre a pesquisa ou para relatar algum problema, o(a) Sr.(a) ou o(a) responsável pelo menor pode contatar a pesquisadora CAROLINE LOPES BINDA no telefone (27) 992915733, e-mail [carolinelbinda@gmail.com](mailto:carolinelbinda@gmail.com), ou endereço AVENIDA CAMPO GRANDE, 06, CAMPO GRANDE, CEP 29.146-300, CARIACICA-ES, BRASIL. Tem a garantia de que receberá todas as informações, respostas e esclarecimentos sobre qualquer dúvida à cerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados a esta pesquisa. O Comitê de Ética em Pesquisa do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo (CEP/CCS/UFES) através do telefone (27) 3335-7211, e-mail [cep.ufes@hotmail.com](mailto:cep.ufes@hotmail.com) ou correio: Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos, Prédio Administrativo do CCS, Av. Marechal Campos, 1468, Maruípe, CEP 29040-090, Vitória-ES, Brasil. O CEP/CCS/UFES tem a função de analisar os projetos de pesquisa visando a proteção dos participantes dentro de padrões éticos nacionais e internacionais. Seu horário de funcionamento é de segunda a sexta-feira, de 8 às 14 horas.

Declaro que fui verbalmente informado e esclarecido sobre o presente documento, entendendo todos os termos acima expostos, e que voluntariamente aceito participar deste estudo. Também declaro ter recebido uma via deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, de igual teor, assinada pela pesquisadora principal ou seu representante, rubricada em todas as páginas.

CARIACICA, \_\_\_\_\_ DE \_\_\_\_\_ DE \_\_\_\_\_.

---

Participante da pesquisa/ Responsável legal

Na qualidade de pesquisadora responsável pela pesquisa "AVALIAÇÃO DA CONDIÇÃO PERIODONTAL E DA MICROBIOTA SUBGENGIVAL EM ADOLESCENTES TRATADOS ORTODONTICAMENTE COM APARELHO FIXO ", declaro ter cumprido as exigências da Resolução CNS 466/12, a qual estabelece diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos.

---

Caroline Lopes Binda- Pesquisadora

**ANEXO C** - Certificado de calibração Micropipeta de alta performance (Peguepet®) emitido pelo fabricante.

## STATUS PASSED CALIBRATION REPORT

Serial No. 000005879

DEVICE ID:

METHOD ID: FV 50

ENVIRONMENTAL FACTORS

TEMP: 20°C

AIR DENSITY: 0.001200

DESCRIPTION: FIXED VOL 50µl


DATE: 04-01-2018


REL.HUMIDITY: 50%

CUBIC EXP: 0.0000cm<sup>3</sup>/degc.


SAMPLE				CALIBRATION STATISTICS					
IMPRECISION CV%				INACCURACY E% IMPRECISION CV%					
VOL	NO	Wt	VOL	VOL	MEAN	SD	ACTUAL	TARGET	STATUS
50.0	1	50.00	50.15	50.0	49.96	0.126	0.06	0.30	passed < 0.30
50.0	2	99.80	49.94						
50.0	3	149.60	49.94						
50.0	4	199.30	49.84						

All Pipettes are calibrated at 20°C with degassed double distilled water conforming to DIN12650

Checked By: 

Manager (Quality Control) 

**ANEXO D** - Certificado de Calibração da Micropipeta de alta performance (Peguepet®) previamente à realização do segundo momento da pesquisa.



**metrology**  
solução em medições

**Certificado de Calibração**  
008317/17  
Data de Calibração - 30/10/2017

---

**1. Dados do Solicitante**

Cliente: Caroline Lopes Binda  
 Endereço: Rua José Alexandre Bualiz - Enseada do Sul - Vitória-ES  
 Solicitante: Caroline Lopes Binda  
 Endereço: Rua José Alexandre Bualiz - Enseada do Sul - Vitória-ES

---

**2. Dados do Instrumento Calibrado**

Instrumento: Pipeta  
 Identificação: 000005879  
 Número de Série: 000005879  
 Modelo: Analógica  
 Fabricante: Peguepet  
 Localização:  
 Data de Calibração: 30/10/2017

Faixa de Indicação: 50 a 50 µl  
 Resolução: Não Constante  
 Faixa de Calibração: 50 a 50 µl  
 Ordem de Serviço: 4655/17

---

**3. Dados do Ambiente**

Temperatura: 20,0°C a 2°C      Pressão Barométrica: 1.013,5 hPa a 1 hPa      Umidade Relativa: 50,0% a 20%

---

**4. Padrões Utilizados**

Código	Descrição	Certificado	Rastreabilidade	Validade
M100	Sensor de Temperatura	358/116	Eol	29/06/2018
M008	Picnômetro	LV00970-15-RD	Vicomes	04/03/2018
M008	Peso Padrão (9 peças)	MA 200_09_17	Padrão Balanças	21/09/2018

---

**5. Procedimento**

Conforme solicitação, nosso laboratório realizou a calibração do instrumento acima, baseado no nosso procedimento técnico interno PTM-020, onde consiste em determinar a massa específica do ar e de água para a medição do instrumento numa balança, conforme documento orientativo do Inmetro DOQ-CGCRE-027.

