



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

Avaliação da Microbiota Bucal Antes e Após a Instalação de Aparelhos Ortodônticos

LUCIANA FRANCO MOREIRA

Brasília-DF

2010

Avaliação da Microbiota Bucal Antes e Após a Instalação de Aparelhos Ortodônticos

Dissertação de Mestrado

para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde pela Universidade de Brasília, a ser defendida em 25 de fevereiro de 2010, às 09:00 horas,

por

LUCIANA FRANCO MOREIRA

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Ana Cristina Barreto Bezerra - UnB

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Daniela Corrêa Grisi - UCB

Banca examinadora

Prof^a. Dr^a Maria do Carmo Machado Guimarães, UnB

Prof. Dr. Ricardo Machado Cruz, UNIP

Prof. Dr. Orlando Ayrton de Toledo, UnB

Brasília-DF

2010

Franco, Luciana

Avaliação da microbiota bucal antes e após a instalação de aparelhos ortodônticos/ Luciana Franco.

Brasília, 2010.

66p

Dissertação de Mestrado em Odontologia. Faculdade de Ciências da Saúde, Universidade de Brasília- Distrito Federal.

É concedida à Universidade de Brasília permissão para reproduzir cópias desta dissertação e emprestar ou vender tais cópias somente para propósitos acadêmicos e científicos. O autor reserva outros direitos de publicação e nenhuma parte desta dissertação de mestrado poder ser reproduzida sem a autorização por escrito do autor.

Assinatura

A Jesus, Mestre e Senhor

Que, por amor, sempre está presente em minha vida.

Aos meus pais

Por sempre estenderem a mão para me ajudar e me apoiar em meus projetos.

Ao meu amado marido

Por me incentivar e compreender todas as ausências no transcurso deste
trabalho.

Às minhas filhas Serena e Brisa

Por serem o que há de mais maravilhoso na Terra e trazerem ao meu coração
o desejo de ser cada dia melhor.

Dedico este trabalho

AGRADECIMENTOS

A Deus, minha luz e fortaleza, agradeço a sabedoria, a perseverança e a alegria em cada crescimento que permite em minha vida.

À minha orientadora Prof^a. Dr^a. Ana Cristina Barreto Bezerra, por me disponibilizar de sua expertise acadêmica e tornar possível a conclusão deste trabalho. Muito obrigada!

À minha co-orientadora Prof^a. Dr^a. Daniela Corrêa Grisi, pela colaboração nas diversas fases da pesquisa. Obrigada pelo apoio, incentivo e didática na compreensão e elaboração deste trabalho.

À Prof^a. Dr^a. Luciene Cristina Figueiredo, que viabilizou a utilização do Laboratório da Universidade de Guarulhos, apoiou a parte técnica desta pesquisa e pela análise estatística dos resultados, minha gratidão.

Ao Prof. Dr. Orlando Ayrton de Toledo, exemplo de profissional, que abriu as portas para o início desta jornada e manteve-se disponível em cada necessidade, minha estima e admiração.

Aos colegas ortodontistas Dr. Jorge Faber, Dr. Ricardo Machado Cruz, Dr^a Fabíola Brunken Clemente Bafutto e Dr^a. Maria Beatriz Gomide por cooperarem com a fase clínica da pesquisa. Meu reconhecimento e agradecimento.

À Dr^a. Celi Novaes Vieira, que, com profundo senso de amor desprendido, ofereceu seu tempo e carinho para me ajudar. Seres humanos assim são admiráveis e raros...

Ao Prof. Dr. Maurício Barriviera pelo incentivo e por sua preciosa ajuda com as figuras deste trabalho. Deus o abençoe.

Ao Prof. Dr. Vagner Duarte por ter assistido na fase de tradução e submissão do artigo, oferecendo apoio inigualável. Muito obrigada.

À Izilvânia Mallory Quinderé Barreto, por processar as amostras desta pesquisa com gentileza e dedicação. Também por oferecer espaço para a amizade e calor humano durante minha breve permanência em seu ambiente de trabalho.

À Rilva. Grigório Pinho Soares, por me apoiar e orientar durante o uso do Laboratório de Farmacologia Molecular da UnB.

A todos os pacientes que concordaram em fazer parte desta pesquisa, sem os quais os resultados nunca poderiam ter sido obtidos.

Às minhas assistentes Ana Maria e Leninha, que me ajudaram a realizar este trabalho. Sem tão preciosa ajuda (tanto física como emocional), creio que teria

sido muito mais difícil. Obrigada pela dedicação e por irem além de todas as expectativas.

À minha auxiliar Maria de Fátima, que mesmo sem perceber sua importância, tornou viável os dias e as noites de estudo, ao cuidar com carinho de minhas filhas, meus maiores tesouros.

À Tatiana Freitas Borges, por mais uma vez mostrar o que sempre foi: gentil, dedicada e muito atenciosa. Obrigada. Você fez a diferença.

A todos aqueles que, de forma direta e indireta contribuíram durante meus estudos. Obrigada por fazerem parte da minha vida.

Aos meus pais e irmãos, sempre presentes e sempre demonstrando admiração pelo que sou, ainda que tolerando minhas grandes limitações. Vocês são meu chão, minha raiz, minha base. Obrigada, obrigada, obrigada.

Finalmente, agradeço ao meu querido esposo Dennys e às minhas filhas Serena e Brisa, por terem acompanhado com doçura e compreensão minhas necessidades, suportado minhas faltas. Por esperarem, pacientemente, que eu estivesse pronta para retomar ao nosso convívio anterior. Sem vocês, as vitórias não teriam sabor.

¹Ainda que eu falasse as línguas dos homens e dos anjos, se não tiver **caridade**, sou como o bronze que soa, ou como o címbalo que retine.

²Mesmo que eu tivesse o dom da profecia, e conhecesse todos os mistérios e toda a ciência; mesmo que tivesse toda a fé, a ponto de transportar montanhas, se não tiver **caridade**, não sou nada.

³Ainda que distribuísse todos os meus bens em sustento dos pobres, e ainda que entregasse o meu corpo para ser queimado, se não tiver caridade, de nada valerá!

⁴A **caridade** é paciente, a **caridade** é bondosa. Não tem inveja. A **caridade** não é orgulhosa. Não é arrogante.

⁵Nem escandalosa. Não busca os seus próprios interesses, não se irrita, não guarda rancor.

⁶Não se alegra com a injustiça, mas se rejubila com a verdade.

⁷Tudo desculpa, tudo crê, tudo espera, tudo suporta.

⁸A **caridade** jamais acabará. As profecias desaparecerão, o dom das línguas cessará, o dom da ciência findará.

⁹A nossa ciência é parcial, a nossa profecia é imperfeita.

¹⁰Quando chegar o que é perfeito, o imperfeito desaparecerá.

¹¹Quando eu era criança, falava como criança, pensava como criança, raciocinava como criança. Desde que me tornei homem, eliminei as coisas de criança.

¹²Hoje vemos como por um espelho, confusamente; mas então veremos face a face. Hoje conheço em parte; mas então conhecerei totalmente, como eu sou conhecido.

¹³Por ora subsistem a fé, a esperança e a caridade - as três. Porém, a maior delas é a **caridade**.”

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo avaliar as alterações microbiológicas que ocorrem nas superfícies dentárias, ao redor dos bráquetes, antes e durante o uso de aparelhos ortodônticos fixos e inferir as conseqüências de tais alterações nos dentes e no periodonto.

Foram coletadas amostras de biofilme dentário de 18 indivíduos (médias de idades de 13,05 anos) que iniciariam o tratamento ortodôntico com aparelhos fixos metálicos em clínicas particulares de Brasília-DF. As amostras supragengivais iniciais foram obtidas da face vestibular dos dentes 11, 13, 15, 31, 33 e 35 antes da instalação do aparelho e as finais, foram coletadas das faces vestibulares dos mesmos dentes após aproximadamente 60 dias de tratamento.

As amostras foram analisadas utilizando-se o método do “Checkerboard DNA-DNA hybridization” que viabilizou, por meio de sondas de DNA marcadas com a molécula não radioativa digoxigenina, a detecção simultânea de 40 espécies bacterianas, sendo três destas espécies cariogênicas e 37 periodontopatogênicas.

Observou-se aumento estatisticamente significativo na proporção e contagem dos micro-organismos periodontopatogênicos, no biofilme supragengival nos indivíduos do presente estudo. No entanto, 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. Para se evitar inflamações gengivais e perdas de suporte periodontal, os pacientes necessitam ser adequada e frequentemente orientados quanto à sua higiene bucal no transcurso da terapia ortodôntica.

Palavras-chave: aparelho ortodôntico fixo, biofilme dentário, checkerboard, periodontopatias, cárie.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the microbiological changes that occur in labial tooth surfaces, around the brackets before and during the use of fixed orthodontic appliances and infer the consequences of such changes on teeth and periodontium.

Biofilm samples were collected of 18 subjects (mean age of 13,05 years) who were about to start orthodontic treatment with fixed metallic appliances in private clinics in Brasilia-DF. Initial supragingival samples were obtained from the labial surface of teeth 11, 13, 15, 31, 33 and 35 before installing the appliance and the finals were collected from the labial surfaces of these teeth after approximately 60 days of treatment.

The samples were analyzed using the method of "checkerboard DNA-DNA hybridization" that made by means of probes labeled with nonradioactive digoxigenin molecule, that detected, simultaneously 40 bacterial species, three of these cariogenic species and 37 periodontopathogenics species.

There was a statistically significant increase in the proportion and count of periodontopathogenic microorganisms in supragingival biofilm in the subjects in this study. However, there were no significant differences in the counts and proportions of cariogenic bacteria.

So, it is relevant to consider the risk to which dental structures are exposed during orthodontic treatment. In order to prevent gingival inflammation and attachment loss, patients need to be properly oriented about their bucal hygiene in the course of orthodontic treatment.

Keywords: orthodontic appliances, biofilm, checkerboard, caries, periodontal diseases.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	1
CAPÍTULO I: Objetivos.	5
1. Objetivo Geral	6
2. Objetivos Específicos	6
CAPÍTULO II: Artigo - “Avaliação da microbiota bucal antes e após a instalação de aparelhos ortodônticos”	7
CAPÍTULO III: Discussão Geral, Considerações Finais e Perspectivas	29
ANEXOS	33
ANEXO 1 - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília	34
ANEXO 2 - Termo de consentimento informado, questionário de anamnese e recomendações importantes	36
ANEXO 3 - Artigo - “Avaliação da microbiota bucal antes e após a instalação de aparelhos ortodônticos” em língua inglesa	42
ANEXO 4 - Comprovante de envio do Artigo à American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics (AJO-DO).	61
ANEXO 5 - Relação das cepas empregadas para a confecção das sondas de DNA.	63
ANEXO 6 - Representação esquemática do padrão de hibridização	65

Introdução

Introdução

O estudo dos fatores que expõem as pessoas a doenças ou ao risco de adquiri-las motiva diversos profissionais da área odontológica a pesquisar os fatores predisponentes ao desenvolvimento de enfermidades (Sanders, 1999; Ong, 2002).

A cavidade bucal consiste em um local rico em microorganismos que subsistem em equilíbrio dinâmico (Liljemark, 1997). Nela, o biofilme bacteriano apresenta-se organizado, fornece proteção e nutrientes às bactérias. Por isso, a ecologia bucal é complexa e um número em torno de 700 espécies bacterianas é considerado indígena em todas as populações humanas (Balenseifien, Madonia, 1970; Betancourt, Botero, Rivera, 2004; Socransky, Haffajee, 2005).

Entre as doenças bucais, as doenças cárie e periodontal merecem especial atenção devido à grande prevalência na população. Ambas têm relação direta com o biofilme dentário (Löe, Theilade, Jensen, 1965; Axelsson, Lindhe, 1974). Alguns fatores podem interagir com a higiene bucal expondo ainda mais os indivíduos ao desenvolvimento dessas doenças. Dentre eles, os dentes mal posicionados, especialmente os apinhados, e o uso de aparelho ortodôntico predispoem ao acúmulo de biofilme dentário e dificultam sobremaneira a higienização (Lindhe, 1997). Torna-se importante ressaltar que não só o apinhamento, mas também as demais más oclusões favorecem o acúmulo de resíduos alimentares (Jordan, LeBlanc, 2001).

A efetivação de uma higiene bucal adequada é uma tarefa difícil para a população em geral e ainda mais laboriosa na presença de aparelhos ortodônticos fixos. Durante seu uso, a habilidade do paciente em manter a higiene bucal reduz, pois se torna mais difícil o uso tanto da escova quanto do fio dental (Zachrisson, Alnaes, 1973; Zimmer, 2006). Os nichos de retenção de biofilme promovido pelo desenho do aparelho aumentam significativamente a colonização bacteriana (Rosebloom, Tinanoff, 1991; Huser, Baehni, Lang, 1990). Uma vez o biofilme sendo acumulado e mantido, há ampliação do risco às doenças periodontais e cárie.

A finalidade do tratamento ortodôntico é promover saúde bucal por meio da melhora no posicionamento dos dentes, porquanto a correção ortodôntica

promove um melhor contorno da gengiva, distribuição adequada das forças mastigatórias (com diminuição do trauma oclusal), e introduz melhora nos cuidados com a higienização (Melsen et al., 1988), ao mesmo tempo em que dentes alinhados acumulam um menor volume de biofilme bacteriano (Bollen, et al., 2008). No entanto, é consenso entre os autores que os indivíduos usuários de aparelhos ortodônticos retêm mais biofilme dental em torno dos elementos constituintes destes aparelhos em comparação com aqueles que não os usam (Rosembloom, Tinanoff, 1991; Huser, Baehni, Lang, 1990; Türkkahraman et al., 2005).

Por essa razão, é importante investigar sobre a interação existente entre o tratamento ortodôntico, a microbiota bucal e os tecidos dentais. Ainda mensurar e definir as alterações microbiológicas que ocorrem antes e durante a terapia ortodôntica para, baseando-se nestas evidências, prevenir os riscos de desenvolver doenças como cárie e periodontite, às quais estes pacientes estariam expostos.

REFERÊNCIAS

1. Sanders NL. Evidence-based care in Orthodontics and Periodontics: A Review of the literature. *J Am Dent Assoc* 1999;130:521-527.
2. Ong MMA, Wang H-L. Periodontic and Orthodontic treatment in adults. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2002;122:420-8.
3. Liljemark WF, Bloomquist C. Human oral microbial ecology and dental caries and periodontal diseases. *Crit Rev Oral Biol Med* 1996;7:180-198.
4. Balenseifien JW, Madonia JV. Study of dental plaque in orthodontic patients. *Journal of Dental Research* 1970;49:320–324.
5. Betancourt M, Botero JE, Rivera SP. Biopelículas: una comunidad microscópica en desarrollo. *Colomb Méd* 2004;35:34-39.
6. Socransky SS, Haffagee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontol* 2000, 2005;38:135-187.
7. Loe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental gingivitis in man. *J Periodontol* 1965;36:177-87.

