



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
DOUTORADO EM ORTODONTIA



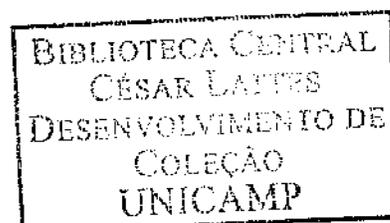
Emerson José Sallum
Cirurgião Dentista

AVALIAÇÃO CLÍNICA E MICROBIOLÓGICA DA REMOÇÃO TEMPORÁRIA DO ARCO NO RESTABELECIMENTO DA SAÚDE BUCAL EM PACIENTES COM APARELHO FIXO ORTODÔNTICO E COM GENGVITE CRÔNICA.

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba (UNICAMP) como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutor em Ortodontia no Programa de Radiologia Odontológica.

Orientador: Prof. Dr. Darcy Flávio Nouer

PIRACICABA
2006



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

EMERSON JOSÉ SALLUM

AVALIAÇÃO CLÍNICA E MICROBIOLÓGICA DA REMOÇÃO TEMPORÁRIA DO ARCO NO RESTABELECIMENTO DA SAÚDE BUCAL EM PACIENTES COM APARELHO FIXO ORTODÔNTICO E COM GENGIVITE CRÔNICA

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba (UNICAMP) como parte dos requisitos para obtenção do Título de Doutor em Ortodontia no Programa de Radiologia Odontológica

Orientador Prof^o. Dr. Darcy Flávio Nouer

Banca Examinadora:

Prof^o. Dr. José Eduardo Cezar Sampaio

Prof^o. Dr. Carlos Alberto Malanconi Tubel

Prof^o. Dr. João Sarmento Pereira Neto

Prof^o. Dr. Márcio Zaffalon Casati

SUPLENTE:

Prof^o. Dr. Roberto Fraga Moreira Lotufo

Prof^o. Dr. Mário Vedovello Filho

Prof^o. Dr. Sergio de Toledo

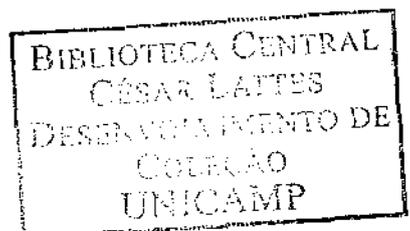
PIRACICABA

2006

Este exemplar foi devidamente corrigido,
de acordo com a resolução CPG 036/83.

CPG, *de 10/10/06*

Assinatura do Orientador



NIDADE BC
Nº CHAMADA T/UNICAMP
Sa 34a
V _____ EX _____
TOMBO BC/ 30533
PROC 16.123-06
C _____ D X
PREÇO 11,00
DATA 08/11/06

Bilb ID 390426

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DA FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**
Bibliotecário: Marilene Girello – CRB-8ª. / 6159

Sa34a Sallum, Emerson José.
Avaliação clínica e microbiológica da remoção temporária do arco no restabelecimento da saúde bucal em pacientes com aparelho fixo ortodôntico e com gengivite crônica. / Emerson José Sallum. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2006.

Orientador: Darcy Flávio Nouer.
Tese (Doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

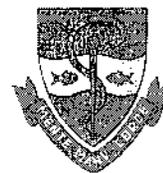
1. Ortodontia. 2. Reação em cadeia de polimerase. I. Nouer, Darcy Flávio. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

(mg/fop)

Título em Inglês: Clinical and microbiological evaluation of the impact of temporary arch removal in the periodontal condition of patients with fixed orthodontic appliances
Palavras-chave em Inglês (Keywords): 1. Orthodontics. 2. Polymerase chain reaction
Área de Concentração: Ortodontia
Titulação: Doutor em Ortodontia
Banca Examinadora: Darcy Flávio Nouer, José Eduardo Cezar Sampaio, Carlos Alberto Malanconi Tubel, João Sarmento Pereira Neto, Márcio Zaffalon Casati
Data da Defesa: 27-07-2006
Programa de Pós-Graduação: Ortodontia



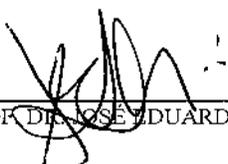
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de DOUTORADO, em sessão pública realizada em 27 de Julho de 2006, considerou o candidato EMERSON JOSÉ SALLUM aprovado.



PROF. DR. DARCY FLAVIO NOUER



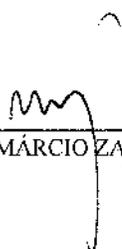
PROF. DR. JOSÉ EDUARDO CEZAR SAMPAIO



PROF. DR. CARLOS ALBERTO MALANCONI TUBEL



PROF. DR. JOAO SARMENTO PEREIRA NETO



PROF. DR. MÁRCIO ZAFFALON CASATI

2006 27 564

Dedico este Trabalho

À **Deus**, por ser presente em minha vida.

Aos meus pais, **Arlene e Wilson**, pelo amor e ensinamentos nos quais me transmitiram as diretrizes de honestidade, segurança e ternura. A vocês devo a pessoa que sou e o profissional que estou me tornando.

Ao meu irmão **Enilson**, pelo companheirismo, apoio e exemplo de determinação e fé.

À **Cristina**, minha mulher e companheira em todos os momentos pelo amor, carinho, incentivo, paciência.

À minha cunhada **Márcia**, pela amizade e por ter me presenteado com meus sobrinhos **Gabrielle e Lucas**.

Aos meus cunhados **Guilherme e Marcia** pelo exemplo de coragem e a minha sobrinha **Maria Carolina** pelo carinho com o tio.

Ao meu cunhado **Marcelo** pela amizade e incentivo.

Agradecimentos Especiais

Ao mestre e amigo, educador **Prof. Dr. Darcy Flávio Nouer**, meu orientador, pela oportunidade e convivência no aprendizado do conhecimento que vem colaborando com o meu saber, permitindo conviver e comungar com seu conhecimento e paixão pela Ortodontia. Agradeço toda a dedicação que sempre me foi passada de forma amigável, cordial e sincera, além da consideração dispensada a mim durante este período de aprendizado.

Ao meu pai, **Prof. Dr. Antonio Wilson Sallum**, um exemplo de ser humano, pai, avô e profissional que me inspirou e influenciou com sua experiência, dedicação e amor na área odontológica durante toda a minha vida, mostrando que com perseverança, dedicação e paciência tudo é possível.

Ao meu irmão, **Prof. Dr. Enílson Antonio Sallum**, um exemplo que como meu pai, me mostrou que com amor na profissão é possível transformar um ideal em conquista, por tudo com amor e carinho.

Ao **Prof. Dr. Reginaldo Bruno Gonçalves**, pela ajuda indispensável na realização desse trabalho, meu muito obrigado.

À **Marlise I. Klein**, doutoranda do Departamento de Microbiologia, obrigado por ter disponibilizado grande parte do seu tempo para tornar o meu trabalho possível. Muito obrigado por tudo!

Agradecimentos

À Universidade Estadual de Campinas, na presença do Magnífico Reitor Prof. Dr. José Tadeu Jorge.

À Faculdade de Odontologia de Piracicaba, na pessoa do Diretor e Diretor Associado, Prof. Dr. Thales Rocha de Mattos Filho e Prof. Dr. Mario Fernando de Goes.

Ao Prof. Dr. Mário Alexandre Coelho Sinhoreti, coordenador dos Cursos de Pós Graduação da FOP /UNICAMP.

Ao amigo Saulo C. dos Santos pela dedicação e colaboração.

Aos docentes do curso de Pós Graduação em Ortodontia da FOP/UNICAMP, Prof^a Dra Maria Beatriz Borges de Araújo Magnani, Dra Vânia Célia Vieira de Siqueira e Prof. Dr. João Sarmiento Pereira Neto.

À Profa. Dra. Gláucia Maria Bovi Ambrosano, pelo importante auxílio dado na obtenção dos nossos resultados estatísticos.

Aos meus colegas de doutorado, Adriana Simoni Lucato, Bruno Orellana, Eloisa Marcantonio Boeck, Fábio Lourenço Romano, Fernando Antonio Gonçalves, Mayury Kuramae, Sílvia Amélia Scudeler Vedovello, Stenyo Wanderley Tavares, Gustavo Hauber Gameiro.

Aos meus colegas do curso de especialização de Ortodontia da FOP/UNCAMP.

Ao Prof. Dr. Márcio Zafalon Casati pelo apoio.

Ao Prof. Dr. Mário Vedovello, pelo exemplo de solidariedade.

Ao Prof. Dr. Mário Terra, pelo exemplo de amizade.

Ao Prof. Dr. Antonio Carlos Neder, pelo exemplo de dedicação na área odontológica.

Aos meus amigos, Sérgio Médice Paoline Júnior, Marcelo Gatto Rosa, Alexander Lopes de Souza, Marcelo Chalita Nohra, Alexandre N. Benevides, Renato Nardin, Maria de Lourdes Scarpari.

Aos funcionários do Departamento de Ortodontia da FOP/UNICAMP, Elisabete Maria R. C. Godoy e Maria de Lourdes G. C. Campos (Tuca) .

À Eliete A. F. L. Marin, secretária do Departamento de Periodontia.

Aos pacientes que gentilmente se submeteram a esta pesquisa.

À Comissão de Ética da FOP/UNICAMP, pelo valioso auxílio.

Aos membros da minha família, aos meus avós, tios, primos e meus cunhados.

Aos meus funcionários: João Batista, Nair C. Venâncio, Neusa Maria V. Paiva e Pâmela Cristina Beinotte.

E a todos que contribuíram de alguma forma para que este trabalho se realizasse.

O que me assusta não são os atos dos maídosos, mas a omiissão dos bons.

Martín Luter King

Sumário

| | |
|--|----|
| LISTA DE ABREVIATURAS | 1 |
| RESUMO | 2 |
| ABSTRACT..... | 3 |
| 1. INTRODUÇÃO | 4 |
| 2. REVISTA DA LITERATURA | 6 |
| 2.1. Placa Bacteriana Dentária (Biofilme) | 6 |
| 2.2. Paciente Ortodôntico/Biofilme | 7 |
| 2.3. Patógenos na Doença Periodontal | 10 |
| 2.4. Bactérias de Risco Para Doença Periodontal | 16 |
| 2.5. Halitose/ Microbiota Periodontopatogênica | 16 |
| 2.6. Principais Testes Utilização no Diagnóstico Microbiológico | 19 |
| 3. PROPOSIÇÃO | 20 |
| 4. MATERIAL E MÉTODO | 21 |
| 4.1. Aspéctos Ético-Legais | 21 |
| 4.2. Seleção da Amostra | 22 |
| 4.2.1. Critérios de Inclusão | 22 |
| 4.2.2. Critérios de Exclusão | 22 |
| 4.3. Delineamento | 23 |
| 4.3.1. Inicial/ Com Arco | 23 |
| 4.3.2. Final Sem Arco | 23 |
| 4.4. Remoção do Arco Ortodôntico..... | 23 |
| 4.5. Descrição dos Parâmetros Clínicos e Microbiológicos Obtidos | 24 |
| 4.5.1. Índice de Placa (IP) | 24 |
| 4.5.2. Índice de Sangramento à Sondagem (ISS) | 24 |
| 4.5.3. Profundidade de Sondagem | 24 |
| 4.5.4. Medição dos Níveis de CSVs | 25 |
| 4.6. Teste Microbiológico (PCR)..... | 27 |
| 4.7. Análise Microbiológica..... | 27 |
| 4.8. Análise Estatística | 31 |
| 5. RESULTADOS | 32 |
| 5.1. Microbiológicos | 32 |
| 5.2. Clínicos | 34 |
| 6. DISCUSSÃO | 40 |
| 7. CONCLUSÕES | 45 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 46 |
| ANEXOS | 62 |

LISTAS

LISTA DE ABREVIATURAS DE SIGLAS

PCR- Reação de Polimerase em Cadeia

Aa- Actinobacillus actinomycetemcomitans

Tf- Tannerella forsythus

Bf- *Bacteroides forsythus*

Pg- Porphyromonas gingivalis

Pi- Prevotella intermédia

Pn- Prevotella nigrescens

IP- Índice de placa dental

ISS- Índice de sangramento à sondagem

PS- Profundidade de sondagem

CSV's- Compostos sulfurados voláteis

PJL- Periodontite Juvenil Localizada

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi avaliar, em pacientes portadores de aparelhos ortodônticos fixos e gengivite crônica, o impacto da remoção do arco ortodôntico no restabelecimento da saúde bucal. Foram incluídos 16 pacientes com aparelho ortodôntico em tratamento na Clínica de Pós-Graduação de Ortodontia da FOP-UNICAMP. Todos os indivíduos selecionados foram avaliados inicialmente e 15 dias após a remoção do arco para os seguintes parâmetros clínicos e microbiológicos: índice de placa dental - (IP); índice de sangramento à sondagem - (ISS); profundidade de sondagem - (PS); medição dos compostos sulfurados voláteis (CSV's) através do uso do monitor portátil de sulfetos (HALIMETER®) e teste microbiológico - (PCR) para detectar a presença de patógenos periodontais (*Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* e *Prevotella nigrescens*). Após os exames iniciais, os arcos de todos os pacientes foram removidos e os mesmos foram orientados a manter seus hábitos de higienização oral por um período de 15 dias. Após este período, os parâmetros clínicos e microbiológicos foram novamente avaliados. Observou-se uma redução significativa no sangramento à sondagem, índice de placa, profundidade de sondagem e níveis de CSV's. A avaliação microbiológica revelou redução significativa nos níveis de *Tannerella forsythus* (Tf). Quanto aos demais patógenos avaliados, não foram observadas diferenças significantes. Dentro dos limites desta pesquisa, pode-se concluir que a remoção do arco e a manutenção do regime rotineiro de higienização do paciente promovem melhora significativa na condição clínica gengival, entretanto, com exceção da Tf, não altera significativamente a presença dos patógenos avaliados.

PALAVRAS - CHAVE: Compostos sulfurados voláteis, PCR, Tratamento Ortodôntico.

ABSTRACT

The goal of the present study was to evaluate the impact on the periodontal health of the removal of the orthodontic arch in patients under orthodontic treatment and showing generalized gingivitis. Sixteen orthodontic patients of the Graduate Clinic of Orthodontics of the School of Dentistry at Piracicaba (FOP-UNICAMP) were included in the study. All patients were examined at baseline and after 15 days for the following clinical and microbiological parameters: Plaque index (IP); bleeding on probing (ISS); probing pocket depth –(PS); level of volatile sulfur compounds (CSV's) using the portable sulfur monitor (HALIMETER®) and microbiological test – (PCR) to detect the presence of periodontal pathogens (*Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* e *Prevotella nigrescens*). After the initial exam, the orthodontic arches of all the patients were removed and they were instructed to maintain their routine oral hygiene habits for a period of 15 days. After this period, all the clinical and microbiological parameters were again obtained. A significant reduction was observed in the bleeding on probing, plaque index, probing pocket depth and levels of volatile sulfur compounds. The microbiological analysis revealed a significant reduction on the levels of *Tannerella forsythus* (Tf). However, no statistically significant differences were observed on the levels of the remaining evaluated pathogens. Within the limits of the present study, it can be concluded that the removal of the orthodontic arch and the maintenance of the routine oral hygienic habits may improve gingival health. However, with the exception of Tf, they do not significantly alter the presence of the remaining periodontal pathogens evaluated.

KEY-WORDS: Volatile sulfur compounds , PCR, Orthodontic treatment

1- INTRODUÇÃO

O tratamento ortodôntico se faz necessário não só para minimizar os efeitos causados pelas periodontopatias inflamatórias crônicas, mas também para corrigir suas seqüelas, atuando como uma medida preventiva. No entanto, algumas vezes, a intervenção ortodôntica incorreta pode funcionar como um fator desencadeante ou agravante da patologia periodontal (Lascala et al, 1996).

