

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

MESTRADO EM CLÍNICA INTEGRADA

AVALIAÇÃO DA CONDIÇÃO GENGIVAL E MICROBIOLÓGICA  
SUBGENGIVAL DE PACIENTES SADIOS PERIODONTALMENTE  
SUBMETIDOS A TRATAMENTO ORTODÔNTICO

Recife – PE

2011

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

MESTRADO EM CLÍNICA INTEGRADA

RANDERSON MENEZES CARDOSO

AVALIAÇÃO DA CONDIÇÃO GENGIVAL E MICROBIOLÓGICA  
SUBGENGIVAL DE PACIENTES SADIOS PERIODONTALMENTE  
SUBMETIDOS A TRATAMENTO ORTODÔNTICO

Dissertação apresentada ao Colegiado da Pós-Graduação em  
Clínica Integrada do Centro de Ciências da Saúde da  
Universidade Federal de Pernambuco, como requisito parcial  
para obtenção do grau de mestre em Clínica Odontológica  
Integrada.

Orientadora: Profa. Dra. Renata Cimões Jovino Silveira

Co-orientador: Prof. Dr. Paulo.R.E. Souza

Recife –PE

2011

Cardoso, Randerson Menezes

Avaliação da condição gengival e microbiológica subgengival de pacientes sadios periodontalmente submetidos a tratamento ortodôntico / Randson Menezes Cardoso. – Recife: O Autor, 2011.

32 folhas: il., fig., quadros.; 30 cm.

Orientador: Renata Cimões Jovino Silveira

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco. CCS. Odontologia, 2011.

Inclui bibliografia e anexos.

1. Ortodontia corretiva. 2. Periodontia. 3. Microbiologia. I. Silveira, Renata Cimões Jovino. II. Título.

UFPE

617.64

CDD (20.ed.) CCS2011-184

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Dr. Amaro Henrique Pessoa Lins

VICE-REITOR

Prof. Dr. Gilson Edmar Gonçalves e Silva

PRÓ-REITOR DA PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Dr. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

DIRETOR

Prof. Dr. José Thadeu Pinheiro

COORDENADOR DA PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

Profa. Dra. Jurema Freire Lisboa de Castro

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

MESTRADO EM CLÍNICA ODONTOLÓGICA INTEGRADA

COLEGIADO

Profa. Dra. Alessandra Albuquerque T. Carvalho

Prof. Dr. Arnaldo de França Caldas Júnior

Prof. Dr. Anderson Stevens Leônidas Gomes

Prof. Dr. Carlos Menezes Aguiar

Prof. Dr. Cláudio Heliomar Vicente da Silva

Prof. Dr. Danyel Elias da Cruz Perez

Prof. Dr. Edvaldo Rodrigues de Almeida

Profa. Dra. Flávia Maria de Moraes Ramos Perez

Prof. Dr. Geraldo Bosco Lindoso Couto

Prof. Dr. Jair Carneiro Leão

Profa. Dra. Jurema Freire Lisboa de Castro

Profa. Dra. Liriane Baratella Evêncio

Profa. Dra. Lúcia Carneiro de Souza Beatrice

Prof. Dr. Luiz Alcino Monteiro Gueiros

Profa. Dra. Renata Cimões Jovino Silveira

SECRETARIA

Oziclere de Araújo Sena

TÍTULO DO TRABALHO: AVALIAÇÃO DA CONDIÇÃO GENGIVAL E  
MICROBIOLÓGICA SUBGENGIVAL DE PACIENTES SADIOS  
PERIODONTALMENTE SUBMETIDOS A TRATAMENTO ORTODÔNTICO

NOME DO ALUNO: RANDERSON MENEZES CARDOSO

DISSERTAÇÃO APROVADA EM: 26/08/2011

MEMBROS DA BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. ARNALDO DE FRANÇA CALDAS JÚNIOR

Prof. Dr. DANYEL ELIAS DA CRUZ PEREZ

Profª. Dra. CÁTIA MARIA FONSECA GUERRA

Recife –PE

2011

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha família que sempre me apoiou, esteve presente e acreditou em meu potencial, me incentivando na busca de novas realizações.

## EPÍGRAFE

"Todo o futuro da nossa espécie, todo o governo das sociedades, toda a prosperidade moral e material das nações dependem da ciência, como a vida do homem depende do ar. Ora, a ciência é toda observação, toda exatidão, toda verificação experimental. Perceber os fenômenos, discernir as relações, comparar as analogias e as dessemelhanças, classificar as realidades, e induzir as leis, eis a ciência; eis, portanto, o alvo que a educação deve ter em mira. Espertar na inteligência nascente as faculdades cujo concurso se requer nesses processos de descobrir e assimilar a verdade."

Rui Barbosa.

## AGRADECIMENTOS

À minha Família, em especial ao meu pai Reilton, a minha mãe Livaneide e minha esposa Danielle pelo apoio e incentivo proporcionado para que este sonho pudesse ser realizado.

À Profa. Renata Cimões, pela orientação deste trabalho.

Por final, a aquele, que me permitiu tudo ao longo de toda a minha vida. A você meu DEUS, muito obrigado.

.

## RESUMO

**Objetivo:** Avaliar a condição gengival e a presença na microbiota subgengival das bactérias *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*Aa*) e *Tannerella forsythia* (*Tf*) em pacientes periodontalmente saudáveis submetidos a tratamento ortodôntico com aparelho fixo.