8. Axelsson P, Lindhe J. The effect of a preventive program on dental plaque, gingivitis and caries in schoolchildren. *J Clin Periodontol* 1974; 1:126-38.
9. Lindhe J. *Tratado de Periodontologia Clínica*, Guanabara Koogan, 3ª Ed., 790 p. 1997.
10. Jordan C, LeBlanc DJ (2001). Influences of orthodontic appliances on oral populations of *mutans streptococci*. *Oral Microbiol Immunol*, 17: 65-71.
11. Zachrisson BU, Alnaes L. Periodontal bone support and tooth length in Orthodontically treated and untreated individuals. I Loss of attachment gingival pocket depth and clinical crown height. *Angle Orthod* 1973;43:402-411.
12. Zimmer S. Clinical efficacy of flossing versus use antimicrobial rinse. *J Periodontol* 2006;778:1380-1385.
13. Rosenbloom RG, Tinanoff N. Salivary *S mutans* levels in patients before, during, and after orthodontic treatment. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 1991;100:35–37.
14. Huser MC, Baehni PC, Lang R. Effects of orthodontic bands on microbiologic and clinical parameters. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1990;97:213-8.
15. Melsen B, Agerbaek N, Erikson J, Terp S. New attachment through periodontal treatment and orthodontic intrusion. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1988;94:104-16.
16. Bollen AM, Cunha-Cruz J, Bakko DW, Huang GJ, Hujoel PP. The effects of orthodontic therapy on periodontal health: A systematic review of controlled evidence. *J Am Dent Assoc* 2008;139:413-422.
17. Türkkahraman H, Sayin MO, Bozkurt FY, Yetkin Z, Kaya S, Onal S. Archwire ligation techniques, microbial colonization and periodontal status in orthodontically treated patients. *Angle orthod* 2005;75:227-32.

CAPÍTULO I:

Objetivos

Objetivos

1. Objetivo Geral

Avaliar a possível ocorrência de alterações na microbiota bucal durante o uso de aparelhos ortodônticos que sejam potencialmente danosas à saúde bucal.

2. Objetivo Específico

Identificar e quantificar os microrganismos cariogênicos e aqueles associados com doença periodontal por meio da técnica do “Checkerboard.DNA-DNA Hybridization”.

CAPÍTULO II

Artigo

Avaliação da Microbiota Bucal Antes e Após a Instalação de Aparelhos Ortodônticos

Artigo enviado para publicação na AJO-DO-American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics.

Luciana Franco, DDS, Esp¹
Luciene Cristina Figueiredo, DDS, MSc, PhD²
Daniela Corrêa Grisi, DDS, MSc, PhD³
Ana Cristina Barreto Bezerra, DDS, MSc, PhD⁴

1 Mestranda, Universidade de Brasília (UnB); Brasília, DF, Brasil
Clínica privada em Ortodontia, Brasília, DF, Brasil.

2 Professora Assistente, Divisão de Pesquisa Dental, Departamento de Periodontia, Universidade de Guarulhos (UNG), SP, Brasil.

3 Professora do curso de Odontologia, Universidade Católica de Brasília (UCB/DF), Taguatinga, DF, Brasil.

4 Professora orientadora do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade de Brasília (UnB); DF, Brasil.

Professora do curso de Especialização em Odontopediatria, Associação Brasileira de Odontologia de Brasília, DF, Brasil.

Autora correspondente:

Luciana Franco (Franco, L)

Endereço: SRTN QD 701- Centro Empresarial Norte –Sala 605- BI A- Brasília-DF, Brasil. CEP 70710-500

Fone:61 3327 2954.

E-mail: ortolucianafranco@terra.com.br

RESUMO

Introdução: As alterações no biofilme bucal durante o uso de aparelhos ortodônticos podem predispor a doenças periodontais e cárie. O objetivo deste estudo foi quantificar, qualificar e comparar os micro-organismos periodontopatogênicos e cariogênicos antes e durante o uso de aparelhos metálicos fixos. **Metodologia:** O desenho do estudo foi um coorte prospectivo com 18 indivíduos (idades médias 13,05 anos) que iniciariam o tratamento ortodôntico com aparelhos fixos metálicos. Amostras de biofilme supragengival foram coletadas da face vestibular de incisivos centrais, caninos e pré-molares superiores e inferiores antes da colocação do aparelho e após aproximadamente 60 dias de tratamento. As amostras foram analisadas utilizando-se o método do “Checkerboard DNA-DNA hybridization”. A significância das diferenças entre os dois grupos foi determinada pelo teste de Wilcoxon ($p < 0,05$). **Resultados:** Houve aumento estatisticamente significativa 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 houve aumento estatisticamente significativa nas bactérias cariogênicas *S.mutans*, *L.acidophilus* e *L.casei*. **Conclusão:** O uso de aparelho ortodôntico fixo promoveu alterações no perfil microbiológico do biofilme dental, favorecendo um aumento de micro-organismos periodontopatogênicos, sem mostrar alterações nas contagens e proporções de bactérias cariogênicas.

Palavras-chave: aparelho ortodôntico fixo, microbiota bucal, checkerboard, periodontite, cárie dentária.

ABSTRACT

Background: Changes in oral biofilm during the use of orthodontic appliances can predispose patients to diseases. The purpose of this study was to quantify, qualify and compare the periodontopathogenic and cariogenic microorganisms before and during the use of fixed metallic appliances. **Methods:** The study design was a prospective cohort with 18 individuals (average age 13.05 yrs) that began orthodontic treatment with fixed metallic appliances. Supragingival biofilm samples were collected from the vestibular face of the central incisors, canines and superior and inferior premolars before placement of the appliance and after approximately 60 days of treatment. The samples were analyzed using the “Checkerboard” method of DNA-DNA hybridization. The significance of the differences between the two groups was determined by the Wilcoxon test ($p < 0.05$). **Results:** There was a statistically significant increase in the averages of the counts and proportions of the periodontopathogenic bacteria *C. gingivalis*, *C. showae*, *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *P. gingivalis*, *E. saburreum*, *P. melaninogenica* and *S. noxia*. However, there was no statistically significant increase in the cariogenic bacteria *S.mutans*, *L.acidophilus* and *L.casei*. **Conclusion:** The use of fixed orthodontic appliances promotes changes in the microbiological profile of dental biofilms, favoring an increase in periodontopathogenic microorganisms without causing changes in the counts and proportions of cariogenic bacteria.

Keywords: fixed orthodontic appliances, oral biofilm, checkerboard, periodontal disease, caries.

INTRODUÇÃO

Atualmente um número crescente de pessoas busca tratamentos ortodônticos corretivos. No passado, as demandas funcionais, além das estéticas, eram os objetivos considerados nesses tratamentos. Com a diminuição das ocorrências de cárie, o foco voltou-se para a estética dental.¹ Em parte, porque a prevalência e a severidade das más oclusões na população moderna aumentaram² e, por outro lado a busca por melhores padrões estéticos faciais e dentais, assim como por sorrisos agradáveis intensificou-se no mundo moderno.³

Dentre as más oclusões, os apinhamentos são os maiores motivadores para os tratamentos ortodônticos. A autopercepção das irregularidades dentais e o seu impacto na estética interferem no aspecto psicoemocional do paciente. Após o tratamento ortodôntico e consequente obtenção de equilíbrio e harmonia na estética dental, há um aumento na cooperação do paciente quanto a seus cuidados com a saúde, adquirindo atitudes que contribuem para melhora da qualidade de vida.⁴

Muitos fatores podem afetar a colonização microbiana indígena presente na cavidade bucal dos seres humanos, incluindo os aparelhos ortodônticos. Quando instalados, servem como reserva de biofilme e fonte de infecções, visto que ocorre grande acréscimo nos nichos de retenção de biofilme devido à sua configuração e superfície.^{5,6} Como consequência, ocorrem mudanças significativas na quantidade e qualidade das bactérias.⁷ As primeiras espécies criam pontes de adesão que permitem a coagregação de outras espécies, provêm nutrientes e favorecem a sucessão bacteriana.^{8,9}

No entanto, a capacidade de adesão e o crescimento dos micro-organismos nos aparelhos podem também ser influenciados por fatores como: tipo de material do bráquete,¹⁰⁻¹² tipo de amarração usada para unir o fio ao aparelho,^{6,13,14} bandagem ou colagem dos acessórios ortodônticos,¹⁵⁻¹⁷ dieta,¹⁸ entre outros.

Existe interesse em se conhecer as transformações que ocorrem no ambiente bucal após a colocação de aparelhos ortodônticos, especialmente no que diz respeito às alterações na microbiota, o que poderia causar doenças, mesmo em pacientes considerados, até então, de baixo risco. Portanto, este

estudo tem o objetivo de avaliar e comparar as alterações nos níveis e no perfil de micro-organismos ocorridos após a instalação do aparelho.

MÉTODOS

O estudo realizado foi do tipo coorte prospectivo aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Faculdade de Medicina da Universidade de Brasília-DF (protocolo nº 02/2008). Os pacientes incluídos receberam informações detalhadas a respeito da pesquisa, seus objetivos, importância e benefícios. A adesão do paciente, pais ou responsáveis deu-se pela assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido de forma espontânea, não se caracterizando obrigatoriedade e/ou constrangimento. Os pacientes foram examinados inicialmente e submetidos à anamnese e ao exame clínico para avaliar se apresentavam boas condições de saúde bucal e geral. Todos os pacientes incluídos no presente estudo receberam orientações de higiene bucal com técnicas de escovação e uso correto do fio dental.

A amostra consistiu de 18 indivíduos com idade entre 11 e 19 anos (média de 13,05 anos) em tratamento em Clínicas de Ortodontia de Brasília-DF-Brasil, sendo 10 do sexo feminino e 8 do sexo masculino, constituindo-se, portanto, em uma amostra de conveniência.

Foram incluídos os pacientes que preenchiam os seguintes critérios: Apresentar idade entre 11 e 19 anos; ter dentadura permanente; não apresentar alterações sistêmicas que influenciassem ou interferissem com a saúde bucal. Foram excluídos os pacientes que faziam uso ou que tivessem utilizado hormônios esteroidais, antibióticos e/ou antissépticos bucais nos três meses anteriores ao início da pesquisa; os que tinham sido submetidos a tratamentos odontológicos nos últimos três meses; os que tivessem indicação de extrações de dentes permanentes; fumantes; grávidas ou lactantes.

Os aparelhos ortodônticos utilizados foram metálicos fixos, constituídos de bráquetes colados diretamente aos pré-molares, caninos e incisivos com resina composta (Transbond–XT, 3M UNITEK Monrovia, CA, USA), e bandas ortodônticas cimentadas nos molares com cimento de ionômero de vidro (KetacTMCem, 3M ESPE, Norristown, PA, USA). Os arcos ortodônticos de ligas de níquel e titânio foram amarrados aos bráquetes por meio de amarrilhos elásticos (Morelli Ortodontia, Sorocaba-SP, Brasil).

A coleta inicial de amostras de biofilme supragengival foi obtida da face vestibular dos incisivos centrais superiores direitos, caninos superiores direitos, segundos pré-molares superiores direitos, incisivos centrais inferiores esquerdos, caninos inferiores esquerdos, segundos pré-molares inferiores esquerdos, usando-se curetas periodontais estéreis do tipo Gracey 5-6 (Hu Friedy, Chicago, Illinois-USA), antes da instalação do aparelho. As amostras finais de biofilme supragengival foram feitas nas faces vestibulares dos mesmos dentes nas áreas adjacentes aos bráquetes, da mesma forma descrita anteriormente, em média 63 dias após a colocação do aparelho. Desta forma, ambas as coletas foram realizadas nos mesmos indivíduos em dois períodos diferentes de observação, tendo sido feitas pelo mesmo examinador (L.F.).

As amostras foram, então, transferidas individualmente para tubos plásticos estéreis do tipo Eppendorf contendo 150µl de solução de TE (10mM Tris-HCl, 0,1mM EDTA, pH 7,6), nas quais posteriormente foram adicionados 100µl hidróxido de sódio (NaOH) a 0,5M e congeladas a -20°C até o processamento. As amostras de biofilme dental foram encaminhadas ao Laboratório de Microbiologia Oral da Universidade de Guarulhos-São Paulo-Brasil, onde foram analisadas pelo método do "checkerboard DNA-DNA hybridization" descrito por Socransky et al. (1994)¹⁹ e modificado por Haffajee et al. (1997).²⁰

O processamento para identificação dos micro-organismos supragengivais foi realizado por meio da técnica do "checkerboard DNA-DNA hybridization" para 40 espécies bacterianas.¹⁹

As amostras contidas nos tubos plásticos foram fervidas por 10 minutos e neutralizadas usando-se 0,8 ml de acetato de amônia a 5 M. O DNA livre foi depositado nas fendas do "Minislot 30" (Immunitics, Cambridge, MA, EUA), tendo sido concentrado na membrana de nylon (15 x 15 cm) com carga positiva (Boehringer Mannheim, Indianápolis, IN, USA) e fixado por meio de aquecimento em forno a 120°C por 20 minutos. Cada membrana foi colocada em um "Miniblotter 45" (Immunitics, Cambridge, MA, USA), com as linhas contendo o DNA perpendiculares às canaletas do aparato. As sondas de DNA para 40 espécies bacterianas foram confeccionadas usando-se o "Random primer digoxigenin labeling kit" (Boehringer Mannheim, Indianápolis, IN, USA). Para este estudo, o kit original foi adaptado substituindo-se três das cepas

periodontopatogências por três cariogênicas (*S.mutans*, *L.acidophilus* e *L.casei*). Após a hibridização, as membranas foram abundantemente lavadas, e as sondas de DNA foram detectadas usando-se o anticorpo antidigoxigenina conjugado à fosfatase alcalina (Boehringer Mannheim, Indianápolis, IN, USA) e detectada por quimioluminescência. As duas últimas canaletas do "Minislot 30" (Immunitics) foram reservadas para a colocação dos controles, contendo uma mistura das espécies de micro-organismos investigadas pelas sondas de DNA, em duas concentrações, 10^5 e 10^6 células bacterianas. Os sinais foram convertidos para contagens absolutas pela comparação com as canaletas padrão nas membranas. A sensibilidade do teste foi ajustada para permitir a detecção de 10^4 células das espécies estudadas ajustando-se a concentração de cada sonda de DNA.

As espécies foram agrupadas de acordo com os cinco complexos microbianos (azul/ roxo, amarelo, verde, laranja e vermelho) descritos por Socransky et al. (1998)²¹, como cariogênicas e como 'outras bactérias', quando não pertencentes a nenhum dos demais grupos.