O tratamento ortodôntico pode levar ao aparecimento de inflamações gengivais, assim como perdas ósseas proximais, resultado de um acúmulo de placa dental bacteriana como conseqüência da dificuldade de controle do biofilme (Zachrisson, 1974; Sharpe, 1987; Harris & Baker, 1990; Diedrich, 1996).

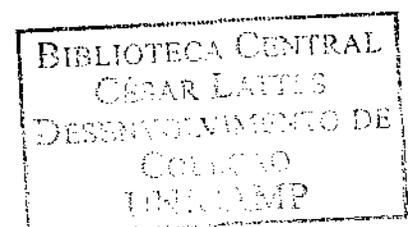
A produção de compostos sulfurados voláteis (CSV's) na cavidade bucal, em particular, os sulfidretos, as metilmercaptanas e os dimetilsulfetos, contribui para a halitose. Os microrganismos presentes nas mucosas e superfícies dentais, especialmente os microrganismos anaeróbios, degradam os aminoácidos, as células epiteliais e substratos provenientes da dieta formando os compostos sulfurados voláteis, presentes em vários nichos como dorso de língua e biofilme dental (Urquhart ; Addy, 1991; De Boever ; Loesche, 1995).

Os CSV's não são apenas importantes pela produção de malodor bucal, mas também pelo possível potencial patogênico na doença periodontal devido a sua penetração nas membranas celulares e no distúrbio do metabolismo celular (Tarzia ;2004)

Os arcos que compõem os aparelhos ortodônticos fixos dificultam a higienização bucal, principalmente a limpeza interproximal, levando geralmente num pequeno espaço de tempo a uma gengivite generalizada. A placa bacteriana é o principal fator etiológico da gengivite e o aparato ortodôntico parece influenciar o desenvolvimento desta devido à sua influência na retenção do biofilme (Zachrisson ; Zachrisson, 1972).

A remoção temporária dos arcos é utilizada na prática clínica para facilitar as manobras de higiene bucal dos pacientes em momentos específicos do tratamento ortodôntico. No entanto, a literatura não apresenta estudos que demonstrem o impacto desta remoção nos parâmetros clínicos e microbiológicos (PCR) periodontais bem como nos níveis de compostos sulfurados voláteis (CSV's), justificando a execução do presente trabalho.

Portanto, o objetivo da presente pesquisa foi avaliar os parâmetros clínicos, os níveis de compostos sulfurados voláteis (CSV's) e a presença de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermédia* e *Prevotella nigrescens*, após remoção temporária do arco, para fins de melhorar as condições de higiene bucal no restabelecimento da saúde bucal.



2- REVISTA DA LITERATURA

2.1 PLACA BACTERIANA DENTÁRIA (BIOFILME)

As bactérias que habitam a cavidade bucal, desde o nascimento até a morte, colonizam os tecidos moles como a gengiva, a bochecha e a língua. Quando os dentes estão presentes, as bactérias os colonizam tanto supra como subgengivalmente. Estima-se que cerca de 400 espécies bacterianas diferentes são capazes de colonizar a boca. A quantidade de bactérias que coloniza a placa supragengival pode exceder 10^9 em uma única superfície dental. A contagem em placa subgengival pode variar de 10^3 em um sulco raso a 10^8 ou mais em bolsas periodontais (Socransky ; Haffajee, 1992; Socransky ; Haffajee, 1994).

Essa relação ecológica entre a microbiota e o hospedeiro, de uma maneira geral, pode ser imprevisível e levar a destruição permanente do periodonto.

Existe uma correlação positiva entre quantidade de placa bacteriana e a gravidade da gengivite (Ash et al, 1964) e a quantidade de perda óssea (Schei et al, 1959). No entanto, estudos longitudinais de Loe et al 1965 demonstraram que procedimentos intensivos de controle de placa são essenciais para a erradicação da gengivite clínica.

A transição de gengivite para a doença periodontal destrutiva ainda não foi demonstrada experimentalmente em humanos. No entanto, em cães, a gengivite desenvolve-se como resultado do acúmulo de placa bacteriana (Egelberg, 1965) e, se for permitida a sua evolução por um período suficientemente longo, pode ocorrer destruição permanente dos tecidos de suporte dos dentes, como na doença periodontal humana (Saxe et al, 1967; Lindhe et al, 1983). Estes resultados indicam que a doença periodontal destrutiva pode originar-se de uma gengivite de longa duração, confirmando assim as conclusões tiradas dos estudos epidemiológicos.

Axelsson & Lindhe (1978) observaram que o acúmulo de placa supra e subgingival provocou alterações clínicas e inflamatórias nos tecidos periodontais. No entanto, se o acúmulo de biofilme dental for eliminado, ou pelo menos controlado, as doenças periodontais poderiam ser prevenidas e tratadas.

A saúde periodontal de pacientes jovens sob tratamento ortodôntico tem sido foco de atenção de ortodontistas e periodontistas por muitas décadas (Burket, 1963; Zachrisson; Zachrisson, 1972; Nixon, 1977; Tersin, 1975, 1976; Yeung et al, 1989; Wolffe et al, 1991).

Tem sido relatado aumento gengival e inflamação dos tecidos marginais gengivais após instalação de bandas e bráquetes, o que poderia aumentar o risco de futuras perdas de inserção periodontal. Na realidade aparelhos ortodônticos (bráquetes, bandas, elásticos e arcos) atuam como fatores locais de retenção de biofilme dental, o que aumenta em até três vezes o número de microrganismos, como a *Prevotella intermedia* (Diamanti-Kipiotti et al, 1987; Huser et al, 1990).

2.2 PACIENTE ORTODÔNTICO / BIOFILME

As alterações periodontais associadas à terapia ortodôntica que se destacam são as gengivites e as hiperplasias gengivais, segundo Zachrisson (1985). As áreas que são mais afetadas são as proximais e dentes posteriores. Segundo Atack et al (1996) há quatro razões que justificam: irritação mecânica por bandas ortodônticas, irritação química por extravasamento do material de cimentação na margem gengival, maior ocorrência de impactação alimentar entre os arcos e o tecido gengival e maior dificuldade de higienização na região posterior, permitindo maior acúmulo de placa que na região anterior.

Apesar de se observar frequentemente gengivite e hiperplasia gengival em indivíduos com níveis aceitáveis de higiene bucal e sob manutenção periódica preventiva, os tecidos periodontais tendem a se manter estáveis durante todo o tratamento e os fenômenos inflamatórios regredem após a remoção dos aparelhos ortodônticos (Zachrisson ; Zachrisson, 1972; Zachrisson, 1985). Portanto o

controle do biofilme será imprescindível para que não ocorra o risco da evolução da gengivite para a periodontite.

Tejedor & Sears (1972), verificaram que os aparelhos ortodônticos dificultam a higiene bucal e promovem um aumento na formação da placa bacteriana, matéria alba, resultando em inflamação gengival, a qual pode acarretar em uma hiperplasia reversível ou irreversível.

Balenseifen & Madona (1970) afirmaram que os acessórios e fios ortodônticos, fixados nas coroas dentárias proporcionam superfícies adicionais para a retenção de alimentos que servem de substrato para o crescimento da placa bacteriana e inflamação gengival.

Hamp et al (1982) observaram um aumento significativo na profundidade de sondagem após três meses do início do tratamento ortodôntico. Durante a fase de manutenção pós-remoção do aparelho, foi observado um retorno em níveis de profundidade iniciais ou inferior. Apesar desta tendência, à gengivite, isto pode significar um risco para o desenvolvimento de problemas periodontais mais graves.

Uetanabaro et al (1984), estudaram em 20 pacientes o aumento da placa bacteriana antes e após a fixação de acessórios ortodônticos, bem como a relação entre a colagem direta de bráquetes e anéis convencionais. Os pacientes receberam instruções de higiene bucal antes da colocação do aparelho. Os acúmulos de placa bacteriana foram verificados utilizando-se solução evidenciadora (fucsina). Os autores chegaram as seguintes conclusões: a) A colocação de acessórios ortodônticos proporciona um aumento no acúmulo de placa bacteriana, o qual pode ser diminuído submetendo-se os pacientes antes e durante o tratamento ortodôntico a um rigoroso programa de higiene bucal. b) A aplicação da colagem direta implica num acúmulo de placa bacteriana pelo menos duas vezes maior do que o verificado nos anéis convencionais.

Existe uma ampla evidência demonstrando que os CSV's aumentam com o número de bolsas periodontais e tendência a sangramento gengival (Tonzetich, 1973; Persson, 1992; Coil; Tonzetich, 1992, Yaegaki, 1995; Ratcliff &

Johnson, 1999; Morita ;Wang 2001). Embora a doença periodontal possa ser um fator importante na halitose (Soder et al, 2000), não há trabalhos disponíveis relacionando os acessórios dos aparelhos ortodônticos e o processo de halitose.

Diamanti-Kipiotti et al (1987) observaram um aumento estatisticamente significativo na profundidade de sondagem quatro meses após o início do tratamento ortodôntico em crianças não submetidas a um programa de controle de placa dental bacteriana. Apesar de serem falsas bolsas, estas alterações foram acompanhadas por uma alteração quantitativa e qualitativa na microbiota subgingival, com um acúmulo de microrganismos anaeróbicos. Os autores citam que o tratamento ortodôntico sob condições desfavoráveis e por um longo período de tempo, propicia um meio adequado ao desenvolvimento da doença periodontal destrutiva.

Boyd & Baumrind (1992) compararam o quadro inflamatório de pacientes em tratamento ortodôntico, observando a relação entre bandas ou bráquetes e o quadro inflamatório gengival. O grupo bandado apresentou maior significância na inflamação gengival do que o grupo com bráquetes durante a fase de tratamento ortodôntico, bem como maior quantidade de placa bacteriana dental. Após a remoção do aparelho, os níveis de placa bacteriana normalizaram-se, porém no grupo bandado observou-se maior quadro inflamatório mesmo após três meses do término do tratamento. Ainda descrevem que após tratamento ortodôntico com bandas há um aumento na profundidade de sondagem que não se reduz após a remoção destas, com acompanhamento de perda de inserção. Neste grupo, composto por adolescentes e adultos, os adolescentes tiveram os maiores aumentos na profundidade de sondagem durante e após tratamento. Entretanto, os adultos tiveram maiores perdas de inserção na fase pós-tratamento.

Paolantonio et al (1996) observaram uma maior proporção de sítios positivos para o *Actinobacillus actinomycetemcomitans* em indivíduos com aparelhos ortodônticos fixos há mais de seis meses, quando comparados a indivíduos da mesma faixa etária que não se apresentavam sob tratamento.

Sallum (2002), estudando pacientes submetidos a tratamento ortodôntico e avaliando através de parâmetros clínicos e microbiológicos (PCR) a remoção dos bráquetes e anéis associada à profilaxia profissional, concluiu que: a) o teste molecular através do PCR demonstrou ser útil como auxiliar no diagnóstico microbiológico na prática clínica. b) A presença do aparelho fixo é fator de retenção de placa bacteriana dental, levando ao aparecimento de inflamação gengival. c) A remoção do aparelho fixo ortodôntico propiciou uma melhor higiene bucal, levando a uma diminuição estatisticamente significativa do Aa. e Bf. d) A remoção dos aparelhos fixos, a profilaxia profissional e a motivação para a higiene bucal levaram a saúde periodontal na maioria dos pacientes, caracterizada pela diminuição significativa nos índices de placa e de sangramento gengival, bem como nas profundidades de sondagens. e) O controle de placa bacteriana dental em pacientes portadores de aparelhos fixos ortodônticos é de extrema importância para diminuir o risco de doença periodontal.

2.3 PATÓGENOS NA DOENÇA PERIODONTAL

A indução e progressão da destruição do tecido periodontal é um processo complexo envolvendo acúmulo de placa, liberação de substâncias bacterianas e resposta inflamatória do hospedeiro. Embora as bactérias raramente invadam os tecidos, elas têm a capacidade de liberar substâncias que penetram na gengiva podendo causar destruição direta do tecido pela ação de enzimas e endotoxinas, ou agir indiretamente, pela indução da inflamação (Lindhe, 2003).

Há estimativas de que entre 300 a 400 espécies bacterianas diferentes são capazes de colonizar a cavidade oral humana sendo que contagens de microrganismos em sítios subgengivais variam entre 10³, em sulcos saudáveis, a mais de 10⁸, em bolsas periodontais profundas (Socransky ; Haffajee, 1992; Socransky ; Haffajee, 1994). O número de espécies que têm potencial para iniciar a doença periodontal é limitado a, talvez, 20 a 30 espécies. O sucesso na pesquisa tem sido limitado devido a dificuldades técnicas e flutuações na atitude

do profissional frente ao papel das bactérias no desenvolvimento da doença (Socransky ; Haffajee, 1994).

Na periodontite crônica do adulto, os microrganismos que são cultivados com maior frequência e encontrados em maior número, são geralmente os bacilos Gram-negativos anaeróbios: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides forsythus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens* e *Treponema denticola* (Slots & Listgarten, 1988; Socransky & Haffajee, 1992).

Actinobacillus actinomycetemcomitans

Uma das mais fortes associações entre um patógeno suspeito e doença periodontal destrutiva (pelo menos em termos de número de publicações) está relacionada ao *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. O *A. actinomycetemcomitans* é um bastonete arredondado, *capnofílico*, *sacarolítico*, Gram-negativo, não-móvel e forma pequenas colônias convexas com um centro “estrelado” quando cultivado em um Agar-sangue. Esta espécie foi primeiramente reconhecida como um possível patógeno periodontal por sua elevada frequência de detecção e números elevados em lesões de periodontite juvenil localizada (Chung et al, 1989; Newman ; Socransky, 1977), quando comparada com outras nas amostras de placa em condições clínicas incluindo periodontite, gengivite e periodonto sadio.

Logo após, foi demonstrado que a maioria dos espécimes com Periodontite Juvenil Localizada (PJL) apresentava uma quantidade bastante elevada de anticorpos séricos em resposta a esta espécie (Altman et al, 1982); e que existia uma síntese local de anticorpos para esta espécie (Ebersole et al, 1985).

Quando os indivíduos com esta forma de doença foram tratados com sucesso, a espécie foi eliminada ou reduzida; ao passo que o tratamento insuficiente estava associado a uma deficiência na redução da quantidade da

espécie nos sítios tratados (Christersson et al, 1985; Haffajee et al, 1984; Slots ; Rosling, 1983).

Recentemente, o *A.actinomycescomitans* tem demonstrado apresentar capacidade de invadir as células epiteliais gengivais humanas cultivadas in vitro (Blix et al, 1992).

Coletivamente, os dados sugerem que o *A.actinomycescomitans* é um provável patógeno da Periodontite Juvenil Localizada (PJL). No entanto, isto não deve ser interpretado como significado de que seja causa única desta condição clínica já que alguns indivíduos com PJL não exibem estas espécies nas amostras de placa subgengival e não apresentam anticorpos em resposta à espécie (Loesche et al.,1985; Moore, 1987).

O *A.actinomycescomitans* também tem sido implicado nas formas adultas de doenças periodontais destrutivas, mas o seu papel não está claro. A espécie foi isolada de periodontite do adulto com menos freqüência e em menor número do que nas lesões de PJL (Rodenburg et al, 1990; Slots et al, 1990a).

Além disso, frequentemente, a sua quantidade em amostras de placa em lesões de adultos não foi tão elevada quanto à dos outros patógenos suspeitos na mesma amostra de placa, (Zambon et al, 1983).

Dados relacionados aos anticorpos e ao tratamento dos pacientes infectados pelo *A.actinomycescomitans* com periodontite do adulto ou refratário forneceram a evidência mais convincente de um possível papel etiológico do *A.actinomycescomitans* nas formas de doença periodontal em adultos (Van Winkelhoff et al, 1992).