---

**6. Resultados da Calibração**


Unidade: µl

Valor indicado no instrumento	Valor de referência	Erro	Incerteza	Fator k
50,0	49,3	-0,7	0,3	2,00

---

**7. Observações**

Os valores apresentados no campo Valor de referência se refere a média das leituras efetuadas no padrão de referência (balança). O Erro de Medição se refere ao Valor indicado no instrumento - Valor referência. A incerteza expandida de medição relatada é declarada como a incerteza padrão de medição multiplicada pelo fator de abrangência k, o qual para uma distribuição t com 99% graus de liberdade efetivos corresponde a uma probabilidade de abrangência de aproximadamente 99%. A incerteza padrão de medição foi determinada de acordo com a publicação EA-4/02.



Wor Pontual Aliss  
"Sinalário Autorizado"

Este certificado é válido exclusivamente para o objeto calibrado descrito nas condições específicas, não sendo extensivo a qualquer outro, mesmo que similares. Não é permitida a reprodução deste certificado, somente original. Certificado conferido e assinado eletronicamente. Este certificado atende aos requisitos de acreditação pela CGCRE que avalia a competência do laboratório e comprovou sua rastreabilidade à cadeia nacional de medições ao Sistema Internacional de Unidades - SI.

METROLOGY MEDIÇÕES & TECNOLOGIA EIRELI EPP  
Av. Paulo Malley, 181 - Ilha de Santa Maria - CEP: 25.051-030 - Vitória - ES - Tel / Fax: (27) 3223-4820 / 3226-4823

Pág. 1/1

## **ANEXO E - Normas do periódico - Journal of Periodontology**

### **ORIGINAL ARTICLES**

These are papers that report significant clinical or basic research on the pathogenesis, diagnosis, and treatment of the different forms of periodontal disease. Papers dealing with design, testing, and other features of dental implants are also included.

#### ***Format***

Original articles must be limited to 4,000 words (excluding the abstract, references, and figure legends). The reference list should not exceed 50 references, and the total combined number of figures and tables must be six or fewer. Multi-panel figures are acceptable.

#### ***Abstract***

All original articles should be submitted with a structured abstract, consisting of no more than 250 words and the following four paragraphs:

- **Background:** Describes the problem being addressed.
- **Methods:** Describes how the study was performed.
- **Results:** Describes the primary results.
- **Conclusion(s):** Reports what authors have concluded from these results, and notes their clinical implications.

#### ***Introduction***

The Introduction contains a concise review of the subject area and the rationale for the study. More detailed comparisons to previous work and conclusions of the study should appear in the Discussion section.

#### ***Materials and Methods***

This section lists the methods used in the study in sufficient detail so that other investigators would be able to reproduce the research. When established methods are used, the author need only refer to previously published reports; however, the authors should provide brief descriptions of methods that are not well known or that have been modified. Identify all drugs and chemicals used, including both generic and, if necessary, proprietary names and doses. The populations for research involving humans should be clearly defined and enrollment dates provided.

#### ***Results***

Results should be presented in a logical sequence with reference to tables, figures, and supplemental material as appropriate.

#### ***Discussion***

New and possible important findings of the study should be emphasized, as well as any conclusions that can be drawn. The Discussion should compare the present data to previous findings. Limitations of the experimental methods

should be indicated, as should implications for future research. New hypotheses and clinical recommendations are appropriate and should be clearly identified. Recommendations, particularly clinical ones, may be included when appropriate.

***Publication of Accepted Original Articles***

Please note that accepted manuscripts which are classified by the Editors as "Discovery Science" will be placed on an accelerated schedule for **online-only publication**. See [Online-Only Publication](#) below.



**APÊNDICE****ANAMNESE** (A ser respondido pelo paciente ou responsável)

Nome do paciente:.....

Prezado paciente ou responsável, suas respostas são confidenciais e farão parte do projeto de pesquisa do Curso de Mestrado em Clínica Odontológica do Programa de Pós-Graduação da Universidade Federal do Espírito Santo (UFES), que está sendo desenvolvido junto a pacientes de Ortodontia de uma clínica odontológica particular de Cariacica/ES. É importante que as informações sejam verdadeiras, pois serão importantes para o desenvolvimento adequado da pesquisa. Desde já agradeço a sua colaboração.

1) Você tem boa saúde? ( ) Sim ( ) Não

2) Encontra-se em tratamento médico? ( ) Sim ( ) Não

Por quê? \_\_\_\_\_

3) Você está gestante? ( ) Sim ( ) Não

4) Está tomando ou tomou algum antibiótico ou antiinflamatório nos últimos 03 meses?

( ) Sim ( ) Não

5) Está usando ou usou algum anti-séptico ou enxaguante bucal como parte dos hábitos de higiene bucal nos últimos 03 meses? ( ) Sim ( ) Não

6) Você fuma? ( ) Sim ( ) Não

Cariacica, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de 20\_\_\_\_\_.

\_\_\_\_\_  
Assinatura do Paciente ou Responsável