Os dados microbiológicos foram expressos em percentagem média de sítios colonizados (prevalência) por cada espécie e nível médio de cada espécie em cada amostra. Nas análises de prevalência, foram consideradas somente ausência (0) ou presença (> 0) do micro-organismo. Os níveis das diferentes espécies foram determinados por meio da frequência média dos registros 0 - 5 em cada sítio e em cada paciente no grupo. Cada sinal produzido por uma determinada sonda na amostra de biofilme foi comparado em intensidade ao sinal produzido pela mesma sonda nos dois controles contendo 10^5 e 10^6 bactérias. Assim sendo, o número 0 foi registrado quando não houve detecção do sinal; 1 foi equivalente a um sinal menos intenso que o controle de 10^5 células; 2 a aproximadamente 10^5 células; 3 entre 10^5 e 10^6 células; 4 aproximadamente 10^6 células; e 5 > 10^6 células.

Análise Estatística

Os dados microbiológicos resultaram da análise das 40 espécies bacterianas em 12 amostras de biofilme supragengival por indivíduo, e foram expressos de duas maneiras: Contagens (níveis) e % de contagem das sondas de DNA (proporção). Os níveis médios ($\times 10^5$) e a proporção de cada espécie

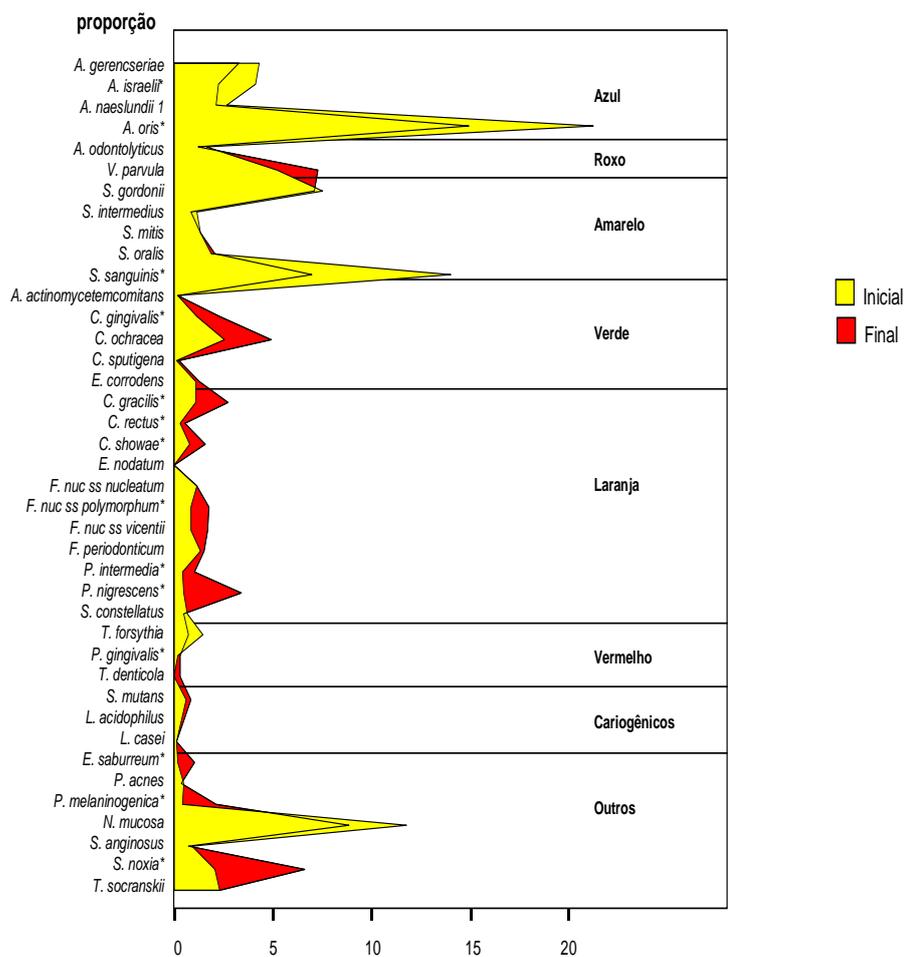
foram computados para cada sítio, depois foram calculadas as médias entre os sítios em cada indivíduo. As diferenças nas proporções, no nível médio e na contagem total de bactérias entre antes e após a instalação do aparelho foram analisadas pelos Testes de Wilcoxon. O nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$), e os testes foram realizados pelo programa SAS v. 8.1 (SAS Institute Inc. Cary, NC, USA).

RESULTADOS

Na análise comparativa da alteração de proporção das 40 espécies bacterianas analisadas antes e depois da instalação do aparelho ortodôntico fixo (figura 1), observou-se diferença estatisticamente significativa para 14 espécies periodontopatogênicas ($P < 0,05$). Não foram encontradas diferenças significantes nas espécies cariogênicas *S.mutans*, *L.acidophilus* e *L.casei* ($P < 0,05$).

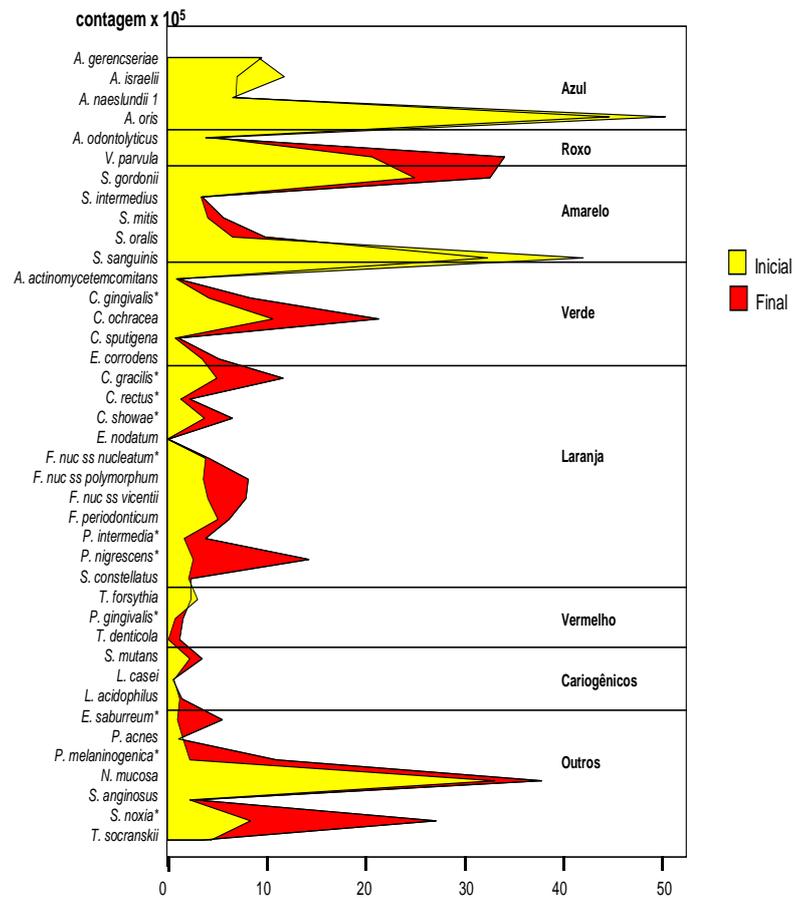
Com relação à contagem individual de cada espécie (figura 2), observou-se aumento estatisticamente significativo das bactérias *C. gingivalis*, *C. gracilis*, *C. rectus*, *C. showae*, *F. nuc ss nucleatum*, *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *P. gingivalis*, *E. saburreum*, *P. melaninogenica* e *S. noxia*, que estão relacionadas à doença periodontal ($P < 0,05$). No entanto, não houve diferença estatisticamente significativa nas bactérias cariogênicas *S. mutans*, *L. acidophilus* e *L. casei* ($P < 0,05$). Houve diferença estatisticamente significativa na contagem total do número de bactérias presentes no exame inicial (figura 3) quando comparado ao exame final para as bactérias dos complexos azul, amarelo e laranja ($P < 0,05$).

No exame final, houve um decréscimo significativo de 9,8% na contagem total de bactérias do complexo azul e de 7,5% na contagem total de bactérias do complexo amarelo comparado ao exame inicial (figura 3). Quanto à contagem total de bactérias do complexo laranja, houve um aumento no exame final (16,2%) comparado ao exame inicial (8,3%).



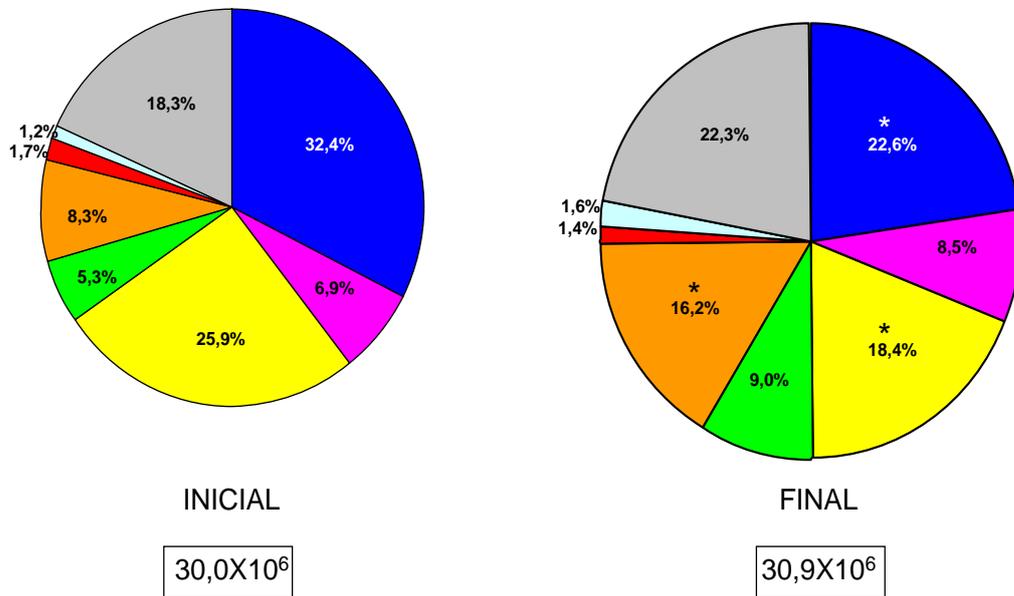
Teste Wilcoxon - * $p < 0,05$

FIGURA 1: Perfil microbiano das médias de proporção (%) das 40 espécies bacterianas presentes nas amostras de biofilme supragengival no início do estudo e após 60 dias de tratamento. As espécies foram ordenadas de acordo com os complexos microbianos descritos por Socransky et al. (1998). As diferenças entre os dois tempos avaliados foram determinadas pelo teste de Wilcoxon ($p < 0.05$) e ajustadas para as 40 comparações (Socransky et al.1991).



Teste Wilcoxon - *p<0,05

FIGURA 2: Perfil microbiano das médias de contagem ($\times 10^5$) das 40 espécies bacterianas presentes nas amostras de biofilme supragengival no início do estudo e após 60 dias de tratamento. Teste de Wilcoxon (* p<0,05).



Teste Wilcoxon - * $p < 0,05$

Os valores nos boxes indicam a contagem total do grupo – sem diferença estatística ($p > 0,05$).

FIGURA 3: Proporções (%) dos complexos microbianos presentes nas amostras de biofilme supragengival antes da colocação do aparelho ortodôntico (inicial) e após 60 dias de tratamento (final). As cores representam os diferentes complexos microbianos (Socransky et al. 1998). As áreas dos gráficos foram ajustadas para mostrar a quantidade total de microorganismos, expressas nos retângulos. Teste de Wilcoxon ($p < 0,05$).

DISCUSSÃO

Apesar de o enfoque do tratamento ortodôntico ser a correção das más oclusões e aprimoramento da estética, os pacientes ficam mais susceptíveis a doenças como cárie e gengivite.²²⁻²⁴ Assim, pesquisadores buscam em estudos clínicos e laboratoriais segurança e orientação para as práticas ortodônticas. Muitos estudos mostram que ocorrem mudanças no biofilme bucal no transcurso da terapia ortodôntica advindas do aumento dos nichos de retenção,^{16, 25, 26} mas informações sobre variações específicas nos grupos bacterianos ainda são escassas.

O presente estudo avaliou, por meio da utilização da técnica do Checkerboard, 40 espécies bacterianas presentes no biofilme supragengival dos pacientes antes da instalação de aparelhos, para, em seguida, comparar e quantificar as transformações ocorridas nessas espécies durante o uso de aparelhos metálicos fixos. A técnica do Checkerboard apresenta a vantagem de rapidamente, com baixo custo e sem necessidade da viabilidade das bactérias, processar um grande número de amostras de biofilme dental para identificação e quantificação de múltiplas espécies bacterianas, por meio de sondas de DNA marcadas com a molécula não radioativa digoxigenina.^{19,27,28}

Os resultados mostraram que, em média 63 dias após a instalação do aparelho ortodôntico metálico fixo houve diminuição na contagem total das bactérias do complexo azul e do complexo amarelo, que estão relacionadas à saúde periodontal. Houve um aumento significativo na contagem dos micro-organismos que predispõem à doença periodontal, como algumas bactérias do complexo verde (*C. gingivalis*), algumas do laranja (*C. gracilis*, *C. rectus*, *C. showae*, *F. nuc ss nucleatum*, *P. intermedia*, *P. nigrescens*,) e uma do vermelho (*P. gingivalis*), assim como das espécies de *E. saburreum*, *P. melaninogenica* e *S. noxia* (figura 3). Estes resultados estão de acordo com Anhoury et al., em 2002,¹¹ que demonstraram que tanto os bráquetes metálicos quanto os cerâmicos predispõem ao desenvolvimento de espécies periodontais.

As bactérias *P. gingivalis* e *F. nucleatum*, aumentadas nas amostras do presente estudo (figuras 1 e 2), foram detectadas em quase 75% dos usuários de aparelho em outro estudo.²⁹ A bactéria *P. gingivalis* é considerada a mais

proteolítica dentre as bactérias Gram-negativas da cavidade bucal, capaz de causar intensa destruição tecidual, estando fortemente associada com início e progressão das lesões de periodontite crônica.³⁰⁻³² O aumento na contagem de *F. nucleatum* pode ter favorecido a colonização das bactérias *C. gracilis*, *C. showae*, *C. rectus*, *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *E. saburreum*, *P. melaninogenica* e *S. noxia* (figura 1), uma vez que a *F. nucleatum* é um micro-organismo onipresente essencial no desenvolvimento do biofilme por ter a capacidade de coagregação tanto com os colonizadores iniciais quanto com os tardios do biofilme supragengival.^{11,33-36}

Além da *F. nucleatum*, as outras bactérias do complexo laranja atuam como pontes de coagregação para o desenvolvimento das bactérias do complexo vermelho, segundo o reportado por Socransky et al.^{21,37} em seus achados clínicos e em conformidade com os resultados obtidos no presente estudo. Este autor demonstrou que os micro-organismos destes dois complexos estavam significativamente elevados nos sítios que exibiam sangramento à sondagem, podendo ser então usados como indicadores clínicos de inflamação periodontal. Tal fato expõe a importância do complexo laranja na instalação dos patógenos periodontais tardios (complexo vermelho).