Respostas elevadas a outros patógenos periodontais suspeitos foram muito menos comuns. Van Winkelhoff e cols. (1992) trataram 50 indivíduos adultos com “periodontite generalizada severa” e 40 indivíduos com periodontite refratária os quais foram positivos na cultura para o *A.actinomycescomitans*. O tratamento incluiu o debridamento mecânico e a administração de amoxicilina e metronidazol por sete dias. Somente 1 dos 90 espécimes foi positivo para a cultura do *A.actinomycescomitans* 3-9 meses após o tratamento e 1 dos 48

indivíduos foi positivo à cultura dois anos após a terapia. Houve um ganho significativo no nível de inserção e uma diminuição na profundidade da bolsa em todos os pacientes após a terapia. Dados como estes sugerem que o *A.actinomycetemcomitans* provavelmente participa da doença periodontal em alguns, mas certamente não em todos os indivíduos adultos.

Porphyromonas gingivalis

O *P. gingivalis* é o segundo mais intensivamente estudado "provável" patógeno periodontal. Isolados destas espécies são bastonetes Gram-negativos anaeróbios, não-móveis, assacarolíticos que usualmente exibem morfologias de cocos a bastonetes. O *P. gingivalis* é um membro do grupo muito investigado de "Bacteróides pigmentados de preto". Os microrganismos deste grupo formam colônias de cor marrom a preta (Oliver; Wherry, 1921) em agar-sangue e foram inicialmente agrupados em uma espécie única, *Bacteróides melaninogenicus* (*Bacterium melaninogenicum*, (Burdon, 1928).

O interesse inicial no *P. gingivalis* e em outros *Bacteróides* que se pigmentam de preto ocorreu inicialmente devido ao seu papel essencial em certas infecções mistas experimentais (Socransky ; Gibbons, 1965).

Os membros destas espécies produzem collagenase, uma série de proteases (incluindo aquelas capazes de destruir imunoglobulinas), endotoxinas, ácidos adiposos, NH₃, H₂S, indol etc. Estudos iniciados no final da década de 70 e que se estendem até os dias de hoje fortaleceram a associação de *P. gingivalis* com doença e demonstraram que a espécie era incomum e em baixo número em gengivite ou gengiva saudável, mas detectada mais freqüentemente nas formas destrutivas da doença periodontal. A espécie tem demonstrado ser reduzida em sítios tratados com sucesso, mas é comumente encontrada em sítios que exibem recorrência da doença após a terapia (Haffajee et al, 1988a, Van Winkelhoff et al, 1988).

O *P. gingivalis* tem demonstrado induzir respostas imunológicas locais e sistêmicas elevadas em indivíduos com várias formas de *periodontites* (Mahanonda et al, 1991).

Microrganismos semelhantes a *P. gingivalis* são também fortemente relacionados com a doença periodontal destrutiva, como o *A. actinomycetemcomitans*, o *P. gingivalis* tem demonstrado ser capaz de invadir as células epiteliais da gengiva em humanos in vitro (Duncan et al, 1993; Lamosnt et al, 1992); e foi observado em maior número sobre ou no interior das células epiteliais da bolsa periodontal ou na placa associada (Dzink et al, 1988).

Tanerella forsythus (Bacteróides forsythus)

O *T.forsythus* foi primeiramente descrito em 1979 (Tanner et al, 1979) como um Bacteróides "fusiforme". Esta espécie era difícil de crescer, muitas vezes necessitando de 7-14 dias para desenvolver pequenas colônias. O microrganismo é um bastonete altamente pleomórfico, fusiforme, anaeróbico, Gram-negativo.

O crescimento do microrganismo demonstrou ser intensificado pela co-cultivação com o *F.nucleatum* e certamente associa-se comumente com esta espécie nos sítios subgengivais (Socransky et al, 1988). Observou-se que a espécie possui uma necessidade incomum de ácido *N-acetilmurâmico* (Wyss, 1989). A inclusão deste fator no meio de cultura intensifica amplamente o seu crescimento. O microrganismo foi observado em maior número nos sítios de doença periodontal destrutiva do que em sítios saudáveis, ou com gengivite (LAI et al, 1987). Além disso, o *B.forsythus* foi detectado mais freqüentemente e em maior número em lesões periodontais ativas do que em lesões inativas (Dzink et al, 1988).

Inicialmente, pensava-se que o *B.forsythus* era uma espécie subgengival relativamente incomum. Entretanto, os estudos de Gmur e cols. (1989), utilizando anticorpos monoclonais para relacionar a espécie diretamente

em amostras de placa, sugeriram que a espécie era mais comum do que observado previamente nos estudos de cultura e seus níveis eram fortemente relacionados ao aumento da profundidade da bolsa.

O mesmo não era freqüentemente observado nas amostras de células epiteliais em indivíduos sadios. Em experimentos duplamente-marcados demonstraram que o *B.forsythus* estava tanto sobre, quanto no interior das células epiteliais da bolsa periodontal indicando a habilidade de invasão da espécie. Listgarten e cols. 1993 observaram que a espécie mais freqüentemente detectada em quadros "refratários" era o *B.forsythus*. Têm sido observados anticorpos séricos elevados de *B.forsythus* em pacientes com periodontite (Taubman et al, 1992) e muitas vezes extremamente elevados em indivíduos com doença periodontal refratária.

O papel desta espécie nas doenças periodontais está sendo esclarecido através de estudos em desenvolvimento por diversos laboratórios envolvendo métodos não-culturais de enumeração, tais como sondas de DNA ou métodos imunológicos. Por exemplo, Grossi e cols. 1994, 1995; consideraram o *B.forsythus* como sendo o fator de risco microbiano mais significativo que distingue indivíduos com periodontite daqueles que se apresentam periodontalmente saudáveis.

Estudos em desenvolvimento na Universidade de Nova York, em Buffalo indicam que o *T.forsythus* é o principal fator de risco microbiano para a progressão da doença periodontal em adultos. Assim, existe uma evidência crescente de que o *T.forsythus* é um importante patógeno periodontal.

Prevotella intermédia/Prevotella nigrescens

O *P.intermedia* é o segundo *Bacteroides* que se pigmenta de preto a atrair considerável interesse na patogênese das doenças periodontais destrutivas. Os níveis desse bastonete arredondado anaeróbico Gram-negativo, têm demonstrado ser particularmente elevados na gengivite ulcerativa necrosante

aguda (Loesche et al, 1982) e em certas formas de periodontite (Dzink et al, 1983; Moore et al, 1985).

Anticorpos séricos elevados desta espécie têm sido observados em alguns, mas não em todos os indivíduos com periodontite refratária (Haffajee et al, 1988b). Esta distinção torna os estudos iniciais desta “espécie” de difícil interpretação já que os dados das duas diferentes espécies podem ter sido agrupados inadvertidamente. No entanto, novos estudos discriminando as espécies em amostras de placa subgengival podem fortalecer a relação de uma ou ambas as espécies na patogênese das doenças periodontais.

2.4 BACTÉRIAS DE RISCO PARA DOENÇA PERIODONTAL

Grossi e cols. (1994,1995) observaram que *B. forsythus* e *P. gingivalis* estavam positivamente associados com a perda óssea em 1.426 indivíduos com mais de 24 anos de idade.

Haffajee e cols. (1983), demonstraram que um risco elevado de progressão de doença periodontal com perda de inserção em sítios que apresentaram presença de *P. gingivalis* e *A.actinomycescomitans*.

Um dos fatores do hospedeiro que influenciam o meio subgengival é a profundidade da bolsa periodontal. O *B. forsythus* e o *P. gingivalis* aumentam notavelmente em prevalência e quantidade com o aumento da profundidade da bolsa.(Socransky ; Haffjee ,1991).

Doenças sistêmicas debilitantes podem alterar a habilidade do hospedeiro em lidar com infecções e podem exacerbar infecções existentes. (Greenspan ; Greenspan, 1993)

2.5 HALITOSE / MICROBIOTA PERIODONTOPATOGÊNICA

Halitose é uma condição universalmente conhecida como mau hálito, que tem uma variedade de fatores etiológicos tais como; certos alimentos,

medicamentos, corpos estranhos, doenças sistêmicas, etc. Mas embora de etiologia variável, estima-se que 80% a 90% das causas são de origem bucal, e as bactérias são diretamente responsáveis pela maioria dos gases ofensivos. (Klokkevold, 1997, Tarzia 2004)

A doença periodontal é frequentemente envolvida na patologia da halitose, a qual tem como principal fator os CSVs (Tonzetich ; Richer, 1964; Tonzetich, 1971).

O índice de sangramento, o qual é derivado de pontos de sangramento durante a sondagem foi comparado com a extensão e severidade da Periodontite e o total de CSVs, o qual aumenta proporcionalmente ao índice de sangramento. (Tonzetich, 1973)

Estudos microbiológicos (Tonzetich 1977) tem demonstrado que os microrganismos da patogênese periodontal contribuem para o aumento da produção do CSVs, em particular do metil mercapitana na cavidade bucal. Ainda cita que tem sido sugerido que o *Fusobacterium*, *Porphyromonas Gingivalis*, e outros microrganismos têm importância no papel da patogênese da halitose.

Elevada concentração do CSVs ocorre frequentemente em pacientes com doença periodontal (Tonzetich, 1973; Tonzetich ; Yaegaki, 1992). Tem sido demonstrada a produção de sulfatos hidrogenados nas bolsas periodontais através de colocação de papel de filtro nas bolsas periodontais, indicando um aumento da produção CSV com a profundidade (Coil ; Tonzetich, 1985).

Em 1995, 1996, Miyazaki et al mediram (Halimeter) os compostos voláteis sulfurados em 2772 indivíduos de idade entre 18 a 64 anos no Japão, e encontraram 28% da amostra com malodor bucal.

Grupos específicos de bactérias têm sido identificados com a produção da halitose. Pacientes com periodontite crônica e formação de bolsas frequentemente sofrem de um odor bucal desagradável associado com acúmulo de restos alimentares e um aumento da taxa de putrefação (Yaegaki ; Sanda, 1992; Loesche, 1999).

Bosy et al (1994), cita que a halitose bucal esta associada a gengivite e a periodontite, mas pode também estar presente em indivíduos livres dessas doenças.

Kokkevoold (1997) relata que condições anaeróbicas necessárias para produção de CSV são criadas nos micro ambientes, e que o acúmulo de placa bacteriana, restos de alimentos e estagnação da saliva ocorrem comumente em áreas onde os dentes e as fissuras dos tecidos conseguem criar micro-ambientes, sendo as áreas mais comuns o dorso posterior da língua, espaços interdentários e áreas subgengivais.

Quirynem et al. (1999) cita que uma larga variedade de bactérias é capaz de degradar proteínas que contenham enxofre em sua composição, e que as bactérias gram-positivas contribuem pouco para a produção de mau hálito, enquanto as bactérias gram-negativas produzem grandes taxas de CSV's.

A associação entre a halitose e doença periodontal parece ser plausível do ponto de vista clínico, uma vez que a doença periodontal inicia-se pela presença do biofilme que produz no tecido gengival marginal um processo inflamatório que tem manifestações clínicas como o sangramento gengival e a formação de bolsa periodontal, levando a interpretação da necessidade de um melhor conhecimento dos procedimentos odontológicos que podem produzir fatores de retenção de biofilme ou da dificuldade da sua remoção.

Os métodos mais comuns de remoção do biofilme são através de escovação e raspagem e alisamento radicular, que interferem na halitose.

Relatou-se que um estágio de desinfecção profissional realizado de forma total da boca, incluindo raspagem e alisamento, reduziu o nível de halitose em 90% (Quirynen et al, 1998).

Alguns produtos químicos finais da putrefação das bactérias também conhecidos como Compostos Sulfurados Voláteis (CSV's) são responsáveis pelo odor desagradável que surge na cavidade bucal. CSV's tais como sulfeto de hidrogênio ($H_2 S$), metilmercaptana ($CH_3 SH$) e dimetilsulfeto [$CH_3]S$) compõe 90% dos odores pútridos da cavidade bucal (Figueiredo et al, 2002).

2.6 PRINCIPAIS TESTES UTILIZADOS NO DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO

Existem atualmente inúmeras metodologias para a detecção de microrganismos periodontopatogênicos. Podemos citar como principais:

- 1) avaliação microscópica da microbiota;
- 2) cultura microbiana;
- 3) testes enzimáticos (BANA=N-Benzoyl-DL-Arginine-2-Naphthylamide);
- 4) métodos imunológicos;
- 5) detecção molecular (sonda de DNA e Reação de Polimerase em cadeia =PCR).

A reação de polimerase em cadeia (PCR), desenvolvido por Mullis & Faloona em 1987, consiste na ampliação *in vitro* de seqüências conhecidas de nucleotídeos (primers) de DNA ou RNA através de repetidos ciclos de desnaturação, anelamento e extensão dos mesmos por meio da polimerase do DNA.

O PCR tem se apresentado como um valioso instrumento na detecção e identificação de bactérias e vírus associados às doenças periodontais (Ashimoto et al, 1996; Lotufo et al, 1988). A extrema sensibilidade e especificidade desta técnica permitem a detecção de 10 patógenos entre 10⁶ de outros microrganismos (Gumerlock et al, 1991).

3- PROPOSIÇÃO

O objetivo deste trabalho foi avaliar a possível interferência da remoção temporária do arco ortodôntico na condição de higiene bucal e condição periodontal, por meio dos parâmetros clínicos, microbiológicos (PCR) e níveis de compostos sulfurados voláteis (CSV's) em pacientes em tratamento ortodôntico portadores de gengivite crônica.

4. MATERIAL E MÉTODO

Para a composição da amostra, foram examinados duzentos pacientes em tratamento na Clínica de Pós Graduação em Ortodontia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba – UNICAMP, durante o ano de 2005, sendo que foram selecionados vinte pacientes e na amostra final foi constituída por dezesseis pacientes. Na pesquisa foram utilizados os dentes 11,31,16 e 36; onde representam os lados esquerdo,direito,superior,inferior,anterior e posterior dando um aspecto geral da condição bucal dos pacientes.

4.1. Aspectos Ético-legais

O protocolo do estudo foi aprovado pela Comissão de Ética da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da UNICAMP (protocolo nº. 077-2005). Os pacientes forneceram consentimento formal para participação no estudo, de acordo com o estabelecido pela Resolução CNS nº 196/96 (anexo).

As informações dispostas neste termo foram fornecidas por Emerson José Sallum (Doutorando na Área de Ortodontia e Executor do Projeto) e pelo Prof. Dr. Darcy Flávio Nouer (Orientador), para estabelecer acordo formal por escrito, mediante o qual o indivíduo objeto da pesquisa, ou seu responsável, autorizou sua participação com pleno conhecimento da natureza dos procedimentos e riscos a que se submeteu, com a capacidade de livre arbítrio e sem qualquer coação. Todos os participantes ou seus respectivos responsáveis receberam uma cópia deste termo de consentimento livre e esclarecido antes do início do experimento.

4.2. Seleção da Amostra

4.2.1 Critérios de Inclusão

Todos os pacientes passaram por exame clínico, sendo selecionados para a pesquisa 16 pacientes triados na Clínica de Pós-Graduação em Ortodontia da FOP-UNICAMP, que apresentaram:

- (-) Idade: entre 12 e 24 anos;
- (-) Pacientes usando aparelho ortodôntico fixo por pelo menos um ano e no máximo há três anos;
- (-) Presença de Gengivite Crônica Generalizada.
- (-) Uso de amarrilhas.

4.2.2. Critérios de Exclusão

Foram excluídos os pacientes que:

- (-) Usaram antibiótico nos três meses anteriores ao início do estudo;
- (-) Usaram medicação sistêmica que poderia alterar o curso da inflamação durante a execução da pesquisa;
- (-) Tenham recebido tratamento periodontal nos três meses anteriores ao início do estudo;
- (-) Apresentaram quadro clínico de gengivite aguda (Gengivite Ulcerativa Necrosante)
- (-) Apresentaram lesões cariosas;
- (-) Apresentaram alguns problemas nas vias respiratórias;
- (-) Fumantes;
- (-) Gestantes.
- (-) Uso de elastic
- (-) Uso de bandas ortodônticas

4.3 . Delineamento

O estudo utilizou um delineamento experimental que permitiu a comparação dos mesmos indivíduos em duas situações distintas:

4.3.1 Inicial / com arco: com o arco ortodôntico em posição e presença de inflamação gengival.

4.3.2 Final / sem arco: o arco foi removido e o paciente manteve seu padrão de higiene oral por 15 dias.

Portanto, todos os indivíduos selecionados foram avaliados inicialmente e após 15 dias para os seguintes parâmetros clínicos e microbiológicos: índice de placa dental - (IP); índice de sangramento a sondagem – (ISS); profundidade de sondagem –(PS); medição dos compostos sulfurados voláteis (CSV's) através do uso do monitor portátil de sulfetos (HALIMETER® -Interscan Corp.,Chatsworth, CA, USA) e teste microbiológico – (PCR). Adicionalmente, foi realizada uma avaliação de CSV's logo após a remoção do arco e utilização do fio dental.

4.4 Remoção do Arco Ortodôntico: após os exames iniciais, todos os pacientes tiveram os arcos ortodônticos removidos pelo período de 15 dias. Os pacientes foram instruídos a continuar com os mesmos hábitos e técnica de higiene bucal. Não houve mudança no tipo de dentifrício, ou do tipo de escova dental que estava sendo utilizada pelo paciente. Decorridos 15 dias sem o arco, os parâmetros clínicos e microbiológicos foram novamente realizados. Os pacientes receberam profilaxia profissional e os mesmos arcos ortodônticos foram recolocados para a continuação do tratamento ortodôntico.

4.5 Descrição dos parâmetros clínicos e microbiológicos obtidos

4.5.1 Índice de placa (IP) SILNESS & LÖE, 1964. (realizados nos dentes 11, 31,16 e 36)

0 - nenhuma placa na área gengival

1 - uma película de placa aderida à margem gengival livre e à área adjacente do dente. A placa pode ser reconhecida apenas correndo-se uma sonda pela superfície do dente.

2 - acúmulo moderado de placa na margem gengival livre e à área adjacente do dente. A placa pode ser vista a olho nu.

3 - abundância de placa na margem gengival livre e à área adjacente do dente.

4.5.2 Índice de sangramento à sondagem (ISS) AINAMO & BAY, 1975. (realizados nos dentes 11, 31,16 e 36)

Determinado pela presença ou ausência de sangramento gengival utilizando-se uma sonda periodontal que percorre horizontalmente a margem gengival vestibular.

4.5.3 Profundidade de Sondagem (PS) (realizados nos dentes 11, 31,16 e 36)

Para avaliar a profundidade de sondagem foi utilizada a sonda periodontal de Williams, medindo-se as quatro faces: vestibular, lingual, mesial e distal dos dentes envolvidos na pesquisa.

4.5.4 Medição dos níveis de CSV's

As medidas quantitativas dos compostos sulfurados voláteis foram realizadas com a utilização de um monitor de sulfetos industrial portátil (HALIMETER®), o qual apresenta um visor digital que foi sempre “zerado” no ar de um ambiente (mais neutro possível) anteriormente a cada medida, permitindo a visualização e a marcação do pico máximo das concentrações de CSV's em partes por bilhão (ppb). Foram mensurados os valores para os CSV's da entrada da boca (Fig.1)



Fig. 1. Paciente durante a coleta dos dados de CSV's



Fig. 2. Halimeter

O atendimento para medição dos compostos sulfurados voláteis seguiu rígidos controles de horário de atendimento, entre as 7h e 9h da manhã. Os indivíduos seguiram normas pré-estabelecidas, por escrito e com a anuência dos mesmos.

Todos os voluntários da pesquisa foram orientados a seguir as seguintes instruções da véspera para o dia do atendimento:

- Estar em jejum completo no horário do atendimento. Sua última alimentação ou ingestão de líquidos deveria acontecer até às 23h do dia anterior;
- Não lavar, escovar ou colocar quaisquer líquidos na boca após acordarem;
- Não utilizar perfume, desodorante, sabonete ou quaisquer outros produtos após acordarem;

Para a medição dos CSV's com o aparelho Halimeter® foram observados os seguintes critérios:

- Antes de quaisquer medidas, o paciente manteve a boca fechada por três minutos para permitir a concentração dos CSV's no local.
- O voluntário não deveria assoprar ou succionar o canudinho de captação, preferencialmente, a respiração deveria ser segura por alguns segundos.
- A esfera flutuante no visor do Halimeter® deveria permanecer estável no meio da escala.
- O canudinho deveria estar bem adaptado à entrada de captação do aparelho, evitando-se assim vazamento de gás e erro de leitura.
- As medidas de CSV's foram obtidas inicialmente, logo após remoção do arco e uso de fio dental e a medidas finais, 15 dias após remoção do arco.

Após o término do experimento, todos os pacientes foram incluídos num protocolo de tratamento periodontal, e receberam a seqüência do tratamento ortodôntico na clínica da FOP-UNICAMP.

4.6 Teste Microbiológico - PCR (reação de polimerase em cadeia)

Foram colhidas amostras para análise microbiológica, das regiões vestibulares dos dentes 11, 31, 16, 36.

As coletas foram realizadas utilizando-se um instrumento raspador tipo ponta morse 0/00. As amostras foram coletadas e imediatamente colocadas em um tubo tipo Eppendorf codificados, com capacidade de 1,5 ml contendo 300 µL de uma solução tampão esterilizada. Foram enviadas ao Laboratório de Microbiologia da FOP-UNICAMP, onde foram congeladas a – 20°C. A avaliação microbiológica utilizou a reação de polimerase em cadeia – PCR. Esta técnica baseia-se em reações enzimáticas cíclicas de desnaturação pelo calor, hibridização dos oligonucleotídeos e síntese enzimática de DNA, resultando na amplificação exponencial da seqüência de DNA desejado, permitindo a identificação de seqüências de genes específicos, tais como genes de espécies bacterianas.

4.7 Análise Microbiológica

As amostras clínicas foram analisadas para a detecção de 5 bactérias distintas relacionadas com a etiopatogenia da doença periodontal: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythensis* (*Bacteroides forsythus*), *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* e *Prevotella nigrescens*. Para tanto, as amostras clínicas foram submetidas à extração de DNA e subsequente análise pela técnica de PCR.

Extração de DNA

As amostras clínicas foram degeladas, submetidas à centrifugação (10000 rpm/10 minutos), seguida de remoção do sobrenadante (solução transporte TE - 10 mM Tris-HCl, pH 8,0, 1 mM EDTA, pH 8,0). O precipitado (biofilme dental) resultante foi submetido à extração de DNA segundo o protocolo abaixo (modificado de Doyle & Doyle, 1990):

1. Uma alíquota de 700µL de tampão de extração^δ foi adicionada à amostra, a mesma foi agitada ao vórtex e deixada por 30 minutos à 65°C num Banho-Maria, sendo homogeneizada suavemente a cada dez minutos;
2. Após a incubação, adicionou-se 650mL de CIA (clorofórmio:álcool isoamílico; 24:1), homogeneizou-se até formar uma emulsão. Depois de formada a emulsão, a amostra foi centrifugada (10000 rpm/10 minutos).
3. A fase aquosa formada após a centrifugação foi transferida para novo tubo eppendorf de 1,5mL e 200µL de tampão de extração sem proteinase K foi adicionado; em seguida, adicionou-se de CIA, homogeneizou-se até formar uma emulsão. Depois de formada a emulsão, a amostra foi centrifugada (10000 rpm/10 minutos).
4. Novamente a fase aquosa formada foi transferida para outro tubo *eppendorf*. A adição de CIA foi repetida por mais uma ou duas vezes, até obtenção de uma fase aquosa transparente e límpida.
5. Após obtenção de uma fase aquosa límpida, precipitou-se o DNA com adição de 650µL de álcool isopropílico à temperatura ambiente e centrifugação (10000 rpm/10 minutos).
6. Após a centrifugação, removeu-se o álcool isopropílico e 50mL de álcool etílico a 70% foi adicionado para lavar a superfície do DNA precipitado, sem

^δ NaCl 1,4 M; Tris-HCl 100 mM, pH 8,0; EDTA 20 mM, pH 8,0; PVP-40 1%; CTAB 2%; Proteinase K 100 µg/mL; β-Mercaptanol 0,2% Água Milli-Q.

ressuspender. Novamente o precipitado foi centrifugado, seguido da remoção do etanol. O tubo *ependorf* foi deixado aberto até a secagem do precipitado.

7. Para finalizar, o DNA foi ressuspendido em 30µL de tampão Tris-EDTA (10 mM Tris-HCl, pH 8.0, 1 mM EDTA, pH 8.0) com 10 µg/mL de RNase e deixado em Banho-Maria à 37°C por 30 minutos.

PCR

As reações de PCR foram padronizadas para cada primer (Tabela 1) utilizando-se como controle positivo o DNA genômico das cepas *A. actinomycetemcomitans* (ATCC 29522), *T. forsythensis* (ATCC 43037), *P. gingivalis* (ATCC 33277), *P. nigrescens* (NCTC 9336) e *P. intermedia* (HG110) como controle positivo; e a ausência de DNA foi utilizada como controle negativo. As reações de PCR consistiram de 200µM de dNTPs, 2,5mM de MgCl₂, 0,3µM de cada primer, 1,25U de Taq DNA polimerase (Invitrogen do Brasil) e aproximadamente 10ng de DNA genômico, em volumes de 50ul. As condições térmicas para cada par de primers foram as seguintes:

- *A. actinomycetemcomitans* e *P. intermedia*: A reação inicia-se com a desnaturação do DNA a 95°C por 2 min, seguida de 36 ciclos – fase de desnaturação a 94°C por 30 segundos, fase de hibridização dos “primers” a 55°C por 1 min, e fase de extensão a 72°C por 2 min – finalizando a reação a 72°C por 10 minutos (Ashimoto et al., 1996).
- *B. forsythus*: A reação inicia-se com a desnaturação do DNA a 95°C por 2 min, seguida de 36 ciclos – fase de desnaturação a 95°C por 30 segundos, fase de hibridização dos “primers” a 60°C por 1 min, e fase de extensão a 72°C por 1 min – finalizando a reação a 72°C por 2 minutos (Slots et al., 1995).
- *P. gingivalis*: A reação inicia-se com a desnaturação do DNA a 94°C por 5 min, seguida de 30 ciclos – fase de desnaturação a 94°C por 1 min, fase de hibridização dos “primers” a 70°C por 1 min, e fase de extensão a 72°C por 1 min – finalizando a reação a 72°C por 2 minutos (Benkirane et al., 1995).

- *P. nigrescens*: A reação inicia-se com a desnaturação do DNA a 95°C por 2 min, seguida de 36 ciclos – fase de desnaturação a 95°C por 30 segundos, fase de hibridização dos “primers” a 65°C por 1 min, e fase de extensão a 72°C por 1 min – finalizando a reação a 72°C por 2 minutos (Guillot & Mouton, 1997).

Tabela 1: Pares de primers utilizados.

| Primers <i>(tamanho esperado; pb)</i> | Referência | Seqüência |
|---|---------------------------|---|
| A. <i>actinomycetemcomitans</i> (557pb) | Ashimoto et al., 1996 | 5´ AAA CCC ATC TCT GAG TTC TTC TTC 3´ 5´ ATG CCA ACT TGA CGT TAA AT 3´ |
| <i>T. forsythensis</i> (641pb) | Slots et al., 1995 | 5´ GCG TAT GTA ACC TGC CCG CA 3´ 5´ TGC TTC AGT GTC AGT TAT ACC T 3´ |
| <i>P. gingivalis</i> (539pb) | Benkirane et al., 1995 | 5´ AAT CGT AAC GGG CGA CAC AC 3´ 5´ GGG TTG CTC CTT CAT CAC AC 3´ |
| <i>P. intermedia</i> (575pb) | Ashimoto et al., 1996 | 5´ TTT GTT GGG GAG TAA AGC GGG 3´ 5´ TAC ACA TCT CTG TAT CCT GCG T 3´ |
| <i>P. nigrescens</i> (1.100pb) | Guillot & Mouton, 1997 | 5´ TTA TGT TAC CCG TTA TGA TGG AAG 3´ 5´ ATG GCG AAA TAG GAA TGA AAG TTA 3´ |

O total de 10µL das reações de PCR foram analisadas em géis de agarose a 1% (separados a 8V/cm em tampão Tris-Borato EDTA), corados com brometo

de etídio (5µg/mL), e as bandas foram observadas com auxílio de um transluminador de luz ultravioleta. Foi incluído, em cada gel, um padrão de peso molecular de 100 pb (Invitrogen do Brasil).

Eletroforese

As amostras, após a reação de PCR, foram conservadas a 4°C ou analisadas imediatamente por eletroforese em gel de agarose 1% (Gibco BRL - Life Technology) em tampão tris-borato-EDTA. Foi incluído, em cada gel, um padrão de peso molecular de 100 pb ou 1 Kb (DNA ladder, Gibco BRL - Life Technology). Após o término de cada corrida, o gel foi corado com brometo de etídio e as bandas foram observadas com auxílio de um transluminador de luz ultravioleta.

4.8-Análise Estatística

Os dados provenientes da avaliação microbiológica foram submetidos ao teste de McNemar. A comparação dos valores de profundidade de sondagem entre os períodos foi realizada com o teste t pareado. A comparação dos valores de índice de placa entre os períodos foi realizada com o teste de Wilcoxon pareado. A comparação dos valores obtidos para CSV's iniciais, imediatamente após remoção do arco e 15 dias após, foi realizada com o teste ANOVA ("two way"). Na presença de valores significantes, aplicou-se o teste Tukey para as comparações múltiplas.

5. Resultados

5.1 Microbiológicos

Avaliou-se a presença de patógenos periodontais nos biofilmes dentais de 16 pacientes, obtidos em 4 dentes (11-31-16-36). Portanto, foram realizados 4 testes por paciente, totalizando 64 testes. Em cada teste foram avaliados cinco microrganismos, perfazendo um total de 320 testes no estudo.

Os resultados foram expressos na forma de porcentual dos exames do PCR com marcação positiva e negativa para os diferentes patógenos avaliados, com (inicial) e sem (final) a presença do arco ortodôntico (Tabs. 1 e 2, respectivamente).

Tabela 1. RESULTADO INICIAL (COM ARCO) DO PCR.

(Número e percentual de sítios positivos e negativos)

| SÍTIOS + | SÍTIOS - |
|-------------------------|-------------------------|
| Aa = 10 = 15,63% | Aa = 54 = 84,37% |
| Tf = 53 = 82,81% | Tf = 11 = 17,18% |
| Pg = 05 = 07,81% | Pg = 59 = 92,18% |
| Pi = 20 = 31,25% | Pi = 44 = 68,75% |
| Pn = 53 = 82,81% | Pn = 11 = 17,18% |

Obs: 16 pacientes = 4 sítios = 64 sítios x 5 microrganismos = 320 amostras

Tabela 2. RESULTADO FINAL (SEM ARCO) DO PCR.