O aumento na colonização de micro-organismos periodontopatogênicos pode ser justificado pela sucessão bacteriana, pois, em condições favoráveis, os grupos colonizadores iniciais são substituídos pelos grupos mais patogênicos,³⁷ o que corrobora os resultados encontrados no presente estudo e explica a diminuição nas bactérias relacionadas à saúde periodontal (figura 3).²⁵

É importante salientar que o aumento na proporção e contagem de patógenos periodontais no biofilme supragengival, como *P.intermedia* - frequentemente encontrada nos quadros de gengivite - e *P.gingivalis*, após aproximadamente, dois meses de observação, demonstra o quanto a instalação do aparelho ortodôntico altera a ecologia da cavidade bucal. Assim, a colonização do biofilme supragengival por bactérias que normalmente habitam o sulco gengival pode predispor a alterações clínicas e inflamatórias nos tecidos periodontais.^{31, 36, 38-42}

Diversamente do que foi mostrado por Socransky et al. (1998),²¹ que só detectaram a *P. gingivalis* em concomitância com a ocorrência da *T. forsythia*, este micro-organismo não foi observado nas amostras avaliadas no presente estudo. Tal fato pode ser justificado pelo local de colonização bacteriana, tempo de formação e nível de maturação do biofilme, assim como pela ausência de doença periodontal nos participantes deste estudo.

Não foi possível observar, durante o período de avaliação deste estudo, alterações significativas nos níveis dos micro-organismos cariogênicos *S. mutans*, *L. acidophilus* e *L. casei* após a instalação do aparelho ortodôntico fixo. Estes achados estão de acordo com Attin et al. (2003).⁴³ Tal resultado pode estar relacionado ao intervalo curto de tempo entre as coletas de biofilme que pode não ter sido suficiente para o desenvolvimento destas espécies. Scheie et al. (1984)⁴⁴ mostraram que, mesmo após 90 dias de tratamento, os níveis de *S. mutans* tiveram aumento pouco significativo. Antagonicamente, Mattingly et al. (1983)⁴⁵ observaram um aumento linear significativa na porcentagem de *S. mutans* após a instalação de aparelho fixo, demonstrando que havia predileção desses micro-organismos pelos locais onde os bráquetes estavam colados.

É importante salientar que a capacidade de os *S. mutans* colonizarem o esmalte dentário pode ser influenciada pelo aumento de nichos de retenção de biofilme, como os que são oferecidos pelos bráquetes, como também por outros fatores como os níveis de micro-organismos presentes na saliva^{44, 46} e pela secreção de Ig A na saliva, cujas propriedades dificultam a aderência bacteriana ao esmalte dental.⁴⁷ Outro fator é a sucessão bacteriana, pois, quando há aumento de algumas espécies periodontopatogênicas, as cepas cariogênicas podem ser reduzidas.⁴⁸ A dieta deve também ser considerada. Quando a frequência de consumo de sacarose é maior, aumenta a síntese de glucano, essencial à colonização de *S. mutans*.^{9,49,50} Pode-se levar em consideração o tipo de bráquete utilizado, uma vez que os *S. mutans* apresentam menor afinidade por bráquetes metálicos em comparação aos bráquetes de porcelana.^{10,11}

Uma vez tendo sido observada a presença de espécies periodontopatogênicas no biofilme supragengival nos indivíduos do presente estudo, mesmo sem ter sido observado um aumento significativo no perfil de

micro-organismos cariogênicos, é temerário desconsiderar o risco aos quais as estruturas dentais estão expostas durante o tratamento ortodôntico.

Independentemente do tipo de material usado e da forma de fixação dos acessórios ortodônticos, os estudos têm demonstrado que o fator agregante de biofilme dos aparelhos têm impacto negativo na saúde periodontal e dentária do paciente.⁵¹ As lesões de cárie e gengivite são conseqüências negativas passíveis de incidir os dentes com acessórios ortodônticos. Orientações quanto aos cuidados com a dieta e com a higiene bucal, assim como aplicações regulares de fluoretos e/ou utilização de outro tipo de controle químico do biofilme dental devem ser instituídas nesta fase, individualizando-se as necessidades de cada paciente.^{52,53}

A desorganização do biofilme dentário com a escovação e uso do fio dental leva à supressão dos patógenos periodontais da cavidade bucal e impede a progressão da doença. Estudos clínicos têm demonstrado que o controle adequado do biofilme dentário no curso da terapia ortodôntica diminui a ocorrência de inflamação gengival, perda óssea e cárie dental.^{20,54-59}

CONCLUSÕES

De acordo com a metodologia e tempo utilizado neste estudo, pode-se concluir que a instalação do aparelho ortodôntico promoveu alterações na ecologia da cavidade bucal de forma a modificar o perfil microbiológico do biofilme supragengival.

Observou-se predisposição à colonização precoce do biofilme bucal por bactérias periodontopatogênicas como *C. gingivalis*, *C. rectus*, *C. showae*, *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *P. gingivalis*, *E. saburreum*, *P. melaninogenica* e *S. noxia*, sem implicações significativas no perfil dos micro-organismos cariogênicos.

REFERÊNCIAS

1. Samorodnitzky GR, Liran L. Self-Assessed Dental Status, Oral Behavior and Dental Anxiety. *Journal of Dental Education* 2007;69:12.
2. Evensen JP, Øgaard B. Are malocclusions more prevalent and severe now? A comparative study of medieval skulls from Norway. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2007;131(6):710-6.

3. van Gastel J, Quirynen M, Teughels W, Carels C. The relationships between malocclusion, fixed orthodontic appliances and periodontal disease. A review of the literature. *Aust Orthod J* 2007;23:121-129.
4. Klages U, Rost F, Wehrbein H, Zentner A. Perception of occlusion, psychological impact of dental esthetics, history of orthodontic treatment and their relation to oral health in naval recruits. *Angle Orthod* 2007;77(4):675-80.
5. Huser MC, Baehni PC, Lang R. Effects of orthodontic bands on microbiologic and clinical parameters. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1990;97:213-8.
6. Türkkahraman H, Sayin MO, Bozkurt FY, Yetkin Z, Kaya S, Onal S. Archwire ligation techniques, microbial colonization and periodontal status in orthodontically treated patients. *Angle orthod* 2005;75:227-32.
7. Rosenbloom RG, Tinanoff N. Salivary *S mutans* levels in patients before, during, and after orthodontic treatment. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 1991;100:35–37.
8. Gibbons RJ, Nygaard M. Interbacterial aggregation of plaque bacteria. *Arch Oral Biol* 1970;15:1397–1400.
9. Kolenbrander PE, Palmer Jr RJ, Rickard AH, Jakubovics NS, Chalmers, NI, Diaz PI. Bacterial interactions and successions during plaque development. *Periodontology 2000* 2006;42:47-79.
10. Fournier A, Payant L, Bouclin R. Adherence of *Streptococcus mutans* to orthodontic brackets. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1998;114:414–417.
11. Anhoury P, Nathanson D, Hughes CV, Socransky S, Feres M. Microbial profile on metallic and ceramic bracket materials. *Angle Orthodontist* 2002;72:4.
12. Brusca MI, Chara O, Sterin-Borda L, Rosa AC. Influence of different orthodontic brackets on adherence of microorganisms in vitro. *Angle Orthodontist* 2007;77:2.
13. Brêtas SB, Macari S, Elias AM, Ito IY, Matsumoto MAN. Effect of 0.4% stannous fluoride gel on *Streptococci mutans* in relation to elastomeric

- rings and steel ligatures in orthodontic patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2005;127:4.
14. Souza RA, Magnani MBBA, Nouer DF, Silva CO, Klein MI, Sallum EA, Gonçalves RB. Periodontal and microbiologic evaluation of 2 methods of archwire ligation: Ligature wires and elastomeric rings. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2008;134:4.
 15. Bloom RH, Brown LR. A study of the effects of orthodontic appliances on oral microbial flora. *Oral Surg Oral Med Oral Path* 1964;17:658-67.
 16. Diamanti-Kipiotti A, Gusberti FA, Lang NP. Clinical and microbiological effects of fixed orthodontic appliances. *J. Clin Periodontol* 1987;14:236-33.
 17. Alexander SA. Effects of orthodontic attachments in the gingival health of permanent second molars. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1991;100(4):337-340.
 18. Marcotte H, Lavoie MC. Oral microbial ecology and the role of salivary immunoglobulin A. *Microbiol Mol Biol Rev* 1998;62:1.
 19. Socransky SS, Smith C, Martin L, Paster BJ, Dewhirst FE, Levin AE. Checkerboard DNA-DNA hybridization. *Biotechniques*. 1994;17:788-92.
 20. Haffajee AD, Cugini MA, Dibart S, Smith C, Kent RL Jr, Socransky SS. The effect of SRP on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases. *Journal of Clinical Periodontology* 1997; 24: 324–334.
 21. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent Jr RL. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 1998;25:134-144.
 22. Zachrisson S, Zachrisson B. Gingival condition associated with orthodontic treatment. *Angle Orthod* 1972;42: 26-34.
 23. Kloehn JS, Pfeifer JS. The effect of orthodontic treatment on the periodontium. *Angle Orthod* 1974;44:127-34.
 24. Paolantonio M, Festa F, di Placido G, D'Attilio M, Catamo G, Piccolomini R. Site-specific subgingival colonization by *Actinobacillus*

- actinomyces comitans* in orthodontic patients. Am J Orthod Dentofacial Orthop 1999;115:423-8.
25. Atack NE, Sandy JR, Addy M. Periodontal and microbiological changes associated with the placement of orthodontic appliances A review. J Periodontol 1996; 67:78-85.
26. Gwinnett AJ, Ceen RF. Plaque distribution on bonded brackets: A scanning microscope study. Am J Orthod 1997;75:667-77.
27. Socransky SS, Haffajee AD. Microbiologia da doença periodontal. In: Lindhe J, Karring T, Lang NP. Tratado de Periodontia clínica e implantologia oral. 3ª ed. Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan, 1999. p.92-126.
28. Feres M, Gonçalves C. O impacto do diagnóstico microbiológico na terapêutica periodontal. In: Oppermann RV, Rosing CK. Periodontia: ciência e clínica. 1ª ed. São Paulo, Artes Médicas, 2001. p. 39-56.
29. Ristic M, Svabic M V, Sasic M, Zelic O. Clinical and microbiological effects of fixed orthodontic appliances on periodontal tissues in adolescents. Orthodontics and Craniofacial Research 2007;10(4):187-195.
30. Mihara J, Holt SC. Purification and characterization of fibroblast activating factor isolated from *Porphyromonas gingivalis* W50. Infect Immun 1993;61:588-95.
31. Takeuchi Y, Umeda M, Sakamoto M, Benno Y, Huang Y, Ishikawa I. *Treponema socranskii*, *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis* are associated with severity of periodontal tissue destruction. J Periodontol 2001;72:1354-63.
32. Moore WEC, Moore LVH. The bacteria of periodontal diseases. Periodontol 2000 1994;5:66-77.
33. Ramberg P, Sekino S, Uzel NG, Socransky S, Lindhe J. Bacterial colonization during de novo plaque formation. J Clin Periodontol 2003;30:990-995.

34. Diaz PI, Zilm PS, Rogers AH. *Fusobacterium nucleatum* supports the growth of *Porphyromonas gingivalis* in oxygenated and carbon-dioxide-depleted environments. *Microbiology* 2002;148:467–472.
35. Kroes I, Lepp PW, Relman DA. Bacterial diversity within the human subgingival crevice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:14547–14552.
36. Paster BJ, Boches SK, Galvin JL, Ericson RE, Lau CN, Levanos VA, Sahasrabudhe A, Dewhirst FE. Bacterial diversity in human subgingival plaque. *J Bacteriol* 2001;183:3770–3783.
37. Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontology* 2000,2005;38:135–187.
38. Löe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental gingivitis in man. *J Periodontol* 1965;36:177-87.
39. Axelsson P, Lindhe J. The effect of a preventive programme on dental plaque, gingivitis and caries in schoolchildren. Results after one and two years. *J Clin Periodontol* 1974;1(2):126–13.
40. Li J, Helmerhorst EJ, Leone CW, Troxler RF, Yaskell T, Haffajee AD, Socransky SS, Oppenheim FG. Identification of early microbial colonizers in human dental biofilm. *J Appl Microbiol* 2004;97:1311–1318.
41. Ximenez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS. Microbial composition of supra and subgingival plaque in subjects with adult periodontitis. *J Clin Periodontol* 2000;27:722–732.
42. Ximenez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS. Comparison of the microbiota of supra- and subgingival plaque in health and periodontitis. *J Clin Periodontol* 2000;27:648–657.
43. Attin R, Tuna A, Attin T, Brunner E, Noack MJ. Efficacy of differently concentrated chlorhexidine varnishes in decreasing mutans streptococci and lactobacilli counts. *Archives of Oral Biology* 2003;48:503–509.
44. Scheie AA, Arnesberg P, Krogstad O. Effects of orthodontic treatment on prevalence of *Streptococcus mutans* in plaque and saliva. *Scand J Dent Res* 1984;92:211–217.

45. Mattingly J.A, Sauert GJ, Yanceyt JM, Arnold RR. Enhancement of *Streptococcus Mutans* colonization by direct bonded orthodontic appliances. J Dent Res 1983;62(12):1209-1211.
46. Corbett JA, Brown LR, Keene HJ, Horton IM. Comparison of Streptococcus mutans concentrations in non-banded and banded orthodontic patients. J Dent Res 1981;60:1936-42.
47. Liljemark WF, Bloomquist CG, Germaine GR. Effect of bacterial aggregation on the adherence of oral streptococci to hydroxyapatite. Infect. Immun 1981;31:935–941.
48. Bowden GH, Hamilton IR. Environmental pH as a factor in the competition between strains of the oral streptococci *Streptococcus mutans*, *S. sanguis*, and “*S. mitior*” growing in continuous culture. Can J Microbiol 1987;33:824–827.
49. Marsh PD. Sugar, fluoride, pH and microbial homeostasis in dental plaque. Proc Finn Dent Soc 1991;87:515–525.
50. Marsh P, Martin MV. Oral microbiology 1992;3rd ed. Chapman & Hall, Ltd., London, United Kingdom.
51. van Gastel J, Quirynen M, Teughels W, Coucke W, Carels C. Longitudinal changes in microbiology and clinicas periodontal variables after placement of fixed orthodontic appliances. J Periodontol 2008;79:2078-86.
52. Alexander CM, Jacobs JD, Turpin DL. Disease control in an orthodontic practice. Am J Orthod 1977;71:79-93.
53. Silva Filho OG. et al. Programa supervisionado de motivação e instrução de higiene e fisioterapia bucal em crianças com aparelho ortodôntico. Rev USP 1990;4(1):11-19.
54. Zachrisson BU, Alnaes L. Periodontal condition in orthodontically treated and untreated individuals II. Alveolar bone loss: radiographic findings. Angle Orthod 1974;44:48-55.
55. Wright GZ, Banting DW, Feasby WH. Effect of interdental flossing on the incidence of proximal caries in children. J Dent Res 1977;56:574-578.

56. Graves RC, Disney JA, Stam JW. Comparative effectiveness of flossing and brushing in reducing interproximal bleeding. *J Periodontol* 1989;60:243-247.
57. Axelsson P, Lindhe J. Effect of controlled oral hygiene procedures on caries and periodontal disease in adults. *J Clin Periodontol* 1978;5:133-151.
58. Bastos JRM, Henriques JFC, Olympio KPK. Manual de prevenção de cárie dentária e doença periodontal em pacientes sob tratamento ortodôntico. Bauru: Faculdade de Odontologia de Bauru 2002.
59. Olympio KPK, Bardal PAP, Henriques JFC, Bastos JRM. Prevenção de cárie dentária e doença periodontal em Ortodontia: uma necessidade imprescindível. *Rev Dent Press Ortodon Ortop Facial* 2006;11(2):110-119.

CAPÍTULO III:
Discussão Geral
Considerações Finais
Perspectivas

DISCUSSÃO GERAL

É sabido que a prevalência e a severidade das más oclusões na população moderna aumentaram, tornando crescente também a busca por tratamentos ortodônticos nos últimos anos, parte por questões estéticas e parte por questões funcionais e biológicas.

Apesar de a proposta deste trabalho ter sido avaliar as alterações microbiológicas ocorridas na vigência do tratamento ortodôntico em adolescentes, os resultados aqui obtidos podem ser extrapolados também para os tratamentos de pacientes adultos e idosos.

No entanto, é importante lembrar que os pacientes com comprometimento periodontal prévio diferem daqueles com o periodonto sadio, como os incluídos neste estudo. Desta forma, devem ser levadas em conta as necessidades e limitações individuais de cada paciente, no sentido de se averiguar, antes da colocação do aparelho, a real capacidade dos tecidos periodontais e dentários de receberem a terapia.

De uma forma bastante similar, todos os ortodontistas que participaram disponibilizando pacientes para a amostra deste estudo prescrevem técnicas de higiene bucal para seus pacientes. Não obstante, observou-se nos adolescentes reduzido empenho com a escovação e muitas vezes desvalorização dos cuidados recomendados pelo profissional. Para este público, o monitoramento precisa ser maior, mesmo por sua dieta ser normalmente mais cariogênica que a dos adultos.

É sabido que a movimentação ortodôntica, ainda que apropriadamente realizada, induz a alterações geralmente transitórias dos tecidos gengivais, notadamente a hiperplasia gengival. Caso haja doença periodontal simultânea ou previamente ao uso do aparelho, essas alterações podem evoluir até patamares mais patológicos. Assim, a anamnese e exame clínico do candidato ao tratamento ortodôntico precisam ser realizadas com bastante acurácia.

Uma vez estando livre de doenças bucais e gozando de boa saúde geral, o paciente pode dar início à terapia ortodôntica. Durante este período, é importante que seja inserido em programas de higiene bucal para manter a integridade apresentada inicialmente.

CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS

Este estudo teve por objetivo avaliar, durante o uso de aparelhos ortodônticos metálicos fixos, a ocorrência de alterações na microbiota bucal com potencial deletério para os dentes e tecidos de suporte periodontal.

Os resultados mostraram que o aparelho ortodôntico favorece o desenvolvimento de bactérias periodontopatogênicas, confirmando-se a importância do aparelho como reservatório de patógenos periodontais. Apesar de as contagens e proporções dos micro-organismos cariogênicos não terem mostrado variações significantes entre as análises, o risco de haver descalcificações no esmalte durante o tratamento ortodôntico é verdadeiro, tendo sido comprovado em diversos estudos.

Um fator que deve ser considerado é que os participantes deste estudo provieram de consultórios particulares do DF, sendo indivíduos com acesso a informações e relativamente cientes de noções de saúde e higiene bucal. No entanto, verificou-se que tal fato não suprimiu a disposição de desenvolver alterações na microbiota bucal destes indivíduos.

Tais ocorrências servem como alerta aos profissionais da odontologia, visto que não somente o ortodontista está envolvido com a saúde do paciente em tratamento ortodôntico, mas uma equipe interdisciplinar precisa contribuir nas áreas demandadas.

É importante lembrar que os ortodontistas podem monitorar de perto seus pacientes, uma vez que os retornos aos seus consultórios são mais frequentes, e realizar as indicações para as especialidades adequadas. Desta forma, zelar com maior precisão pela saúde dos pacientes confiados a seus cuidados, evitando-se os efeitos indesejáveis.

A fim de transpor os achados microbiológicos descritos neste estudo até a esfera clínica e permitir ao profissional, sem a necessidade de testes microbiológicos laboratoriais, monitorar clinicamente as alterações dos tecidos periodontais de seus pacientes, um trabalho contínuo a este está em fase de elaboração. Intitulado "*Avaliação da condição periodontal com o uso de aparelhos ortodônticos fixos*", objetiva determinar os efeitos dos aparelhos na saúde periodontal, baseando-se nas mudanças detectadas no periodonto após

3 meses de utilização do aparelho, tendo sido correlacionadas aos testes do “Checkerboard DNA hybridization” da amostra do presente estudo.

ANEXOS

**ANEXO 1 - Parecer do Comitê de Ética em
Pesquisa da Faculdade de Medicina da
Universidade de Brasília.**

ANEXO 2 – Termo de consentimento informado, questionário de anamnese e recomendações importantes.

UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

A -Consentimento informado:

PESQUISA

CONVITE A PARTICIPAR

Você está sendo convidado a participar de uma pesquisa a ser realizada pelo Programa de Pós-Graduação (Mestrado) Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília, que visa avaliar as alterações que ocorrem no número e espécies de microorganismos (bactérias e fungos) após a colocação dos aparelhos ortodônticos.

PROCEDIMENTOS

Esta pesquisa constará de exame clínico da gengiva e dos dentes superiores e inferiores, através de um espelho bucal. Este exame será realizado por um ortodontista antes e 60 dias depois da colocação do aparelho para coletar material microbiológico (biofilme bacteriano) através da raspagem realizada com uma cureta pequena na superfície dentária, para posterior análise microbiológica.

BENEFÍCIO DO EXPERIMENTO

Os resultados desta pesquisa poderão contribuir para saber quais são as alterações que ocorrem na quantidade e nas espécies bacterianas antes e após a colocação do aparelho ortodôntico. Desta forma, o ortodontista poderá orientar aos pacientes com mais precisão, enfatizando os devidos cuidados que devem ser tomados quanto à correta higienização bucal no período de uso do aparelho.

CONFIDENCIALIDADE

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.

OBRIGAÇÕES FINANCEIRAS

Este projeto não implicará em qualquer ônus 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.

ESCLARECIMENTO E DÚVIDAS

O paciente ou o responsável pelo menor terá 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 paciente ainda será informado dos resultados dos exames aos quais se submeteu (exame clínico da gengiva e análise microbiológica), de forma a saber, dos procedimentos que serão adotados no tratamento ortodôntico e em relação a sua vida diária.

RETIRADA DO CONSENTIMENTO

O paciente ou o responsável pelo menor tem a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento que desejar e deixar de participar da pesquisa, sem qualquer prejuízo ao seu tratamento ortodôntico.

A sua participação neste estudo é voluntária. A sua decisão ou a de seu responsável em não participar neste estudo não afetará qualquer atividade presente ou futura que vier a ter com a Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

CONSENTIMENTO PÓS – INFORMAÇÃO

Eu....., responsável pelo menor....., certifico que li todas as informações contidas neste termo e que me foi suficientemente esclarecido todos os itens, não restando qualquer dúvida quanto à minha participação ou do menor pelo qual sou responsável, se restringirá ao exame clínico da gengiva e do exame microbiológico.

Tenho consciência que minha participação ou do menor pelo qual sou responsável como voluntário, não me auferirá nenhum privilégio, seja ele de caráter financeiro ou no prosseguimento do meu tratamento. Portanto, estou plenamente de acordo com a realização dos exames. Assim, concordo em participar ou autorizo o menor pelo qual sou responsável a participar do trabalho de pesquisa exposto acima.

Brasília-DF,de.....200_.

Nome (legível): _____

Assinatura : _____

Testemunha: _____

B- Questionário de Anamnese

(a ser respondido paciente ou responsável).

Nome do paciente:.....

Prezado paciente,

Suas respostas são confidenciais e farão parte do projeto de pesquisa do Curso de Mestrado em Ciências da Saúde da Universidade de Brasília (UNB) que está sendo desenvolvido junto a pacientes usuários de aparelhos

ortodônticos fixos de consultórios particulares do Distrito Federal. Portanto, sinta-se à vontade para quaisquer esclarecimentos sobre qualquer uma delas. O importante é que sejam verdadeiras, pois elas serão objeto de desenvolvimento de 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 ou esteve usando contraceptivos ou qualquer tipo de hormônio nos últimos 03 meses?

() Sim () Não

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

() Sim () Não

6) Está usando ou usou algum anti-séptico ou irrigador bucal como parte dos hábitos de higiene bucal nos últimos 03 meses?

() Sim () Não

7) Você fuma?

() Sim () Não

8) Realizou algum tipo de tratamento odontológico nos últimos 03 meses?

() Sim () Não

Qual? _____

13) Já usou aparelho ortodôntico anterior a este tratamento?

() Sim () Não

De que tipo? _____

Brasília, ____ de _____ de 200_.

Assinatura do Paciente ou Responsável

C- Recomendações Importantes

- 1.Você está usando um aparelho ortodôntico. A sua higienização bucal deverá ser a melhor possível.
- 2.Evite alimentos que contém açúcares, principalmente entre as refeições.
- 3.Evite alimentos duros e pegajosos para não danificar seu aparelho.
- 4.Utilize somente escova dental marca oral B 35 em todas as escovações após as refeições.
- 5.Utilizar o fio dental após todas as refeições.
- 6.Não utilizar nenhum tipo de enxaguatórios, tais como, cepacol, listerine, etc, para fazer a higienização.
- 7.Não fazer nenhuma aplicação de flúor, se houver necessidade nós indicaremos.
- 8.Se necessitar de tomar medicamento, tais como antiinflamatório, antibiótico, por favor nos comunique, se possível antes de tomá-lo.
- 9.Se houver necessidade de realizar algum procedimento odontológico, como restauração, endodontia (canal), exodontia, por favor nos comunique, se possível antes.

Dra. Luciana Franco

(61) 3327-2954

ANEXO 3- Artigo - “Avaliação da microbiota bucal antes e após a instalação de aparelhos ortodônticos” em língua inglesa

Evaluation of Oral Microflora Before and After Orthodontic Appliances Placement

ABSTRACT

Background: Changes in oral biofilm during the use of orthodontic appliances can predispose patients to diseases. The purpose of this study was to quantify, qualify and compare the periodontopathogenic and cariogenic microorganisms before and during the use of fixed metallic appliances. **Methods:** The study design was a prospective cohort with 18 individuals (average age 13.05 yrs) that began orthodontic treatment with fixed metallic appliances. Supragingival biofilm samples were collected from the labial surfaces of the upper and lower central incisors, canines and second premolars before appliance placement and after approximately 60 days of treatment. The samples were analyzed using the “Checkerboard” method of DNA-DNA hybridization. The significance of the differences between the two groups was determined by the Wilcoxon test ($p < 0.05$). **Results:** There was a statistically significant increase in the counts and proportions averages of the periodontopathogenic bacteria *C. gingivalis*, *C. showae*, *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *P. gingivalis*, *E. saburreum*, *P. melaninogenica* and *S. noxia*. However, there was no statistically significant increase in the cariogenic bacteria *S. mutans*, *L. acidophilus* and *L. casei*. **Conclusion:** The use of fixed orthodontic appliances promotes changes in the dental biofilm microbiological profile, favoring an increase in periodontopathogenic microorganisms without causing changes in the cariogenic bacteria counts and proportions.

INTRODUCTION AND LITERATURE REVIEW

Currently, an increasing number of people are seeking corrective orthodontic treatment. In the past, functional and aesthetics demands were the objectives considered in these treatments. With the reduction of the occurrence of caries, the focus has turned towards dental aesthetics.¹ This is partly due to the fact that the prevalence and severity of malocclusions in the modern population have increased,² and because the search for better facial and dental aesthetic standards, as well as for pleasant smiles, has intensified in the modern world.³

Among malocclusions, crowding is the biggest motivator for orthodontic treatments. The self-perception of dental irregularities and its impact on aesthetics interferes in the psycho-emotional state of the patient. However, after orthodontic treatment and the consequent achievement of balance and harmony of the dental aesthetics, there is an increase in patient cooperation in terms of their health care. This, in turn develop patient attitudes that contribute to an improvement in the quality of life.⁴

Many factors can affect the indigenous microbial colonization present in the oral cavity of human beings, including orthodontic appliances. When installed, serve as reservoir for biofilm and a source of infections because they provide a significant increase in biofilm retention niches due to their configuration and surface quality.^{5,6} Consequently, significant changes occur in the quantity and quality of the bacteria.⁷ The first species create points of adhesion that allow for the co-aggregation of other species, providing nutrients and favoring bacterial succession.^{8,9}

However, the adhesive capacity and growth of microorganisms on appliances can also be influenced by factors such as: the material type of the bracket¹⁰⁻¹², the type of mooring used to attach the wire to the appliance,^{6,13,14} the banding or bonding of orthodontic accessories¹⁵⁻¹⁷ and diet,¹⁸ among others.

There is increasing interest in understanding the transformations that can occur in the oral environment after the placement of orthodontic appliances, especially in what it indicates about the changes in the microbiota, which could cause disease even in patients considered low risk. Therefore, the objective of this study was to evaluate and compare the changes in the levels and profile of microorganisms that occur after installation of the appliance.

METHODS

The completed study was a prospective cohort-type study approved by the Ethics and Research Committee of the College of Medicine at the Universidade de Brasília-DF (protocol # 02/2008). The included patients received detailed information regarding the research, its objectives, importance and benefits. Patient, parent or guardian compliance was given by voluntarily signing the Free and Clarified Consent Form without being obliged and/or constrained. The patients were initially examined, and an anamnesis and clinical examination were performed to evaluate whether they were in good oral and general health. All of the patients included in the present study received oral hygiene instructions including brushing techniques and the correct use of dental floss.