(Número e percentual de sítios positivos e negativos)

| SÍTIOS + | SÍTIOS - |
|-------------------------|-------------------------|
| Aa = 14 = 21,87% | Aa = 50 = 78,12% |
| Tf = 39 = 60,93% | Tf = 25 = 39,06% |
| Pg = 06 = 09,37% | Pg = 58 = 92,62% |
| Pi = 26 = 40,62% | Pi = 38 = 59,37% |
| Pn = 57 = 89,06% | Pn = 07 = 10,93% |

Obs: 16 pacientes = 4 sítios = 64 sítios x 5 microrganismos = 320 amostras

As Tabelas 3 a 7 apresentam os resultados específicos para cada patógeno avaliado, comparando os resultados iniciais (com arco) e finais (sem arco). Observa-se que com exceção da *T. forsythensis*, os demais patógenos avaliados não apresentaram diferenças estatisticamente significantes quando comparados os resultados iniciais e finais.

Tabela 3. RESULTADO DO PCR PARA A BACTÉRIA A.a.

| Final | Inicial | |
|----------|-------------|------------|
| | Positivo | Negativo |
| Positivo | 10 (15,63%) | 4 (6,25%) |
| Negativo | 0 (0,00%) | 50(78.13%) |
| Total | 10 | 54 |

Obs: Não foi observada diferença significativa entre o inicial e final para a bactéria A.a. $p=0,1356$. (Teste de McNemar)

Tabela 4. RESULTADO DO PCR PARA A BACTÉRIA T.f.

| Final | Inicial | |
|----------|-------------|-------------|
| | Positivo | Negativo |
| Positivo | 38 (59,38%) | 1 (1,56%) |
| Negativo | 15 (23,44%) | 10 (15,63%) |
| Total | 53 | 11 |

Obs: Observa-se diferença significativa entre o inicial e final para a bactéria *T.f.* ($p=0,005$); 15 amostras (23,44%) que eram positivas no início passaram a negativas no final. (Teste de McNemar)

Tabela 5. RESULTADO DO PCR PARA A BACTÉRIA P.g.

| Final | Inicial | |
|----------|-----------|-------------|
| | Positivo | Negativo |
| Positivo | 3 (4,69%) | 3 (4,69%) |
| Negativo | 2 (3,13%) | 56 (87,50%) |
| Total | 5 | 59 |

Obs: Não foi observada diferença significativa entre o inicial e final para a bactéria *P.g.* ($p=0,6547$). (Teste de McNemar)

Tabela 6. RESULTADO DO PCR PARA A BACTÉRIA *P.i.*

| Final | Inicial | |
|----------|-------------|-------------|
| | Positivo | Negativo |
| Positivo | 12 (18,75%) | 14 (21,88%) |
| Negativo | 8 (12,50%) | 30 (46,88%) |
| Total | 20 | 44 |

Obs: Não foi observada diferença significativa entre o inicial e final para a bactéria *P.i.* ($p=0,2008$). (Teste de McNemar)

Tabela 7. RESULTADO DO PCR PARA A BACTÉRIA *P.n.*

| Final | Inicial | |
|----------|-------------|------------|
| | Positivo | Negativo |
| Positivo | 50 (78,13%) | 7 (10,94%) |
| Negativo | 3 (4,69%) | 4 (6,25%) |
| Total | 53 | 11 |

Obs: Não foi observada diferença significativa entre o inicial e final para a bactéria *P.n.* ($p=0,3428$).

5.2. Clínicos

A Tabela 8 e o Gráfico 1 apresentam os resultados do **Índice de Sangramento** entre os períodos. Verifica-se que os pacientes no início da pesquisa apresentavam um quadro de sangramento expressivo que foi reduzido após a remoção do arco e manutenção dos hábitos de higienização oral próprios de cada paciente.

Tabela 8. ÍNDICE DE SANGRAMENTO À SONDAGEM

| ÍNDICE DE SANGRAMENTO | | | |
|-----------------------|----------|----------|----------|
| INICIAL | | FINAL | |
| POSITIVO | NEGATIVO | POSITIVO | NEGATIVO |
| 100% | 0% | 28,13% | 71,87% |

ÍNDICE DE SANGRAMENTO INICIAL E FINAL

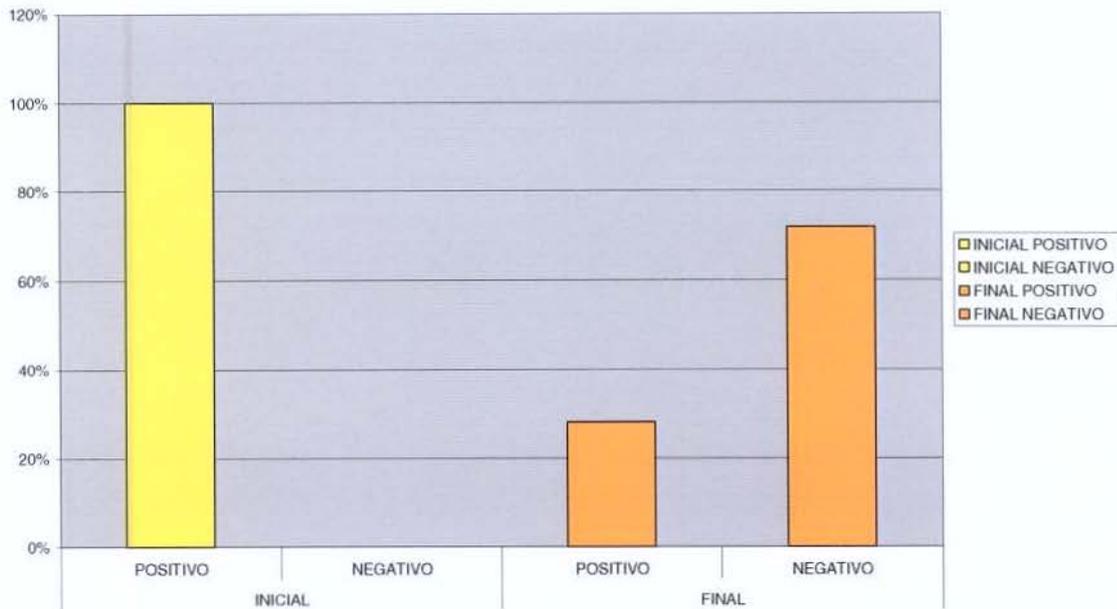


Gráfico 1 - Índice de sangramento a sondagem (%) nas avaliações iniciais e finais.

Nas Tabelas 9 e 10 e Gráfico 2, observa-se os resultados para o **Índice de Placa Bacteriana**. No início da pesquisa houve uma predominância dos graus 2 e 3. Após a remoção do arco por 15 dias os resultados apontam uma predominância do grau 1.

Tabela 9. ÍNDICE DE PLACA BACTERIANA-FREQUENCIA

| ÍNDICE DE PLACA BACTERIANA | | |
|----------------------------|---------|--------|
| | INICIAL | FINAL |
| 0 | 0% | 18,75% |
| 1 | 0% | 59,37% |
| 2 | 39,70% | 21,87% |
| 3 | 60,30% | 0% |

ÍNDICE DE PLACA BACTERIANA INICIAL E FINAL

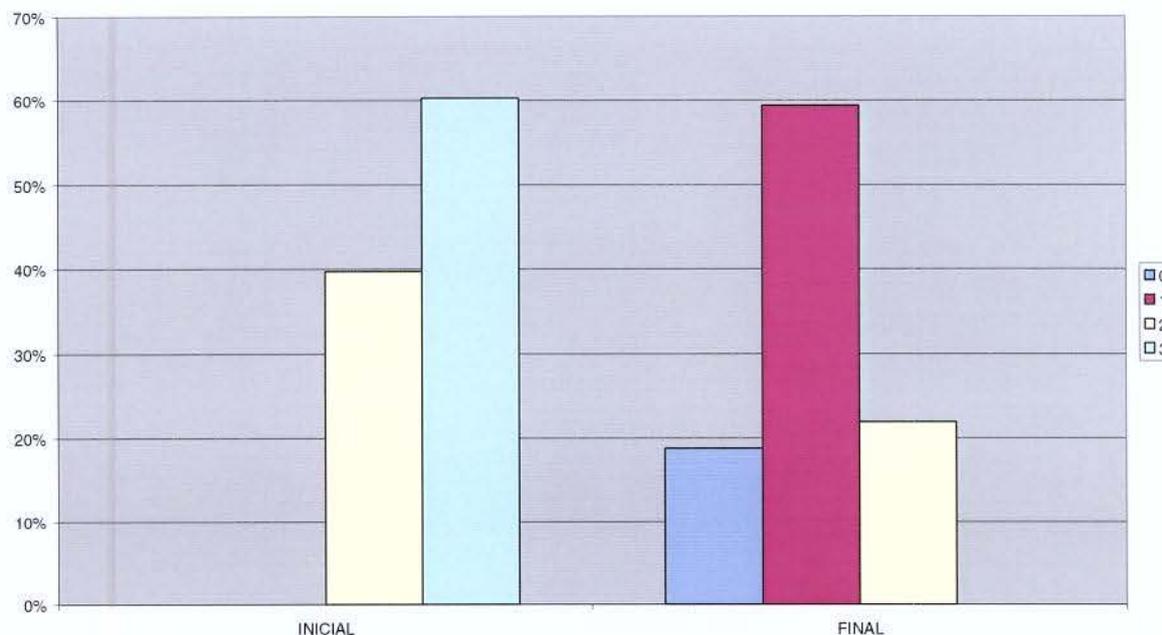


Gráfico 2 - Índice de placa bacteriana (%) nas avaliações iniciais e finais.

Tabela 10. ÍNDICE DE PLACA BACTERIANA -MEDIANAS

| | Inicial | Final |
|---------|---------|-------|
| Mediana | 3,0 | 1,0 |
| Mínimo | 2,0 | 0,5 |
| Máximo | 3,0 | 2,0 |

Obs: O teste foi feito com a mediana dos 4 dentes de cada paciente. P=0,0004.
(Teste de Wilcoxon pareado)

As Tabelas 11 e 12 e Gráfico 3 mostram uma redução na média de **profundidade de sondagem** após a remoção do arco ortodôntico.

Tabela 11. MÉDIA DA PROFUNDIDADE DE SONDAÇÃO INICIAL E FINAL

| | INICIAL | FINAL | DIFERENÇA |
|-------------------|-------------|-------------|-------------|
| VESTIBULAR | 2,58 | 1,77 | 0,81 |
| LINGUAL | 2,5 | 1,92 | 0,58 |
| MESIAL | 2,96 | 2,08 | 0,88 |
| DISTAL | 2,74 | 2,12 | 0,62 |
| MÉDIA | 2,74 | 2,01 | 0,73 |

MÉDIA DE PROFUNDIDADE DE SONDAÇÃO INICIAL E FINAL

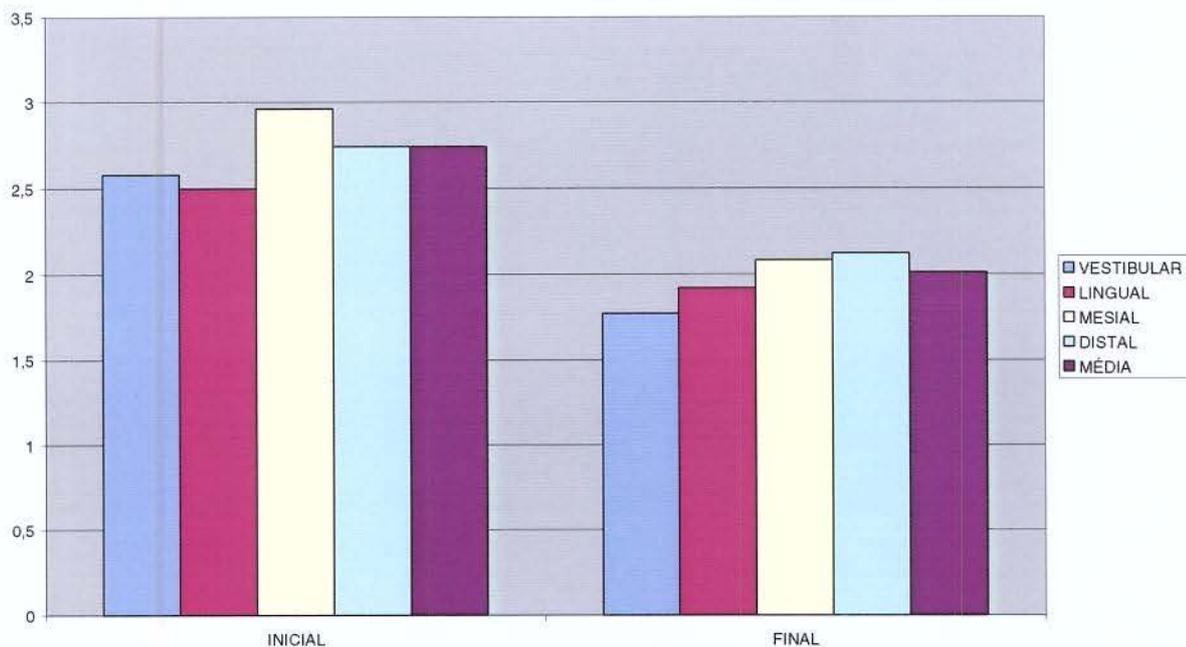


Gráfico 3 - Médias de profundidade de sondagem iniciais e finais.

Tabela 12. PROFUNDIDADE DE SONDAÇÃO POR FACE DENTAL AVALIADA

| | Inicial | Final | p* |
|------------|------------------------|------------------------|---------|
| | Médias e desvio padrão | Médias e desvio padrão | |
| Vestibular | 2,58 ± 0,59 | 1,77 ± 0,39 | <0,0001 |
| Lingual | 2,50 ± 0,53 | 1,92 ± 0,43 | <0,0001 |
| Mesial | 2,96 ± 0,59 | 2,08 ± 0,40 | <0,0001 |
| Distal | 2,94 ± 0,62 | 2,12 ± 0,50 | <0,0001 |
| Média | 2,74 ± 0,53 | 2,01 ± 0,45 | <0,0001 |

Obs: O teste foi feito com a média dos 4 dentes de cada paciente.
(Teste t pareado)

As figuras 2 e 3 ilustra os aspectos clínicos de um dos pacientes incluídos no estudo, nos diferentes períodos.



Fig. 2 – Condição clínica inicial do paciente



Fig.3 - Condição clínica final do paciente após 15 dias sem o arco.

A Tabela 13 e Gráfico 4 apresentam os resultados dos níveis de compostos sulfurados voláteis encontrados no exame inicial, imediatamente após remoção do arco e após 15 dias.

Tabela 13. COMPOSTOS SULFURADOS VOLÁTEIS - CSV's (ppb)

| Tempo | Média | Desvio padrão |
|------------------------------|----------|---------------|
| Inicial | 355,94 A | 96,82 |
| Remoção do arco e fio dental | 227,56 B | 79,74 |
| final | 118,25 C | 34,73 |

Obs: Médias seguidas de letras distintas diferem entre si pela ANOVA (two way) e teste de Tukey ($p < 0,05$)

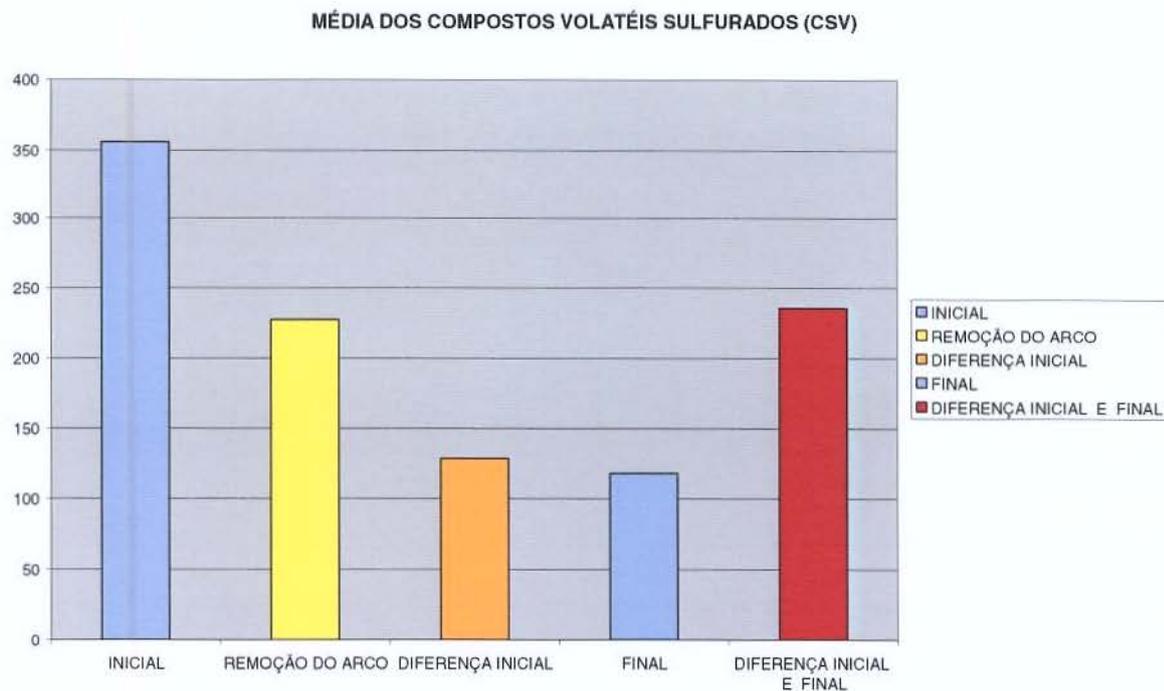


Gráfico 4 - Médias dos compostos voláteis sulfurados – CSV's (ppb)

6. DISCUSSÃO

O monitoramento da condição inflamatória gengival durante o tratamento ortodôntico tem recebido crescente atenção já que o mesmo pode favorecer o aparecimento da gengivite e levar à possíveis perdas ósseas em pacientes susceptíveis (Zachrisson, 1974; Sharpe, 1987; Harris ; Baker, 1990; Diedrich, 1996). As dificuldades criadas pelos arcos ortodônticos quanto à higienização bucal dos pacientes são reconhecidas e podem contribuir para o desenvolvimento da inflamação gengival (Zachrisson ; Zachrisson, 1972). Sabe-se que bráquetes, bandas, elásticos e arcos atuam como fatores locais de retenção de biofilme dental, o que pode aumentar em até três vezes o número de microrganismos, como a *Prevotella intermédia* (Diamanti-Kipiotti et al., 1987; Huser et al. 1990). Com base nestas informações, a remoção temporária dos arcos ortodônticos é utilizada na prática clínica para facilitar as manobras de higiene bucal dos pacientes em momentos específicos do tratamento, ou seja, na vigência de inflamação gengival. Entretanto, a literatura não apresenta estudos que demonstrem o impacto desta remoção nos parâmetros clínicos e microbiológicos (PCR) periodontais bem como nos níveis de compostos sulfurados voláteis (CSV's). Portanto, o objetivo do presente estudo foi avaliar clínica e microbiologicamente este procedimento, bem como sua influência nos CSV's, incluindo avaliação específica da presença de patógenos periodontais reconhecidos (*Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermédia* e *Prevotella nigrescens*).

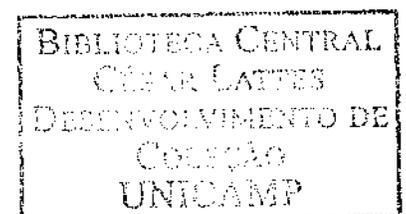
Esta investigação faz parte de uma linha de pesquisa da Área de Ortodontia da FOP-UNICAMP que tem o objetivo de avaliar o impacto da remoção total ou parcial do aparelho ortodôntico e sua influencia na promoção da saúde periodontal. Em estudo anteriormente realizado (Sallum et al. 2002) avaliaram o efeito da remoção total do aparelho seguida de profilaxia profissional. Foram incluídos 10 pacientes com idades entre 12 e 20 anos, com sinais de inflamação gengival na fase final do tratamento ortodôntico, ou seja, em fase de remoção do

mesmo. Foram avaliados: índice de placa, índice gengival, profundidade de sondagem e coletadas amostras de microorganismos durante o curso da inflamação gengival (inicial) e 30 dias após a remoção do aparelho ortodôntico e profilaxia profissional. O PCR foi utilizado para *detectar Porphyromonas gingivalis, Bacteroides forsythus, Actinobacillus actinomycescomitans, Prevotella intermedia e Prevotella nigrescens*. Uma melhora significativa no índice de placa e gengival foi observada bem como redução na profundidade de sondagem ($P < 0.05$). Observou-se a associação dos patógenos periodontais com a inflamação gengival durante o tratamento ortodôntico. A melhora na saúde periodontal observada após 30 dias foi concomitante com a redução dos sítios positivos para *A. actinomycescomitans* e *B. forsythus* ($P < 0.05$). Portanto, concluiu-se que os patógenos periodontais associados com a inflamação gengival durante o tratamento ortodôntico podem ser significativamente reduzidos pela remoção completa do aparelho ortodôntico seguida de profilaxia profissional de placa. Seguindo a seqüência de investigação, o presente trabalho avaliou o efeito da remoção parcial do aparelho ortodôntico (apenas o arco), sem realizar a profilaxia profissional e sem alterar os hábitos de higienização dos pacientes. De forma diversa ao estudo anterior, os pacientes incluídos não estavam em fase final do tratamento, ou seja, apresentavam tratamento ortodôntico em curso. Nestes casos, a remoção do arco constitui-se em manobra clínica de rotina nos pacientes que apresentam inflamação gengival generalizada, visando devolver a saúde gengival e retomar o curso do tratamento posteriormente. A pergunta que o presente estudo visou responder é se as melhoras clínicas observadas são acompanhadas por mudanças significantes na presença dos patógenos periodontais avaliados e nos níveis de compostos sulfurados voláteis. Para tanto, foram incluídos 16 pacientes com aparelho ortodôntico com idade entre 12 e 24 anos e gengivite crônica generalizada. Os pacientes foram avaliados, para os parâmetros clínicos e microbiológicos, na vigência de inflamação e com o arco ortodôntico em posição (valores iniciais) e 15 dias após a remoção do arco (valores finais). Cumpre ressaltar que não foi realizada profilaxia profissional após

a remoção dos arcos nem alteração dos hábitos de higiene bucal próprios de cada indivíduo, durante os 15 dias pós-remoção. Observou-se grande redução no sangramento gengival (100% e 28,13%, valor inicial e final, respectivamente), redução significativa no índice de placa (3 e 1, inicial e final, respectivamente) e na profundidade de sondagem (2.7 e 2.0, inicial e final, respectivamente). Portanto, em concordância com o estudo anterior (Sallum et al. 2002), a remoção parcial (arco) do aparelho ortodôntico contribui para a melhora da saúde periodontal. Entretanto, com a avaliação microbiológica com PCR, observou-se diferença significativa apenas para a bactéria *B. forsythus* (P=0.005) onde 15 amostras (23.44%) positivas no início passaram a negativas no final. Os demais patógenos avaliados não apresentaram diferenças significantes entre valores iniciais e finais. No estudo anterior (Sallum et al. 2002), tanto o *B. forsythus* quanto o *A. actinomycetemcomitans* apresentaram diferenças significantes. É importante notar que após os 15 dias sem o arco e mantendo apenas a higienização de rotina, os sítios ainda positivos para *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* e *Prevotella nigrescens* foram 21.8%, 60.9%, 9.37%, 40.6% e 89%, respectivamente. Ou seja, apesar das mudanças clínicas favoráveis observadas, provavelmente associadas a mudança quantitativa nos níveis de placa (comprovada pela redução significativa no índice de placa), é possível concluir que esta manobra clínica não foi capaz de modificar qualitativamente a situação destes sítios quanto a presença destes patógenos. Mesmo para o *Tannerella forsythus* que apresentou mudança significativa em comparação aos valores iniciais, ainda 60.9% dos sítios permaneceram positivos após 15 dias. A extrema sensibilidade e especificidade da avaliação pelo PCR que permitem a detecção de 10 patógenos entre 10^6 de outros microrganismos (Gumerlock et al 1991) pode também ter contribuído para a discrepância entre a melhora clínica (decorrência da mudança quantitativa) e a pouca influência nos parâmetros microbiológicos. A importância da presença destes patógenos periodontais como fatores de risco para a progressão da doença periodontal com perda de inserção e perda óssea (Grossi et al, 1994,1995, Haffajee et al., 1983)

não deve ser subestimada. Portanto, torna-se evidente que somente a remoção do arco ortodôntico, sem a realização da remoção profissional do biofilme é insuficiente para provocar mudanças qualitativas significantes no biofilme e reduzir o risco periodontal.

Estima-se que a halitose afeta cerca de 50% da população, com vários graus de intensidade e etiologia (Bosy et al 1994; Meskin, 1996). A halitose é causada por vários fatores intra-orais e extra-orais. Assim, reconhece-se que certos alimentos, alguns medicamentos, corpos estranhos, doenças sistêmicas podem levar a halitose. Porém 80% a 90% das causas são de origem bucal, e as bactérias são diretamente responsáveis pela maioria dos gases ofensivos (Kokkevold, 1997). A doença periodontal pode estar envolvida na patologia da halitose, a qual tem como principal fator os CSV's (Tonzetich ; Richer, 1964; Tonzetich, 1971). Estudos microbiológicos (Tonzetich, 1977) tem demonstrado que os microrganismos envolvidos na patogênese da doença periodontal contribuem para o aumento da produção do CSV's, em particular do metilmercaptana. Elevada concentração de CSV's tem sido reportada em pacientes com doença periodontal (Tonzetich, 1973; Tonzetich ; Yaegaki, 1992,1995), com um possível aumento da produção de CSV's com a profundidade das bolsas (Coil ; Tonzetich, 1985). No presente estudo, verificou-se os valores de 355.9, 227.5 e 118.2 para as medidas iniciais, imediatamente após remoção do arco e finais, respectivamente. Sendo que as diferenças observadas entre os períodos foram estatisticamente significantes. Estes resultados estão de acordo com os dados da literatura que indicam que abordagens mecânicas de controle do biofilme podem reduzir significativamente os níveis de halitose (Quirynen et al, 1998). Atualmente a halitose vem sendo alvo de maior preocupação de pacientes e profissionais por se constituir em um problema que pode promover grande impacto nas relações sociais do paciente e ser de difícil abordagem. Trata-se de uma condição difícil de discutir até com pessoas mais próximas e que causa embaraço ao paciente quando se reporta ao profissional. Portanto, medidas terapêuticas baseadas em um diagnóstico adequado da situação são necessárias.



No presente estudo, verificou-se que a remoção do arco proporciona melhores condições para a higienização do paciente e resulta em níveis menores de CSV's. Entretanto, apesar da redução da inflamação, índice de placa, profundidades de sondagem e redução nos níveis de CSV's contribuírem para uma percepção mais favorável por parte do paciente de sua condição de saúde bucal, torna-se importante notar a continuidade da presença de patógenos periodontais que estão associados com a halitose (Scully et al.1997). Este argumento vem reforçar a necessidade de intervenção profissional para a remoção do biofilme visando obter mudanças qualitativas favoráveis que possam contribuir para a diminuição do risco de recidiva.

O presente estudo fornece informações clínicas e microbiológicas importantes quanto ao efeito de um procedimento rotineiramente utilizado na prática da ortodontia. Demonstra os benefícios clínicos do procedimento como a diminuição da inflamação gengival, porém demonstra a possibilidade da manutenção de importantes patógenos periodontais. Novos estudos são necessários para avaliar protocolos específicos de controle do biofilme durante o tratamento ortodôntico que visam proporcionar as mudanças quantitativas e qualitativas na população bacteriana que possam minimizar o risco de perdas irreversíveis de periodonto de sustentação.

7. CONCLUSÕES

O resultado desta pesquisa nos permite concluir que:

1- A remoção dos arcos ortodônticos associada aos cuidados habituais de higiene bucal do paciente promove melhora dos parâmetros clínicos avaliados, ou seja, melhora das condições da saúde gengival dos paciente.

2- A remoção dos arcos ortodônticos associada aos cuidados habituais de higiene bucal do paciente promovem redução significativa apenas nos níveis de *Tannerella forsythus*.

3- Apesar da melhora do quadro clínico, fica evidente através dos aspectos qualitativos microbiológicos que há necessidade de procedimentos adicionais, visto que somente a remoção dos arcos ortodônticos associada aos cuidados habituais de higiene bucal do paciente não promovem mudanças significantes na maioria dos patógenos avaliados.

Referências Bibliográficas

Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. **International Dental Journal** 1975; 32: 281-291.

Altman LC, Page RC, Ebersole JL, Vandesteen EG. Assessment of host defenses and serum antibodies to suspected periodontal pathogens in patients with various types of periodontitis. **Journal of Periodontal Research** 17, 495-497, 1982.

Ash MM Jr, Gitlin BN, Smith WA. Correlation between plaque and gingivitis. **J. Periodontol** 1964; 35: 424-429.

Ashimoto A., et al. Polymerase Chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis. **Oral Microbiol. Immunol.** 1996; 11: 266-386.

Atack NE et al. Periodontal and microbiological changes associated with the placement of orthodontic appliances. A review **J. Periodontol** 1996; 67: 78-85.

Axelsson P, Lindhe J. The effect of controlled oral hygiene procedures on caries and periodontal disease in adults. **Journal of Clinical Periodontology** 1978 5,133-151.

Balenseifen JW, Madona, JV. Study of dental plaque in orthodontic patient. **J.Dent.Res.** 1970; 49: 320-324.

Benkirane Rm, Guillot E, Mouton C. Immunomagnetic PCR and DNA probe for detection and identification of *Porphyromonas gingivalis*. **J Clin Microbiol** 1995; 33: 2908-2912.

Blix IJ, Hars R, Preus HR, Helgeland K. Entrance of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* into HEP-2 cells in vitro. **J. Periodontol** 1992; 63: 723-728.

Boyd RI, Baumrind S. Periodontal considerations in the use of bands or bonds on molars in adolescents and adults. **Angle Orthod.** 1992; 62:117-126.

Bosy A, Kulkarni, GV, Rosemberg M, Mcculloch, G. Relationship Oral malodor to periodontitis: evidence of independence in discrete subpopulations. **J. Periodontol** 1994; 65: 37-46.

Burdon K.L. Bacterium melaninogenicum from normal and pathologic tissues. **Journal of Infections Diseases** 1928, 42: 161-171.

Burket LW. The effects of treatment on the soft periodontal tissues. **Am J.Orthod.** 1963; 660-671.

Chung H, Chung CP, Son SH, Nisengard RJ. Actino, 49;p. *bacillus actinomycetemcomitans* serotypes and leukotoxicity in Korean localized juvenile periodontitis. **J. Periodontol** 1989; 60: 506-511.

Christersson LA, Slots J, Rosling BG, Genco R. Microbiological and clinical effects of surgical treatment of localized juvenile periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology** 1985; 12:, 465-476.

Coil JM, Tonzetich J. Volatile sulphur production at health and diseased gingival crevice sites. **J. Dent. Res.** 1985; v.64 (Spec.Issue) : 786 (Abstr.543).

Coil JM, Tonzetich J. Characterization of volatile sulphur compounds production at individual gingival crevicular sites in humans. **J Clin Dent** 1992; 3: 97-103.