The sample consisted of 18 individuals of 10 females and 8 males between the ages of 11 and 19 yrs (average of 13.05 yrs) that were undergoing treatment in orthodontic private practices in Brasilia-DF-Brazil.

The patients who met the following criteria were included: between 11 and 19 years of age; having permanent teeth; not presenting with systemic changes that would influence or interfere with oral health. The patients who met the following criteria were excluded: those who use or have used hormonal steroids, antibiotics and/or oral antiseptics in the three months prior to the beginning of the study; those who had received dental treatments in last the three months; those who had an indication of permanent tooth extractions; smokers; those that were pregnant or breast feeding.

The orthodontic appliances used were metallic fixtures consisting of brackets bonded directly to premolars, canines and incisors with a composite resin (Transbond-XT, 3M UNITEK Monrovia, CA, USA) and orthodontic bands cemented onto the molars with ionomer glass cement (KetacTMCem, 3M ESPE, Norristown, PA, USA). The orthodontic arcs made of titanium and nickel alloys were affixed to the brackets by elastic bands (Morelli Ortodontia, Sorocaba-SP, Brazil).

The initial collection of supragingival biofilm samples was obtained from the vestibular face of the right central superior incisors, right superior canines, right superior second premolars, left central inferior incisors, left inferior canines and left second inferior premolars by using sterile Gracey type 5/6 periodontal

curettes (Hu Friedy, Chicago, Illinois-USA) before installing the appliance. The final supragingival biofilm samples were collected from the vestibular face of the same teeth in the areas adjacent to the brackets as previously described on average 63 d after the placement of the appliance. Thus, both samples were collected from the same individuals during two different observation periods that were conducted by the same examiner (L.F.).

The samples were then individually transferred to sterile plastic Eppendorf type tubes containing 150 µl of a TE solution (10 mM Tris-HCl, 0.1 mM EDTA, pH 7.6), to which 100 µl 0.5 M sodium hydroxide (NaOH) was later added and frozen at -20°C until processing. The dental biofilm samples were sent to the Oral Microbiology Laboratory at the Universidade de Guarulhos-São Paulo, Brazil, where the samples were analyzed by the “checkerboard DNA-DNA hybridization” method described by Socransky et al. (1994)¹⁹ and modified by Haffajee et al. (1997).²⁰ The processing for identification of the supragingival microorganisms was conducted using the “checkerboard DNA-DNA hybridization” technique for 40 bacterial species.¹⁹

The samples contained in the plastic tubes were boiled for 10 min and neutralized using 0.8 ml of 5 M ammonium acetate. The free DNA was deposited into the slots on the “Minislot 30” (Immunelectrics, Cambridge, MA, USA) after being concentrated on a nylon membrane (15 x 15 cm) with a positive charge (Boehringer Mannheim, Indianapolis, IN, USA) and fixed by heating in an oven at 120°C for 20 min. Each membrane was placed in a “Miniblotter 45” (Immunelectrics, Cambridge, MA USA) with the lines containing the DNA perpendicular to the channels of the apparatus. The DNA probes for the 40 bacterial species were made by using a “Random primer digoxigenin labeling kit” (Boehringer Mannheim, Indianapolis, IN, USA). For this study, the original kit was adapted by replacing three of the periodontopathogenic strains with three cariogenic strains (*S. mutans*, *L. acidophilus* and *L.casei*). After hybridization, the membranes were amply washed, and the DNA probes were labeled using anti-digoxigenin antibodies conjugated to alkaline phosphatase (Boehringer Mannheim, Indianapolis, IN, USA) and detected by chemiluminescence. The last two channels of the “Minislot 30” (Immunelectrics) were reserved for the placement of controls, which contained a mixture of the microbial species that were being investigated at two concentrations (10^5 and

10^6 bacteria). The signals were converted to absolute counts for comparison with the standard channels on the membranes. The test sensitivity was adjusted to permit detection of 10^4 cells of the studied species by adjusting the concentration of each DNA probe.

The species were grouped according to the five microbial complexes (blue/ purple, yellow, green, orange and red) described by Socransky et al. (1998)²¹, as cariogenic and as 'other bacteria' (when not belonging to any other group).

The microbiological data were expressed as the mean percentage of colonized sites (prevalence) for each species and the average level of each species in each sample. In the prevalence analyzes, only the absence (0) or presence (> 0) of the microorganism was considered. The levels of the different species were determined by the average frequency of records 0 - 5 in each site and in each patient group. Each signal produced for one determinant probe in the biofilm sample was compared in intensity to the signal produced by the same probe in the two controls containing 10^5 and 10^6 bacteria. Thus, the number 0 was recorded when there was no signal detention; 1 was equivalent to a signal less intense than the 10^5 control cells; 2 to approximately 10^5 cells; 3 between 10^5 and 10^6 cells; 4 approximately 10^6 cells; and 5 $> 10^6$ cells.

The resultant microbiological data from the analysis of the 40 bacterial species in 12 supragingival biofilm samples per individual were expressed in two ways: Counts (levels) and percentages of DNA probe counts (proportion). The average levels ($\times 10^5$) and the proportion of each species were computed for each site, and the average between the sites in each individual was calculated later. The differences in the proportions, the average level and the total bacterial counts before and after the apparatus was installed were analyzed by the Wilcoxon test. The level of significance used was 5% ($p < 0.05$), and the tests were conducted using the SAS v. 8.1 program (SAS Institute Cary Incorporation, NC, USA).

Statistical Analysis

The resultant microbiological data from the analysis of the 40 bacterial species in 12 supragingival biofilm samples per individual were expressed in two ways: Counts (levels) and percentages of DNA probe counts (proportion).

The average levels ($\times 10^5$) and the proportion of each species were computed for each site, and the average between the sites in each individual was calculated later. The differences in the proportions, the average level and the total bacterial counts before and after the apparatus was installed were analyzed by the Wilcoxon test. The level of significance used was 5% ($p < 0.05$), and the tests were conducted using the SAS v. 8.1 program (SAS Institute Cary Incorporation, NC, USA).

RESULTS

In the comparative analysis of the change of proportion of the 40 bacterial species analyzed before and after the installation of the fixed orthodontic appliance (Figure 1), statistically significant differences were observed for 14 periodontopathogenic species ($P < 0.05$). We did not observe significant differences in the cariogenic species *S. mutans*, *L. acidophilus* and *L. casei* ($P < 0.05$).

With regards to the individual counts for each species (Figure 2), we observed statistically significant increases for the bacterial species *C. gingivalis*, *C. gracilis*, *C. rectus*, *C. showae*, *F. nuc ss nucleatum*, *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *P. gingivalis*, *E. saburreum*, *P. melaninogenica* and *S. noxia*, which have been related to periodontal disease ($P < 0.05$). However, there was no statistically significant difference in the cariogenic bacterial species *S. mutans*, *L. acidophilus* and *L. casei* ($P < 0.05$). There was a statistically significant difference in the total number of bacterial counts present in the initial exam (Figure 3) when compared to the final examination for the bacteria of the blue, yellow and orange complexes ($P < 0.05$).

In the final examination, there was a significant decrease of 9.8% in the total bacterial count of the blue complex and 7.5% in the total bacterial count of the yellow complex when compared to the initial examination (figure 3). Concerning the total bacterial count of the orange complex, there was an increase in the final examination (16.2%) compared to the initial examination (8.3%).

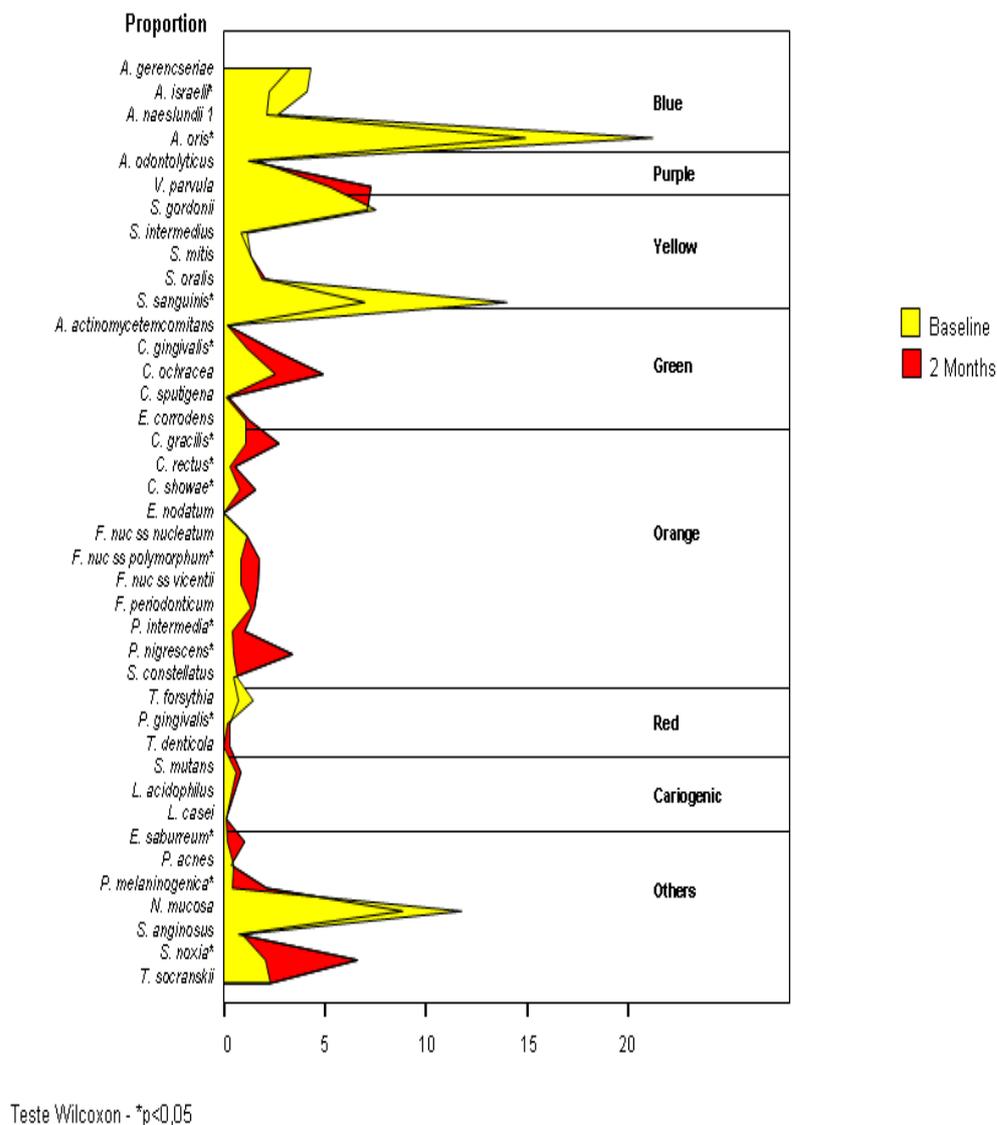
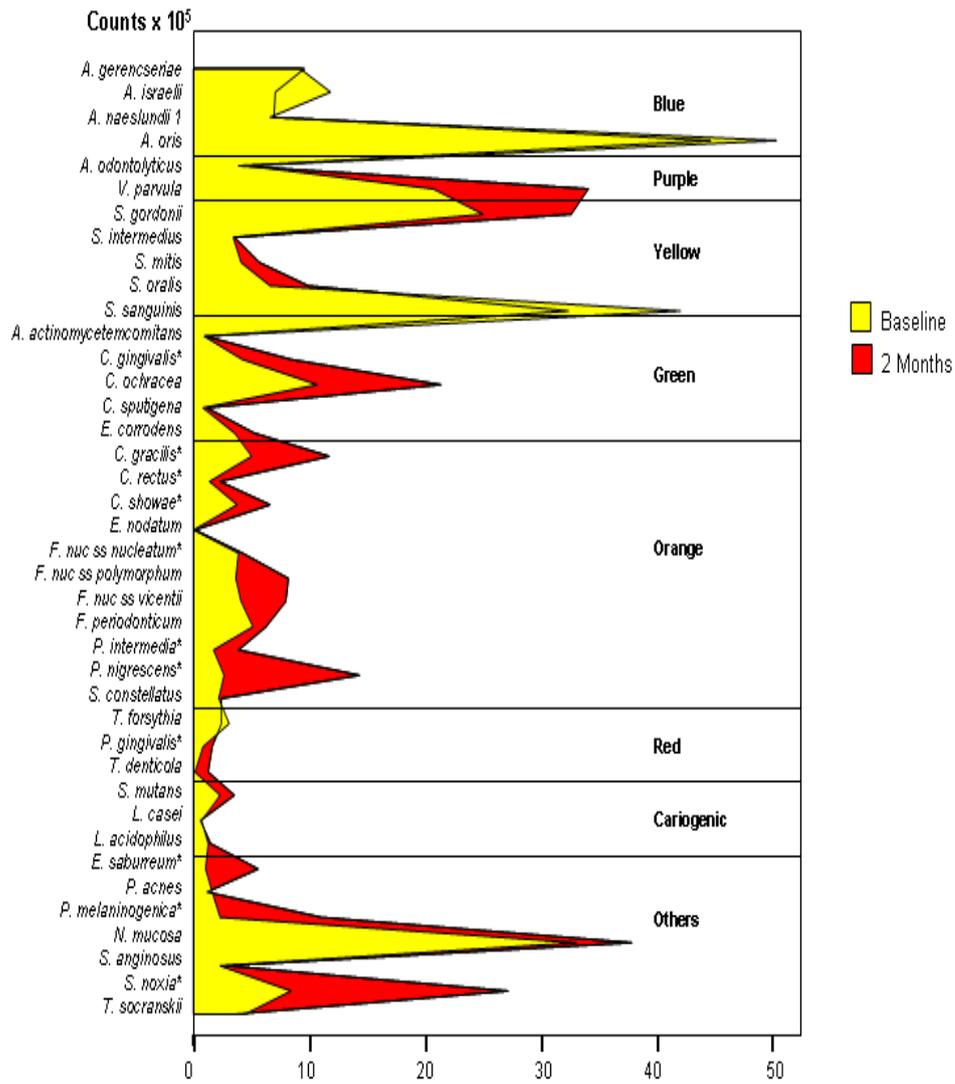


FIGURE 1: Mean percentage (%) of the microbial profile of the 40 bacterial species present in the supragingival biofilm samples at baseline and after 60 days of treatment. The species were ordered according to the microbial complexes described by Socransky et al. (1998). The significance of differences between the two time points was assessed using the Wilcoxon test ($p < 0.05$) and adjusted for 40 comparisons (Socransky et al. 1991).



coxon - *p<0,05

FIGURE 2: Mean counts (x10⁵) of the 40 test bacterial species present in the supragingival biofilm samples at the beginning of the study and after 60 days of treatment. Wilcoxon test (* p<0.05).

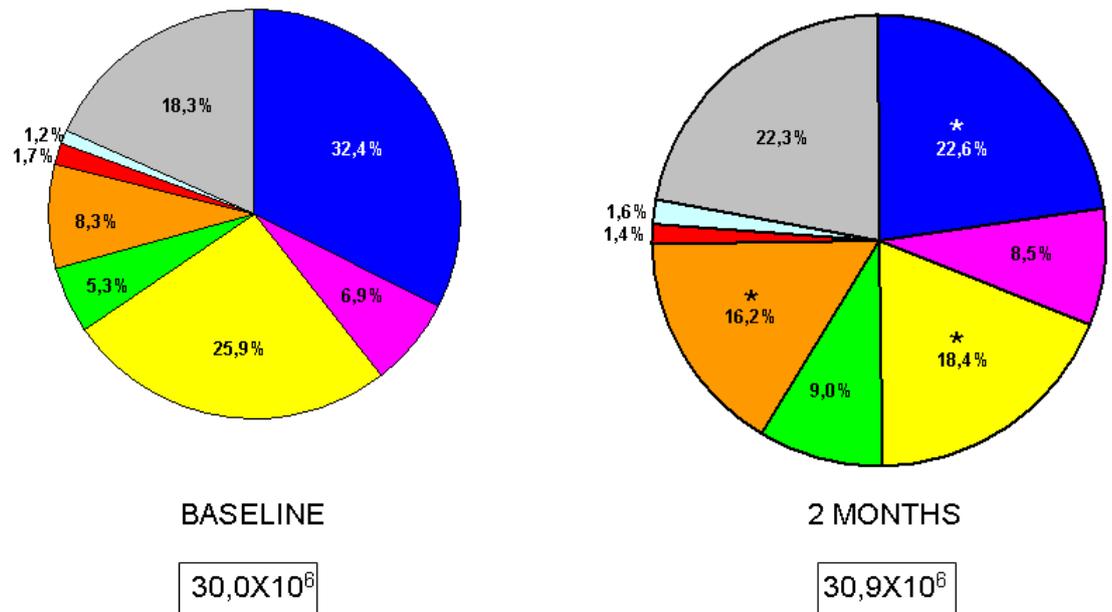


FIGURE 3: Mean proportion (%) of each microbial complex present in the supragingival biofilm samples before placing the orthodontic appliance (initial) and after 60 days of treatment (final). The colors represent the different microbial complexes (Socransky et al. 1998). The areas of the graphs were adjusted to show the total quantity of microorganisms, expressed in the rectangles. Wilcoxon test ($p < 0.05$).

DISCUSSION

Although the focus of orthodontic treatment is to correct malocclusions and improve aesthetics, patients become more susceptible to diseases such as caries and gingivitis.²²⁻²⁴ As a result, researchers have sought safety and guidance information for orthodontic practices from clinical and laboratory studies. Many studies have shown that changes in the oral biofilm occur during the course of orthodontic therapy, due to an increase in retention niches.^{16, 25, 26} However, information about specific variations in the groups of bacteria is still scarce.

Using the Checkerboard technique, the present study evaluated 40 bacterial species present in supragingival biofilms from patients before the installation of orthodontics appliances in order to compare and quantify the transformations that occur among these species during the use of fixed metallic appliances. The Checkerboard technique offers the advantage of speed at a low cost without the need for bacterial viability and allows a large number of dental biofilm samples to be processed for identification and quantification of multiple bacterial species using DNA probes marked with the non-radioactive molecule digoxigenin.^{19, 27, 28}

The results show that, there was a reduction in the total bacterial counts of the blue and the yellow complexes on average 63 d after the installation of the fixed metallic orthodontic appliance, these complexes are related to periodontal health. There was also a significant increase in the microorganism counts that predispose a patient to periodontal disease, such as bacteria of the green (*C. gingivalis*), the orange (*C. gracilis*, *C. rectus*, *C. showae*, *F. nuc ss nucleatum*, *P. intermedia*, *P. nigrescens*) and the red (*P. gingivalis*) complexes, as well as the species *E. saburreum*, *P. melaninogenica* and *S. noxia* (Figure 3). These results agree with those of Anhoury et al. (2002) who demonstrated that metallic and ceramic brackets predispose a patient to the development of periodontal species.

The bacteria *P. gingivalis* and *F. nucleatum*, which showed increases in samples from the present study (Figures 1 and 2), have been detected in almost 75% of appliance users.²⁹ The bacteria *P. gingivalis* is considered the most proteolytic among the oral cavity Gram-negative bacteria capable of causing intense tissue destruction because it is strongly associated with the

initiation and progression of chronic periodontal lesions.³⁰⁻³² The increase in *F. nucleatum* counts may have favored the colonization of the bacterial species *C. gracilis*, *C. showae*, *C. rectus*, *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *E. saburreum*, *P. melaninogenica* and *S. noxia* (Figure 1) because *F. nucleatum* is an omnipresent microorganism essential in the development of biofilms as it possess the ability to coaggregate with both the initial and subsequent supragingival biofilm colonizers.^{11, 33-36}

In addition to *F. nucleatum*, the other orange complex bacteria act as coaggregation bridges for the development of red complex bacteria, according to the reported by Socransky et al.^{21,37} and in accordance with the results obtained in this study. This author has shown that these two complexes microorganisms were significantly higher in bleeding sites on probing, and can then be used as clinical indicators of periodontal inflammation. This fact explains the importance of orange complex to the late periodontal pathogens installation (red complex).

The increase in periodontopathogenic microorganism colonization can be explained by bacterial succession; in favorable conditions, the initial colonizing groups are replaced by more pathogenic groups³⁷, which corroborates the results found in the present study and explains the reduction in the bacteria related to periodontal health (Figure 3).²⁵

It is important to point out that the increase in proportion and counts of periodontal pathogens in supragingival biofilm, such as *P.intermedia* - often found in gingivitis - and *P.gingivalis*, after approximately two months of observation demonstrates how much the placement of orthodontic appliances alters the oral cavity ecology. Thus, colonization of the supragingival biofilms by bacteria that normally inhabit the gingival sulcus can predispose a patient to clinical changes and inflammation of periodontal tissues.^{31,36,38-42}

Unlike what was shown by Socransky et al. (1998),²¹ who only detected *P. gingivalis* concomitantly with the occurrence of *T. forsythia*, *P. gingivalis* microorganism was not observed in samples evaluated in the present study. This can be explained by the location of bacterial colonization, the formation time and the level of biofilm maturation, as well as by the absence of periodontal disease in the study participants.

During the study evaluation period, it was not possible to observe significant changes in the levels of the cariogenic microorganisms *S. mutans*, *L. acidophilus* and *L. casei* after the installation of fixed orthodontic appliances. These findings are in agreement with Attin et al. (2003).⁴³ Such a result may be related to the short time interval between the biofilm collections, which may not have been sufficient for the development of these species. Scheie et al. (1984)⁴⁴ demonstrated that the levels of *S. mutans* had a negligible increase even after 90 d of treatment. In contrast, Mattingly et al. (1983)⁴⁵ observed a significant linear increase in the percentage of *S. mutans* after the installation of a fixed appliance, demonstrating that these microorganisms have a predilection for places where the brackets are bonded.

It is important to point out that the capability of *S. mutans* to colonize dental enamel can be influenced by the increase in biofilm retention niches, such as those offered by brackets, and other factors such as the level of microorganisms present in saliva^{44, 46} and the secretion of IgA into saliva, which make properties bacterial adherence to dental enamel difficult.⁴⁷ Bacterial succession is another factor. When there is an increase in some periodontopathogenic species, cariogenic strains can be reduced.⁴⁸ Diet must also be considered. When sucrose consumption frequency increases, the synthesis of glucan, which is essential for the colonization of *S. mutans*, also increases.^{9,49,50} The type of bracket used may also need to be taken into consideration as *S. mutans* has a minor affinity for metallic brackets compared to porcelain brackets.^{10,11}

Because the presence of periodontopathogenic species in supragingival biofilms was observed in individuals from the present study, even without a significant increase in the profile of the cariogenic microorganisms investigated, the risks to which the dental structures are exposed during orthodontic treatment should not be ignored.

Independent of the type of material used and the form of setting the orthodontic accessories, studies have shown that the aggregative factor of biofilms on the appliances has a negative impact on the periodontal and dental health of the patient.⁵¹ Caries and gingival lesions are likely negative consequences for teeth with orthodontic accessories. Guidelines for the care of the oral cavity through diet and oral hygiene, as well as regular fluoride

applications and/or the use of another type of dental biofilm chemical control, should be instituted at this stage, of determining the individual the needs of each patient.^{52,53} Clinical studies have shown that adequate dental biofilm control during the course of orthodontic therapy reduces the occurrence of gingival inflammation, bone loss and dental caries.^{20,54-59}

CONCLUSION

In accordance with the methodology and time used in this study, we can conclude that orthodontic appliances placement cause changes in the oral cavity ecology and modify the microbial profile in the supragingival biofilm.

There was a predisposition to early colonization of the oral biofilm by periodontopathogenic bacterias such as *C. gingivalis*, *C. rectus*, *C. Showae*, *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *P. gingivalis*, *E. saburreum*, *P. melaninogenica* and *S. noxia*, without significant implications for the cariogenic microorganisms profile.

REFERENCES

1. Samorodnitzky GR, Liran L. Self-Assessed Dental Status, Oral Behavior and Dental Anxiety. *Journal of Dental Education* 2007;69:12.
2. Evensen JP, Øgaard B. Are malocclusions more prevalent and severe now? A comparative study of medieval skulls from Norway. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2007;131(6):710-6.
3. van Gastel J, Quirynen M, Teughels W, Carels C. The relationships between malocclusion, fixed orthodontic appliances and periodontal disease. A review of the literature. *Aust Orthod J* 2007;23:121-129.
4. Klages U, Rost F, Wehrbein H, Zentner A. Perception of occlusion, psychological impact of dental esthetics, history of orthodontic treatment and their relation to oral health in naval recruits. *Angle Orthod* 2007;77(4):675-80.
5. Huser MC, Baehni PC, Lang R. Effects of orthodontic bands on microbiologic and clinical parameters. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1990;97:213-8.

6. Türkkahraman H, Sayin MO, Bozkurt FY, Yetkin Z, Kaya S, Onal S. Archwire ligation techniques, microbial colonization and periodontal status in orthodontically treated patients. *Angle orthod* 2005;75:227-32.
7. Rosenbloom RG, Tinanoff N. Salivary *S mutans* levels in patients before, during, and after orthodontic treatment. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 1991;100:35–37.
8. Gibbons RJ, Nygaard M. Interbacterial aggregation of plaque bacteria. *Arch Oral Biol* 1970;15:1397–1400.
9. Kolenbrander PE, Palmer Jr RJ, Rickard AH, Jakubovics NS, Chalmers, NI, Diaz PI. Bacterial interactions and successions during plaque development. *Periodontology 2000* 2006;42:47-79.
10. Fournier A, Payant L, Bouclin R. Adherence of *Streptococcus mutans* to orthodontic brackets. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1998;114:414–417.
11. Anhoury P, Nathanson D, Hughes CV, Socransky S, Feres M. Microbial profile on metallic and ceramic bracket materials. *Angle Orthodontist* 2002;72:4.
12. Brusca MI, Chara O, Sterin-Borda L, Rosa AC. Influence of different orthodontic brackets on adherence of microorganisms in vitro. *Angle Orthodontist* 2007;77:2.
13. Brêtas SB, Macari S, Elias AM, Ito IY, Matsumoto MAN. Effect of 0.4% stannous fluoride gel on *Streptococci mutans* in relation to elastomeric rings and steel ligatures in orthodontic patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2005;127:4.
14. Souza RA, Magnani MBBA, Nouer DF, Silva CO, Klein MI, Sallum EA, Gonçalves RB. Periodontal and microbiologic evaluation of 2 methods of archwire ligation: Ligature wires and elastomeric rings. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2008;134:4.
15. Bloom RH, Brown LR. A study of the effects of orthodontic appliances on oral microbial flora. *Oral Surg Oral Med Oral Path* 1964;17:658-67.

16. Diamanti-Kipiotti A, Gusberti FA, Lang NP. Clinical and microbiological effects of fixed orthodontic appliances. *J. Clin Periodontol* 1987;14:236-33.
17. Alexander SA. Effects of orthodontic attachments in the gingival health of permanent second molars. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1991;100(4):337-340.
18. Marcotte H, Lavoie MC. Oral microbial ecology and the role of salivary immunoglobulin A. *Microbiol Mol Biol Rev* 1998;62:1.
19. Socransky SS, Smith C, Martin L, Paster BJ, Dewhirst FE, Levin AE. Checkerboard DNA-DNA hybridization. *Biotechniques*. 1994;17:788-92.
20. Haffajee AD, Cugini MA, Dibart S, Smith C, Kent RL Jr, Socransky SS. The effect of SRP on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases. *Journal of Clinical Periodontology* 1997; 24: 324–334.
21. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent Jr RL. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 1998;25:134-144.
22. Zachrisson S, Zachrisson B. Gingival condition associated with orthodontic treatment. *Angle Orthod* 1972;42: 26-34.
23. Kloehn JS, Pfeifer JS. The effect of orthodontic treatment on the periodontium. *Angle Orthod* 1974;44:127-34.
24. Paolantonio M, Festa F, di Placido G, D'Attilio M, Catamo G, Piccolomini R. Site-specific subgingival colonization by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in orthodontic patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1999;115:423-8.
25. Atack NE, Sandy JR, Addy M. Periodontal and microbiological changes associated with the placement of orthodontic appliances A review. *J Periodontal* 1996; 67:78-85.
26. Gwinnett AJ, Ceen RF. Plaque distribution on bonded brackets: A scanning microscope study. *Am J Orthod* 1997;75:667-77.
27. Socransky SS, Haffajee AD. Microbiologia da doença periodontal. In: Lindhe J, Karring T, Lang NP. *Tratado de Periodontia clínica e*

- implantologia oral. 3ª ed. Rio de Janeiro, Editora Guanabara Koogan, 1999. p.92-126.
28. Feres M, Gonçalves C. O impacto do diagnóstico microbiológico na terapêutica periodontal. In: Oppermann RV, Rosing CK. Periodontia: ciência e clínica. 1ª ed. São Paulo, Artes Médicas, 2001. p. 39-56.
29. Ristic M, Svabic M V, Sasic M, Zelic O. Clinical and microbiological effects of fixed orthodontic appliances on periodontal tissues in adolescents. *Orthodontics and Craniofacial Research* 2007;10(4):187-195.
30. Mihara J, Holt SC. Purification and characterization of fibroblast activating factor isolated from *Porphyromonas gingivalis* W50. *Infect Immun* 1993;61:588-95.
31. Takeuchi Y, Umeda M, Sakamoto M, Benno Y, Huang Y, Ishikawa I. *Treponema socranskii*, *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis* are associated with severity of periodontal tissue destruction. *J Periodontol* 2001;72:1354-63.
32. Moore WEC, Moore LVH. The bacteria of periodontal diseases. *Periodontol* 2000 1994;5:66–77.
33. Ramberg P, Sekino S, Uzel NG, Socransky S, Lindhe J. Bacterial colonization during de novo plaque formation. *J Clin Periodontol* 2003;30:990–995.
34. Diaz PI, Zilm PS, Rogers AH. *Fusobacterium nucleatum* supports the growth of *Porphyromonas gingivalis* in oxygenated and carbon-dioxide-depleted environments. *Microbiology* 2002;148:467–472.
35. Kroes I, Lepp PW, Relman DA. Bacterial diversity within the human subgingival crevice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999;96:14547–14552.
36. Paster BJ, Boches SK, Galvin JL, Ericson RE, Lau CN, Levanos VA, Sahasrabudhe A, Dewhirst FE. Bacterial diversity in human subgingival plaque. *J Bacteriol* 2001;183:3770–3783.
37. Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontology* 2000,2005;38:135–187.