De Boever EH, Loesch WJ. Assessing contribution of anaerobic microflora of the tongue to oral malodor. **J.Am.Dent.Assoc.** 1995; 126: 1384-1393.

Diamanti-Kipiotti A. et al. Clinical and microbiological effects of fixed orthodontic appliances. **Clin. Periodontol.** 1987; 14:26-333.

Diedrich PR. Orthodontic procedures improving periodontal prognosis. **Dent.clin.North.Am.** 1996; 40, n.4: .875-887.

Doyle JJT, Doyle JL. Isolation of plant DNA from fresh tissue. **Focus** 1990; 12: 13-18.

Duncan MJ, Nakao S, Skobe Z, Xie H. Interactions of *Porphyromonas gingivalis* with epithelial cells. **Infection and Immunity** 1993; 61:2260-2265.

Dzink JL, Socransky SS, Haffajee AD. The predominant cultivable microbiota of active and inactive lesions of destructive periodontal diseases. **J Clin Periodontol** 1988; 15:316-323.

Dzink JL, Socransky SS, Ebersole J, Frey D.E. Elisa and conventional techniques for identification of black-pigmented *Bacteroides* isolated from periodontal pockets. **J Period Res** 1983; 18, 369-374.

Ebersole, J.L., Taubman, M.A. ; Smith, D.J. Gingival crevicular fluid antibody to oral microorganisms. II. Distribution and specificity of local antibody responses. **Journal of Periodontal Research** 1985, 20, 349-356.

Egelberg J. Local effect of diet on plaque formation and development of gingivitis in dogs. Part I Effect of hard and soft diets. **Odont. Revy** 1965; 16: 31-41.

Figueiredo CF, Rosetti EP, Maracantonio RAC, Salvador SL The relationship of oral malodor in patients with or without periodontal disease. **J. Periodontol.** 2002; 73: 1338-1341.

Gmur R, Strub JR ; Guggenheim B Prevalence of *Bacteroides forsythus* and *Bacteroides gingivalis* in subgingival plaque of prosthodontically treated patients on short recall. **Journal of Periodontal Research** 1989; 24: 113-120.

Gumerlock ,P.H. et al . Use of the polimerase chain reaction for the specific and direct detection of *Clostridium difficile* in human feces .**Rev.Infect.Dis.**1991,, 16: 1053-1060.

Guillot E, Mouton C. PCR-DNA probe assays for identification and detection of *Prevotella intermedia* sensu stricto and *Prevotella nigrescens*. **J Clin Microbiol.** 1997; 35:1876-82.

Graber TM, ; Vanarsdall RL. Ortodontia Princípios e Técnicas Atuais. Inter-relacionamento Ortodontia e Periodontia, **Universidade da Pensilvânia – Philadelphia**, 1981; p 661.

Greenspan D. ; Greenspan JS. Oral manifestation of human immunodeficiency virus infection. **Dental Clinics of North America** 1993; 37: 21-32..

Grossi, SG, Genco RJ, Machtei EE, Ho AW, Koch G, Dunford RG, Zambon JJ, Husmann E. Assessment of risk for periodontal disease. II. Risk indicators for bone loss. **Journal of Periodontology** 1995; 66: 23-29.

Grossi SG, Zambon JJ, Ho, AW, Koch, G, Dunford RG, Machtei EE, Norderyd OM, Genco RJ. Assessment of risk for periodontal disease. I. Risk indicators for attachment loss. **Journal of Periodontology** 1994; 65: 260-267.

Haffajee AD, Socranky SS, Goodson SM. Clinical parameters as predictors of destructive periodontal diseases activity. **J Clin Periodontol** 1983; 10: 257-265.

Haffajee AD, Dzink JL, Socransky SS. Effect of modified Widman flap surgery and systemic tetracycline on the subgingival microbiota of periodontal lesions. **J Clin Periodontol** 1988a; 15, 255-262.

Haffajee AD, Socransky SS, Ebersole JL, Smith DJ. Clinical, microbiological and immunological features associated with the treatment of active periodontosis lesions. **J Clin Periodontol** 1984; 11, 600-618.

Hamp S Lundstrom,F.;Nyman,S. Periodontal conditions in adolescents subjected to multiband orthodontic treatment with controlled oral hygiene. **Europ.J.Orthod.** 1982; 4: 77-86.

Harris, EF, Baker WC. Loss of rot length and crestal bone height before end during treatment in adolescent and adult orthodontic patients. **Am. J. Orthod. Dentofac.Orthop.** 1990; 98: 5, 463-469.

Huser MC, Baehni PC, Lang R. Effects of orthodontic bands on microbiologic and clinical parameters. **Am J Orthod Dentofacial Orthop** 1990;97:213-218.

Kokkevoid PR. Oral malodor: a periodontal perspective. **J Calif Dent Assoc** 1997; v.25: p. 153-159.

Lai CH, Listgarten MA, Shirakawa, M, Slot, J. *Bacteroides forsythus* in adult gingivitis and periodontitis. **Oral Microbiology and Immunology** 1987; 2: 152-157.

Lamont, R.J., Oda, D. Persson, R.E. & Persson, G.R Interaction of Porphyromonas gingivalis with gingival epithelial cells maintained in culture. **Oral Microbiology and Immunology** 1992, 7: 364-367.

Lascaia,CE., Belluzzo,RHL, Lascaia Junior N.T. Procedimentos de movimentação e higiene bucal em pacientes sob tratamento ortodôntico objetivando a saúde periodontal. **Periodontia**, 1996; dez: p.324-327.

Lindhe J, Karring T, Lang NP. **Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral**. 2003 4ª edição Guanabara-Koogan 105-136.

Lindhe J, Haffajee AD, Socransky SS. Progression of Periodontal disease in adult subjects in the absence of periodontal therapy. **J Clin Periodontol**, 1983; 10: 433-442.

Listgarten MA, Helldén L. Relative distribution of bacteria at clinically healthy and periodontally diseased sites in humans. **J Clin Periodontol**; 1978; 5:115-132.

Listgarten MA, Lai,CH, Young V. Microbial composition and pattern of antibiotic resistance in subgingival microbial samples from patients with refractory periodontitis. **Journal of Periodontology** 1993; 64:155-161.

Listgarten MA, Schifter C. Differential dark-field microscopy of subgingival bacteria as an aid in selecting recall intervals: Results after 18 months. **J Clin Periodontol**; 1982; 9:305-316.

Løe H, Silness J. Periodontal disease in pregnancy I: Prevalence and severity. **Acta Odontol Scand** 1963; 21:533-551.

Løe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental gingivitis in man. **Journal of Periodontology**, 1965; 36: 177-187.

Loesche WJ, Syed, S, Laughon BE, Stoll J. The bacteriology of acute necrotizing ulcerative gingivitis. **Journal of Periodontology** 1982; 53:223-230.

Loesche, W.J., Syed, S.A., Schmidt, E. & Morrison, E.C. Bacterial profiles of subgingival plaques in periodontitis. **Journal of Periodontology** 1985, 56: 447-456.

Loesche WJ. The effects of antimicrobial mouthrinses on oral molodor and their status relative to US food and drug administration. **Quintessence International** 1999; 30: 311-318.

Lotufo REM et al. Prevalence of subgingival periodontopathic bacteria and herpes viruses in remote native brazilian population. **J.Dent. Res.** 1988; 77: abs.833.

Mahamonda R, Seymour G.J, Powell LW, Good MF, Halliday JW. Effect of initial treatment of chronic inflammatory periodontal disease on the frequency of peripheral blood T-lymphocytes specific to periodontopathic bacteria. **Oral Microbiology and Immunology** 1991; 6: 221-227.

Meskin, L H. A breath of fresh air. **J Am Dent Assoc**, 1996; 127, 1282-1286

Miyazaki H, Sakao S, Takehara T. Correlation between volatile sulphur compounds and certain oral health measurements in the general population. **J.Periodontol**, 1995; 6: 679-684.

Miyazaki H, Sakao S, Tadamichi T. Oral malodor in general population of Japan. In **Rosenberg M, ed Bad breath: research perspectives**. Tel Aviv: Ramot Pulishing, 1996; 5: 119-136.

Moore WEC, Holdeman LV, Cato E.P, Smibert RM, Burmeister JA, Palcanis, KG., Ranney RR. Comparative bacteriology of juvenile periodontitis. **Infection and Immunity** 1985; 48: 507-519.

Moore, W.E.C. Microbiology of periodontal disease. **Journal of Periodontal Research** 1987, 22: 335-341

Morita M ; Wang HL. Association between oral malodor and adult periodontitis: a review. **Journal of Clinical Periodontology**, 2001; 19: 578-582.

Müller HP, Flores DE, Jacoby L. Zusammensetzung der subgingivalen Mundflora bei Trägern festsitzender kieferorthopädischer Geräte. **Deutsche Zahnärztliche Zeitschrift**; 1982; 37:855-860.

Mullis K B ; Falaoona F. Specific synthesis of DNA *in vitro* via a polymerase-catalysed chain reaction. **Methods Enzymol.** 1987; 155: 335-350.

Newman MG, Socransky SS. Predominant cultivable microbiota in periodontitis. **J Periodont Res**, 1977; 12: 120-128.

Nixon K. Periodontal aspects of orthodontic therapy. **Aust Orthod J.** 1977; 4: 137-145.

Oliver WW, Wherry WB. Notes on some bacterial parasites of the human mucous membranes. **Journal of Infectious Diseases** 1921; 8: 341-345.

Paolantonio M. et al. Occurrence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in patients wearing orthodontic appliance, a cross –sectional study. **J.Clin.Periodontol.** 1966; 23: 112-118.

Persson S. Hydrogen sulfide and methyl mercaptan in periodontal pockets. **Oral Microbiology and Immunology** 1992; 7: 378-379.

Quirynem M, Eldere J, Pauwels M, Bolle CML. In vitro volatile sulfur compound production of oral bacteria in different culture media. **Quint Int** 1999; 30: 351-356.

Quirynem M, Mongardini C, Vansteenbergh D. The effect of a 1-stage full-mouth disinfection on oral malodor and microbial colonization of the tongue in periodontitis. A pilot study. **Journal of Periodontology**, 1998; 69: 374-382.

Ratcliff PA. ; Johson PW. The relationship between oral malodor, gingivitis and periodontites. A Review. **Jornal of Periodontology**,1999; v. 70: 485-489.

Rodenburg JP, Van Winkelhoff, AJ, Winkel EG, Goene RJ, Abbas F, De Graff J. Occurrence of *Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides intermedius* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in severe periodontitis in relation to age and treatment history. **Journal of Clinical Periodontology** 1990, 17: 392-299.

Sallum EJ. Avaliação clínica e microbiológica das condições periodontais associadas ao uso de aparelhos ortodônticos fixos. **Tese de Mestrado** apresentada na Faculdade de Odontologia de Piracicaba / UNICAMP. 2002.

Sallum, EJ, Nouer DF, Klein, MI, Gonçalves RB, Machion L, Sallum AW, Sallum,EA. Clinical and microbiologic changes after removal of orthodontic appliances **Am J Orthod Dentofacial Orthod**, 2004; 126: 363-366.

Saxe SR, Greene, JC, Bohannon HM, & Vermillion JR. Oral debris calculus and periodontal disease in the beagle dog. **Periodontics** 1967; 51: 217-224.

Schei O, Waerhaug J, Lovdal, A, Arno A. Alveolar bone loss as relate to oral hygiene and age. **Journal of Periodontology** 1959; 30: 7-16.

Silness J, Løe H. Periodontal disease in pregnancy II. Correlative between oral hygiene and periodontal conditions. **Acta Odont. Scand.** 1964; 22: 121-35.

Slots J ; Rosling BG. Suppression of the periodontopathic microflora in localized juvenile periodontitis by systemic tetracycline. **Journal of Clinical Periodontology**, 1983; 10: 465-486.

Slots J ; Listgasten MA. *Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides intermedius* and *actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal diseases. **J. Clin Periodontal** 1988; 15: 85-89.

Slots J, Feik D ; Rams, TE. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Bacteroides intermedius* in human periodontitis: age relationship and mutual association. **Journal of Clinical Periodontology** 1990a; 17: 659-662.

Scully C, El-Maaytah M, Porter SR, Greenman J. Breathodor: etiopathogenesis, assessment and management. **EurJ Oral Sci** 1997; 105: 287–293.

Sharpe, W. et al. Orthodontic relapse apical root resorption and cresta alveolar bone levels. **Am. J.Orthod. dentofac.Orthop.** 1987; 91: 3, 252-258.

Socransky SS ; Gibbons RJ. Required role of *Bacteroides melaninogenicus* mixed anaerobic infections. **Journal of Infections Diseases** 1965; 115: 247-253.

Socransky SS ; Haffajee. AD. Microbial mechanisms in the pathogeneses of destrutive periodontal diseases: a critical assessment. **Journal of Periodontal Research** 1991; 26: 195-212.

Socransky SS ; Haffajee AD, Dzink, JL. Relationship of subgingival microbial complexes to clinical features at the sampled sites. **Journal of Clinical Periodontology** 1988; 15: 440-444.

Socransky SS ; Haffajee AD Evidence of bacterial etiology: a historical perspective. In Socransky SS & Hafajee AD eds. Microbiology and immunology of periodontal disease. **Periodontology 2000 –1994**; 5: 7-25.

Socransky SS ; Haffajee AD. The bacterial etiology of destructive periodontal Disease: Current Concepts. **Journal of Periodontology** 1992; 63: 322-331.

Soder B, Johansson B, Soder PO. The relation between factor ex ore, oral hygiene and periodontal disease. **Sweden Dental Journal** 2000; 24: 73-82.

Tanner ACR, Haffer C, Bratthall GT, Visconti RA, Socransky SS. A study of the bacteria associated with advancing periodontitis in man. **Journal of Clinical Periodontology** 1979; 6: 278-307..

Taubman MA, Haffajee AD, Socransky SS, Smith DJ, Ebersole JL. Longitudinal monitoring of humoral antibody in subjects with destructive periodontal diseases. **Journal of Periodontal Research**, 1992; 27: 511-521.

Tarzia O. Halitose: etiologia, diagnóstico e tratamento. **Biodonto**, 2004, 1:(2) 9-110.

Tejedor S ; Sears SB. Observation on the clinical effects of orthodontics on the periodontium. **J. West.Soc.Periodont**, 1972; 20: N.3, 93-101.

Tersin J. Studies of gingival conditions in relation to orthodontic treatment. II. Changes in amounts of gingival exudates in relation to orthodontic treatment. **Swed Dental J**. 1975; 68: 201-210.

Tersin J. Studies of gingival conditions in relation to orthodontic treatment. III. The effect of oral hygiene measures on the amounts of gingival exudate during and after orthodontic treatment. **Swed Dental J**. 1976; 69: 109-114.

Tonzetich J & Richer VJ.. Evaluation of volatile odoriferous of saliva. **Arch Oral Biol** 1964; .9: 39-45.

Tonzetich J. Direct gas chromatographic analysis of sulphur compounds in mouth air in man. **Arch Oral Biol** . 1971; 16: 587-597.

Tonzetich J. Oral maodour: An indicator of helath status and oral cleanliness. **Int Dent J**, 1973, 28: 309-319.

Tonzetich J. Production and origin of oral malodor: a review of mechanisms and metods of analysis.**J. Periodontol**. 1977, 48: 13-20.

Tonzetich J, Yaegaki K, Coil JM. Collagen metabolism by fibroblasts cultures in presence of methyl mercaptan. **J.Dent Res**.1986; 64 (Spec.Issue), 786(Abstr.543).

Van Winkelhoff, A.J., van der Velden, U. & de Graaff, J. Microbial succession in recolonizing deep periodontal pockets after a single course of supra-and subgingival debridement. **Journal of Clinical Periodontology** 1988,15: 116-122.