38. Loe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental gingivitis in man. *J Periodontol* 1965;36:177-87.
39. Axelsson P, Lindhe J. The effect of a preventive programme on dental plaque, gingivitis and caries in schoolchildren. Results after one and two years. *J Clin Periodontol* 1974;1(2):126-13.
40. Li J, Helmerhorst EJ, Leone CW, Troxler RF, Yaskell T, Haffajee AD, Socransky SS, Oppenheim FG. Identification of early microbial colonizers in human dental biofilm. *J Appl Microbiol* 2004;97:1311-1318.
41. Ximenez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS. Microbial composition of supra and subgingival plaque in subjects with adult periodontitis. *J Clin Periodontol* 2000;27:722-732.
42. Ximenez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS. Comparison of the microbiota of supra- and subgingival plaque in health and periodontitis. *J Clin Periodontol* 2000;27:648-657.
43. Attin R, Tuna A, Attin T, Brunner E, Noack MJ. Efficacy of differently concentrated chlorhexidine varnishes in decreasing mutans streptococci and lactobacilli counts. *Archives of Oral Biology* 2003;48:503-509.
44. Scheie AA, Arnesberg P, Krogstad O. Effects of orthodontic treatment on prevalence of *Streptococcus mutans* in plaque and saliva. *Scand J Dent Res* 1984;92:211-217.
45. Mattingly J.A, Sauert GJ, Yanceyt JM, Arnold RR. Enhancement of *Streptococcus Mutans* colonization by direct bonded orthodontic appliances. *J Dent Res* 1983;62(12):1209-1211.
46. Corbett JA, Brown LR, Keene HJ, Horton IM. Comparison of *Streptococcus mutans* concentrations in non-banded and banded orthodontic patients. *J Dent Res* 1981;60:1936-42.
47. Liljemark WF, Bloomquist CG, Germaine GR. Effect of bacterial aggregation on the adherence of oral streptococci to hydroxyapatite. *Infect. Immun* 1981;31:935-941.
48. Bowden GH, Hamilton IR. Environmental pH as a factor in the competition between strains of the oral streptococci *Streptococcus mutans*, *S. sanguis*,

- and "*S. mitior*" growing in continuous culture. *Can J Microbiol* 1987;33:824–827.
49. Marsh PD. Sugar, fluoride, pH and microbial homeostasis in dental plaque. *Proc Finn Dent Soc* 1991;87:515–525.
50. Marsh P, Martin MV. *Oral microbiology* 1992;3rd ed. Chapman & Hall, Ltd., London, United Kingdom.
51. van Gastel J, Quirynen M, Teughels W, Coucke W, Carels C. Longitudinal changes in microbiology and clinical periodontal variables after placement of fixed orthodontic appliances. *J Periodontol* 2008;79:2078-86.
52. Alexander CM, Jacobs JD, Turpin DL. Disease control in an orthodontic practice. *Am J Orthod* 1977;71:79-93.
53. Silva Filho OG. et al. Programa supervisionado de motivação e instrução de higiene e fisioterapia bucal em crianças com aparelho ortodôntico. *Rev USP* 1990;4(1):11-19.
54. Zachrisson BU, Alnaes L. Periodontal condition in orthodontically treated and untreated individuals II. Alveolar bone loss: radiographic findings. *Angle Orthod* 1974;44:48-55.
55. Wright GZ, Banting DW, Feasby WH. Effect of interdental flossing on the incidence of proximal caries in children. *J Dent Res* 1977;56:574-578.
56. Graves RC, Disney JA, Stam JW. Comparative effectiveness of flossing and brushing in reducing interproximal bleeding. *J Periodontol* 1989;60:243-247.
57. Axelsson P, Lindhe J. Effect of controlled oral hygiene procedures on caries and periodontal disease in adults. *J Clin Periodontol* 1978;5:133-151.
58. Bastos JRM, Henriques JFC, Olympio KPK. *Manual de prevenção de cárie dentária e doença periodontal em pacientes sob tratamento ortodôntico*. Bauru: Faculdade de Odontologia de Bauru 2002.
59. Olympio KPK, Bardal PAP, Henriques JFC, Bastos JRM. Prevenção de cárie dentária e doença periodontal em Ortodontia: uma necessidade imprescindível. *Rev Dent Press Ortodon Ortop Facial* 2006;11(2):110-119.

**ANEXO 4 – Comprovante de envio do Artigo
à American Journal of Orthodontics and
Dentofacial Orthopedics (AJO-DO)**

Terra Mail - ortolucianafranco@terra.com.br - Windows Internet Explorer

http://mail2.terra.com.br/86.1trr/reademail.php?id=123928&folder=Inbox&cache=ELSOXFEESP007CRQcqm0000103a@eesmail.elsevier.com

Arquivo Editar Exibir Favoritos Ferramentas Ajuda

Favoritos claudiohumberto.com.br ... Sites Sugeridos Obtenha mais comple...

Terra Mail - ortolucianafranco@terra.com.br

terra MAIS TERRA

Caixa de Entrada Nova Mensagem Contatos Pastas Utilitários Ajuda Sair

Responder De: "American Journal of Orthodontics" <ckburke@aol.com> Enviado: Ter 26/01/10 13:38

Responder a Todos Para: ortolucianafranco@terra.com.br Prioridade: Normal

Assunto: Submission Confirmation for

Dear Dr. Franco,

Your submission entitled "Evaluation of Microbiological Changes Before and After Orthodontic Appliances Placement" has been received by journal American Journal of Orthodontics & Dentofacial Orthopedics

You will be able to check on the progress of your paper by logging on to Elsevier Editorial Systems as an author. The URL is <http://ees.elsevier.com/ajodo/>.

Your manuscript will be given a reference number once an Editor has been assigned.

Thank you for submitting your work to this journal.

Kind regards,

American Journal of Orthodontics & Dentofacial Orthopedics

Próxima E-mail verificado pelo Terra Anti-Spam.
Para classificar esta mensagem como spam ou não spam, visite
http://ecp.terra.com.br/cgi-bin/reportspam.cgi?+_d=SCY4OTY3MjEwI3Blcm0hdGVycmEmMSwxMjY0NTIzOTM4LjgyNjMwMC4yOTg2My5jYWJyZXRvbi50ZXJyYS5jb20sMjI4Nw==TerraMail
Verifique periodicamente a pasta Spam para garantir que apenas mensagens

Anterior

Concluído Internet | Modo Protegido: Ativado

Elsevier Editorial Sys... Terra Mail - ortoluci... DISSERTAÇÃO PRO... comprovante de su... PRÉ-TEXTUAIS.doc [...]

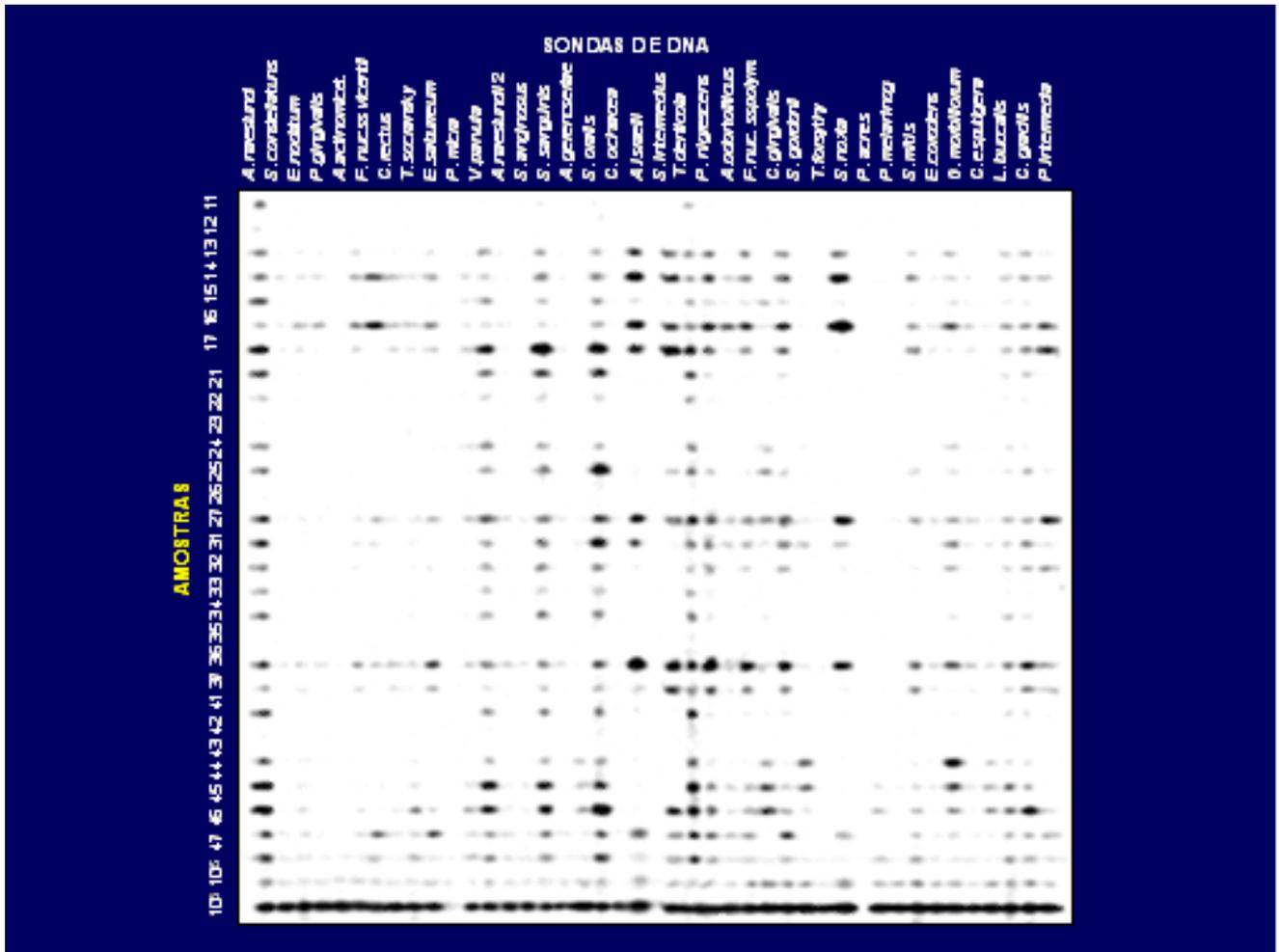
**ANEXO 5 - Relação das cepas empregadas
para a confecção das sondas de DNA**

RELAÇÃO DAS CEPAS EMPREGADAS PARA A CONFECÇÃO DAS SONDAS DE DNA

ESPÉCIES CEPAS	ESPÉCIES CEPAS
<i>A actinomycetencomytans a</i> 43718*	<i>L acidophilus</i> 4356*
<i>Actinomyces naeslundii I</i> 12104*	<i>Neisseria mucosa</i> 19696*
<i>Actinomyces naeslundii II</i> 43146*	<i>Porphyromonas gingivalis</i> 33277*
<i>Actinomyces israeli</i> 12102*	<i>Prevotella intermedia</i> 25611*
<i>Actinomyces odontolyticus I</i> 17929*	<i>Prevotella melaninogenica</i> 25845*
<i>Actinomyces gerencseriae</i> 23860*	<i>Prevotella nigrescens</i> 33563*
<i>Campylobacter gracilis</i> 33236*	<i>Propionibacterium acnes I</i> 11827*
<i>Campylobater rectus</i> 33238*	<i>Selenomonas noxia</i> 43541*
<i>Campylobacter showae</i> 33612*	<i>S mutans</i> 25175*
<i>Capnocytophaga gingivalis</i> 33624*	<i>Streptococcus anginosus</i> 33397*
<i>Capnocytophaga ochracea</i> 33596*	<i>Streptococcus constellatus</i> 27823*
<i>Capnocytophaga sputigena</i> 33612*	<i>Streptococcus gordonii</i> 10558*
<i>Eikenella corrodens</i> 51146*	<i>Streptococcus intermedius</i> 27335*
<i>Eubacterium nodatum</i> 33099*	<i>Streptococcus mitis</i> 49456*
<i>Eubacterium saburreum</i> 33271*	<i>Streptococcus oralis</i> 35037*
<i>Fusobacterium nucleatum</i> (sp. <i>nucleatum</i>) 25586*	<i>Streptococcus sanguinis</i> 10556*
<i>F.n.</i> (sp. <i>polymorphum</i>) 10953*	<i>Veillonella parvula</i> 10790*
<i>F.n.</i> (sp. <i>vincentii</i>) 49256*	<i>Tannerella forsythia</i> 43037*
<i>Fusobacterium periodonticum</i> 33693*	<i>Treponema denticola</i> B1*
<i>L casei</i> 393*	<i>Treponema Socranskii</i> S1*

ATCC (American Type Culture Collection), Rockville, MD ¶Forsyth Institute, Boston, MA.
 FONTE: FERES, M.; FIGUEIREDO, L.; GONÇALVES, C. Diagnóstico periodontal por sondas de DNA. Periodontia: A atuação clínica baseada em evidências científicas. PAIVA, J. S.; ALMEIDA, R. V. (coordenadores). São Paulo, Artes Médicas, 2005. p. 85-106.

ANEXO 6- Representação esquemática do padrão de hibridização



Representação esquemática do padrão de hibridização entre as bactérias presentes nas amostras de biofilme e as sondas de DNA (técnica *checkerboard DNA-DNA hybridization*).