Van Winkelhoff, AJ, Tjihof, CJ, De Graaff, J. Microbiological and clinical results of metronidazole plus amoxicillin therapy in Actinobacillus actinomycetemcomitans-associated periodontitis. **Journal of Periodontology** 1992; 63: 52-57.

Wyss, C. (1989). Dependence of proliferation of Bacteroides forsythus on exogenous N-acetylmuramic acid. **Infection and Immunity** 1989, 57: 1757-1759.

Urquhart E ; Addy M. The chemical control of plaque. **Dent. Health** London 1991; 30: (4), 12-13.

Uetanabaro T.; Martins JEF. Acúmulo de placa bacteriana em pacientes portadores de colagem e anéis convencionais. **RGO** Porto Alegre, 1984; 32:(2), 261-266.

Wolffe,GN, Spanaud,AJ, Renggi,HH. The importance of a coordinated restorative and maintenance program following periodontal therapy: a case report. **Quintessence Int.**1991; 22:(4), 267-275.

Yaegaki K.; Sanda K. Volatile sulfur compounds in mouth air from clinically healthy subjects and patients with periodontal disease. **J.Periodont.Res.** 1992; 27: 233-238.

Yaegaki K. Oral malodour and periodontal disease. **in Bad Breath: Research Perspective**, ed Rosenberg,M.1995; 71-86. Tel Aviv: Ramot.

Yeung SC, Howll,S, Fahery P. Oral hygiene program for orthodontic patients. **Am. J.Dentofacial Orthop.** 1989; 96:(3) 208-213.

Zachrisson, BU. Clinical implications of recent ortho-perio research findings. In HOST,E. et al. **Orthodontics and Periodontics.**1985; Chicago: Quintessence Publ.169-186.

Zachrisson BU.. Cause and prevention of injuries to teeth and supporting structures during orthodontic treatment. **Am J Orthod**; 1976; 69:285-300.

Zachrisson BU.,Alnaes,L. Periodontal condition in orthodontically treated and untreated individuals II.alveolar bone loss. Radiographic findings. **Angle Orthod.** 1974; 44: 48-55.

Zachrisson S, Zachrisson BU. Gingival condition associated with orthodontic treatment. **Angle Orthod.** 1972; 42:26-34.

Zadeh HH, Nichols FC, Miyasaki KT. The role of the cell-mediated immune response to *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in periodontitis. **Periodontology 2000** 1999; 20:239-88.

Zambon JJ, Slots J, Genco, RJ. Serology of oral *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and serotype distribution in human periodontal disease. **Infection and Immunity** 1983; 41, 19-27.

De acordo com a norma da UNICAMP/FOP, baseada no modelo Vancouver.
Abreviatura dos periódicos em conformidade com o Medline.

ANEXOS

Consentimento formal para participação em pesquisa clínica:

Por este instrumento particular declaro, para efeitos éticos e legais, que eu, _____,
_____ (nacionalidade), _____ (profissão),
portador do RG _____, CIC _____,
residente à _____, na
cidade de _____, Estado _____,
concordo com absoluta consciência dos procedimentos a que vou me submeter
para a realização deste trabalho, nos termos relacionados nas disposições
anteriores. Esclareço ainda que este consentimento não exime a responsabilidade
do profissional que executará os procedimentos clínicos.

Por estar de acordo com o teor do presente termo, assino abaixo o
mesmo.

Piracicaba, _____ de _____ de 2006.

Assinatura do Paciente

ATENÇÃO: A sua participação em qualquer tipo de pesquisa é
voluntária. Em caso de dúvida quanto aos seus direitos, escreva para
o Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP.

Pesquisa vinculada a área de Radiologia Odontológica.

Endereço: Av. Limeira, 901 - CEP – 13 414 – 900 - Piracicaba SP.

Tel/Fax-CEP (0xx19) 3412-5349 .

E-mail: cep@fop.unicamp.br.

Site: <http://www.fop.unicamp.br/cep>



COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



CERTIFICADO

O Comitê de Ética em Pesquisa da FOP-UNICAMP certifica que o projeto de pesquisa "Avaliação clínica e microbiológica da remoção temporária do arco no restabelecimento da saúde bucal em pacientes com aparelho fixo ortodôntico", protocolo nº 077/2005, dos pesquisadores **EMERSON JOSÉ SALLUM e DARCY FLAVIO NOUER**, satisfaz as exigências do Conselho Nacional de Saúde – Ministério da Saúde para as pesquisas em seres humanos e foi aprovado por este comitê em 28/10/2005.

The Research Ethics Committee of the School of Dentistry of Piracicaba - State University of Campinas, certify that project "Clinical and microbiological evaluation of the impact of temporary arch removal in the periodontal condition of patients with fixed orthodontic appliances", register number 077/2005, of **EMERSON JOSÉ SALLUM and DARCY FLAVIO NOUER**, comply with the recommendations of the National Health Council – Ministry of Health of Brazil for researching in human subjects and was approved by this committee at 28/10/2005.

Cynthia Pereira Machado Tabchoury
Cynthia Pereira Machado Tabchoury

Secretária
CEP/FOP/UNICAMP

Jacks Jorge Júnior
Jacks Jorge Júnior
Coordenador
CEP/FOP/UNICAMP

Nota: O título do protocolo aparece como fornecido pelos pesquisadores, sem qualquer edição.
Notice: The title of the project appears as provided by the authors, without editing.

COMPOSTOS VOLATÉIS SULFURADOS (CSV-pbb)

| PACIENTES | INICIAL | REMOÇÃO DO ARCO MAIS FIO DENTAL | DIFERENÇA INICIAL COM REMOÇÃO DO ARCO E FIO | FINAL | DIFERENÇA INICIAL E FINAL |
|--------------|----------------|------------------------------------|---|---------------|--------------------------------------|
| Paciente -1 | 242 | 115 | 127 | 87 | 155 |
| Paciente -2 | 388 | 264 | 124 | 134 | 254 |
| Paciente -3 | 268 | 201 | 67 | 118 | 150 |
| Paciente -4 | 389 | 245 | 144 | 178 | 211 |
| Paciente -5 | 262 | 131 | 131 | 68 | 194 |
| Paciente -6 | 266 | 121 | 145 | 75 | 191 |
| Paciente -7 | 213 | 101 | 112 | 72 | 141 |
| Paciente -8 | 391 | 278 | 113 | 165 | 226 |
| Paciente -9 | 435 | 251 | 184 | 127 | 308 |
| Paciente -10 | 408 | 302 | 106 | 118 | 290 |
| Paciente -11 | 395 | 269 | 126 | 98 | 297 |
| Paciente -12 | 288 | 185 | 103 | 96 | 192 |
| Paciente -13 | 342 | 223 | 119 | 142 | 200 |
| Paciente -14 | 421 | 305 | 116 | 137 | 284 |
| Paciente -15 | 389 | 268 | 121 | 108 | 281 |
| Paciente -16 | 598 | 382 | 216 | 169 | 429 |
| | | | | | |
| | INICIAL | REMOÇÃO DO ARCO | DIFERENÇA INICIAL | FINAL | DIFERENÇA INICIAL E FINAL |
| TOTAL | 5695 | 3641 | 2054 | 1892 | 3803 |
| | INICIAL | REMOÇÃO DO ARCO | DIFERENÇA INICIAL | FINAL | DIFERENÇA INICIAL E FINAL |
| MÉDIA | 355,93 | 227,56 | 128,37 | 118,25 | 237,68 |
| | 100% | 63,93% | 36,06% | 33,22% | 66,77% |

A diferença dos compostos voláteis sulfurados entre a média inicial e após a remoção do arco e o uso do fio dental é 36,06% e média final é 66,77%.

| PROFUNDIDADE DE SONDAGEM INICIAL | | | | | | | | |
|----------------------------------|-------|------------|---------|--------|--------|-------|--------------|-------------|
| | DENTE | VESTIBULAR | LINGUAL | MESIAL | DISTAL | MÉDIA | | MÉDIA GERAL |
| PACIENTE 1 | 11 | 1,50 | 2,00 | 2,50 | 2,00 | 2,00 | | |
| | 31 | 2,00 | 2,50 | 2,00 | 2,50 | 2,25 | | |
| | 16 | 2,00 | 2,00 | 2,50 | 2,50 | 2,25 | | |
| | 36 | 2,00 | 2,50 | 2,50 | 2,50 | 2,37 | | |
| | | | | | | | 8,87 | 2,21 |
| PACIENTE 2 | 11 | 2,00 | 2,00 | 2,50 | 2,50 | 2,25 | | |
| | 31 | 2,50 | 2,00 | 3,00 | 3,00 | 2,62 | | |
| | 16 | 2,50 | 2,00 | 3,00 | 2,50 | 2,50 | | |
| | 36 | 2,50 | 2,50 | 2,00 | 3,00 | 2,50 | | |
| | | | | | | | 9,87 | 2,46 |
| PACIENTE 3 | 11 | 1,50 | 1,50 | 2,00 | 2,50 | 1,87 | | |
| | 31 | 2,00 | 2,50 | 3,00 | 2,50 | 2,50 | | |
| | 16 | 2,50 | 3,00 | 2,00 | 2,00 | 2,37 | | |
| | 36 | 2,50 | 2,00 | 3,00 | 3,00 | 2,62 | | |
| | | | | | | | 9,36 | 2,34 |
| PACIENTE 4 | 11 | 2,50 | 2,00 | 3,00 | 3,00 | 2,62 | | |
| | 31 | 2,50 | 2,50 | 3,00 | 3,00 | 2,75 | | |
| | 16 | 3,00 | 2,50 | 3,50 | 4,00 | 3,25 | | |
| | 36 | 3,00 | 3,00 | 4,00 | 3,50 | 3,37 | | |
| | | | | | | | 11,99 | 2,99 |
| PACIENTE 5 | 11 | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,00 | | |
| | 31 | 2,00 | 2,50 | 2,50 | 2,00 | 2,25 | | |
| | 16 | 2,00 | 2,50 | 2,50 | 3,00 | 2,50 | | |
| | 36 | 2,50 | 2,50 | 3,00 | 2,50 | 2,62 | | |
| | | | | | | | 9,37 | 2,34 |
| PACIENTE 6 | 11 | 1,50 | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 1,87 | | |
| | 31 | 2,00 | 2,50 | 2,50 | 2,50 | 2,37 | | |
| | 16 | 2,00 | 2,00 | 3,00 | 2,50 | 2,37 | | |
| | 36 | 2,50 | 2,00 | 2,50 | 2,50 | 2,37 | | |
| | | | | | | | 8,98 | 2,24 |
| PACIENTE 7 | 11 | 1,50 | 1,50 | 2,00 | 1,50 | 1,62 | | |
| | 31 | 2,00 | 1,50 | 2,50 | 2,50 | 2,12 | | |
| | 16 | 2,00 | 2,00 | 3,00 | 2,50 | 2,37 | | |
| | 36 | 3,00 | 2,50 | 3,00 | 3,00 | 2,87 | | |
| | | | | | | | 8,98 | 2,24 |

| | | | | | | | | |
|----------------|----|------|------|------|------|------|--------------|-------------|
| PACIENTE 8 | 11 | 2,00 | 2,00 | 3,00 | 2,50 | 2,37 | | |
| | 31 | 2,50 | 2,00 | 3,00 | 3,00 | 2,62 | | |
| | 16 | 2,50 | 2,00 | 3,00 | 3,00 | 2,62 | | |
| | 36 | 3,00 | 2,50 | 3,50 | 3,00 | 3,00 | | |
| | | | | | | | 10,61 | 2,65 |
| PACIENTE 9 | 11 | 2,00 | 2,00 | 2,00 | 2,50 | 2,12 | | |
| | 31 | 2,50 | 2,00 | 2,50 | 3,00 | 2,50 | | |
| | 16 | 3,00 | 2,50 | 3,00 | 3,50 | 3,00 | | |
| | 36 | 3,00 | 3,00 | 3,50 | 3,50 | 3,25 | | |
| | | | | | | | 10,87 | 2,71 |
| PACIENTE 10 | 11 | 2,50 | 2,50 | 3,00 | 2,50 | 2,62 | | |
| | 31 | 2,50 | 2,00 | 2,50 | 2,50 | 2,37 | | |
| | 16 | 3,00 | 3,00 | 3,50 | 3,00 | 3,12 | | |
| | 36 | 3,50 | 3,00 | 3,50 | 3,50 | 3,37 | | |
| | | | | | | | 11,48 | 2,87 |
| PACIENTE 11 | 11 | 2,00 | 2,50 | 2,50 | 2,00 | 2,25 | | |
| | 31 | 3,00 | 2,50 | 3,00 | 3,00 | 2,87 | | |
| | 16 | 3,00 | 3,50 | 3,50 | 3,50 | 3,37 | | |
| | 36 | 3,50 | 3,50 | 3,50 | 3,50 | 3,50 | | |
| | | | | | | | 11,99 | 2,99 |
| PACIENTE 12 | 11 | 2,50 | 2,50 | 2,00 | 2,50 | 2,37 | | |
| | 31 | 2,50 | 2,50 | 3,00 | 2,50 | 2,62 | | |
| | 16 | 2,50 | 2,50 | 3,00 | 3,00 | 2,75 | | |
| | 36 | 3,00 | 2,50 | 3,50 | 3,00 | 3,00 | | |
| | | | | | | | 10,74 | 2,68 |
| PACIENTE 13 | 11 | 2,00 | 2,00 | 2,50 | 2,50 | 2,25 | | |
| | 31 | 3,00 | 3,50 | 3,50 | 3,50 | 3,37 | | |
| | 16 | 3,00 | 3,00 | 3,50 | 3,50 | 3,25 | | |
| | 36 | 3,50 | 3,00 | 3,50 | 4,00 | 3,50 | | |
| | | | | | | | 12,37 | 3,09 |
| PACIENTE 14 | 11 | 2,00 | 2,00 | 2,50 | 2,50 | 2,25 | | |
| | 31 | 3,50 | 3,00 | 3,50 | 3,50 | 3,37 | | |
| | 16 | 3,50 | 3,50 | 4,00 | 3,50 | 3,50 | | |
| | 36 | 3,00 | 3,00 | 3,50 | 4,00 | 3,37 | | |
| | | | | | | | 12,49 | 3,12 |
| PACIENTE 15 | 11 | 3,00 | 2,50 | 3,50 | 4,00 | 3,25 | | |
| | 31 | 3,00 | 3,00 | 3,00 | 3,50 | 3,12 | | |
| | 16 | 4,00 | 3,50 | 4,00 | 3,50 | 3,75 | | |
| | 36 | 3,50 | 3,00 | 4,00 | 4,00 | 3,62 | | |
| | | | | | | | 13,74 | 3,43 |

| | | | | | | | | |
|----------------|----|-------------------|----------------|---------------|---------------|--------------|-------|------------------------|
| PACIENTE 16 | 11 | 3,00 | 3,00 | 3,50 | 4,00 | 3,37 | | |
| | 31 | 3,50 | 3,50 | 4,00 | 4,00 | 3,75 | | |
| | 16 | 3,00 | 3,00 | 4,00 | 3,50 | 3,37 | | |
| | 36 | 3,50 | 3,50 | 3,50 | 4,00 | 3,62 | | |
| | | | | | | | 14,11 | 3,52 |
| | | | | | | | | |
| | | VESTIBULAR | LINGUAL | MESIAL | DISTAL | MÉDIA | | SOMA |
| TOTAL | | 165,50 | 160,50 | 190,00 | 188,50 | 175,82 | | 43,88 |
| | | | | | | | | MÉDIA GERAL |
| MÉDIA | | | | | | | | 2,74 |
| | | VESTIBULAR | LINGUAL | MESIAL | DISTAL | MÉDIA | | |
| | | 2,58 | 2,50 | 2,96 | 2,94 | 2,74 | | |