**Material e Métodos:** Vinte pacientes foram distribuídos em dois grupos (n=10) de acordo com a necessidade de tratamento ortodôntico (Grupo Teste = apresentavam má oclusão e receberam tratamento ortodôntico; Grupo Controle = sem má oclusão e não receberam tratamento ortodôntico). Amostras microbiológicas foram coletadas com 0, 90 e 180 dias em quatro sítios pré-estabelecidos: primeiro molar superior direito, primeiro molar inferior esquerdo, incisivo central superior direito e incisivo central inferior esquerdo. O DNA foi extraído para detecção dos patógenos periodontais *Aa* e *Tf* utilizando a técnica da Reação em Cadeia Polimerase. O índice de placa e sangramento gengival também foram registrados nos referidos intervalos de tempo.

**Resultados:** As médias do índice de placa reduziram no grupo Teste e no grupo Controle. Quanto à presença de cada uma das bactérias, se destaca que aos 90 e aos 180 dias foi observada a presença no grupo Teste de *Aa*, aos 90 dias foi observada a presença de *Tf* no grupo Teste e no grupo Controle.

**Conclusão:** Concluiu-se que a terapia ortodôntica fixa promoveu a presença dos periodontopatógenos estudados e não aumentou o índice de sangramento gengival e o índice de placa.

**Palavras Chaves:** Ortodontia Corretiva; Periodontia; Microbiologia.

## EVALUATION OF STATUS AND GINGIVAL SUBGINGIVAL MICROBIAL OF PERIODONTALLY HEALTHY PATIENTS UNDERGOING TREATMENT ORTHODONTIC

### ABSTRACT

**Objective:** To evaluate the gingival condition and the presence of bacteria in the subgingival microbiota *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) and *Tannerella forsythia* (Tf) in periodontally healthy patients undergoing orthodontic treatment with fixed appliances.

**Material and Methods:** Twenty patients were divided into two groups (n = 10) according to the need for orthodontic treatment (Test Group = had received malocclusion and orthodontic treatment, Control Group = no malocclusion and received no orthodontic treatment). Microbiological samples were collected at 0, 90 and 180 days in pre-established four sites: upper right first molar, lower left first molar, upper right central incisor and lower left central incisor. DNA was extracted for detection of periodontal pathogens Aa and Tf using the technique of Polymerase Chain Reaction. The plaque index and gingival bleeding were also recorded in these time intervals.

**Results:** The mean plaque index reduced the Test Group and Control Group. Regarding the presence of each of the bacteria, which stands at 90 and 180 days was observed in the presence of Aa Test Group at 90 days was observed the presence of Tf in the Test Group and Control Group.

**Conclusion:** We conclude that the fixed orthodontic therapy promoted the presence of periodontal pathogens studied and did not increase the bleeding index and plaque index.

Keywords: Corrective Orthodontics, Periodontics, Microbiology.

## SUMÁRIO

<b>Lista de Ilustrações.....</b>	<b>10</b>
<b>Introdução.....</b>	<b>11</b>
<b>Material e Método.....</b>	<b>13</b>
Participantes, exame clínico e amostras.....	13
Extração do DNA.....	16
Processamento através da técnica de PCR.....	16
Análise Estatística.....	18
<b>Resultado.....</b>	<b>18</b>
<b>Discussão.....</b>	<b>21</b>
<b>Conclusão.....</b>	<b>24</b>
<b>Referências.....</b>	<b>24</b>
<b>Anexos .....</b>	<b>30</b>

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Quadro 1 – Critérios de inclusão e exclusão usados para selecionar a amostra.....	14
Quadro 2 – Microorganismos e <i>primers</i> específicos para a PCR.....	17
Tabela 1 – Estatísticas do índice de placa e sangramento gengival por tempo de avaliação segundo o tempo.....	19
Tabela 2 – Avaliação das bactérias Tf e Aa por tempo de avaliação e grupo.....	19
Tabela 4 – Avaliação da presença de bactéria (Tf e/ou Aa) por tempo de avaliação segundo o grupo.....	20

## INTRODUÇÃO

Nas décadas passadas testemunhou-se um aumento gradual no número de pacientes que se submeteram a tratamento ortodôntico com aparelhos fixos. A maioria destes pacientes buscava a assistência para melhorar a estética dento-facial, em detrimento da minoria, que procurava o serviço por problemas funcionais<sup>1</sup>.

O aparelho ortodôntico pode influenciar na formação, maturação e quantidade do biofilme, devido ao aumento na energia livre de superfície produzido pela incorporação dos brackets e bandas nos elementos dentários e conseqüentemente promoção de alterações no periodonto<sup>1,2,3</sup>.

Estudos relatam que o aparelho ortodôntico influencia no aumento do acúmulo de placas, inflamação/sangramento gengival, e colonização de importantes bactérias periodontogênicas<sup>3-7</sup>.

Muitos microrganismos bucais são definidos como periodontopatógenos, mas um número reduzido de bactérias é responsável pela infecção dos tecidos periodontais. Estes poucos microrganismos pertencem às mais de 400 espécies de bactérias capazes de colonizar a cavidade bucal em seus mais variados locais. E, vários<sup>8,9,10</sup> estudos demonstraram que são estes microrganismos que apresentam capacidade de induzir o desenvolvimento de gengivites e periodontites em humanos. Especialmente nas periodontites, observa-se à associação das seguintes bactérias: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Eikenella corrodens*, *Tannerella forsythia*, *Fusobacterium nucleatum*, *Capnocytophaga spp*, *Peptostreptococcus micros*, *Campylobacter rectus*<sup>3,11-20</sup>. Apesar da associação de algumas bactérias com a doença, existem casos onde foi relatado a saúde periodontal na

presença dos referidos patógenos<sup>21</sup>.

Preocupado com os possíveis danos periodontais ocorridos durante a terapêutica ortodôntica com aparelhos fixos, Naranjo et al. (2006)<sup>22</sup> realizaram uma pesquisa com 30 pacientes saudáveis submetidos a tratamento ortodôntico para avaliar a influência do aparelho no acúmulo de placas e colonização de bactérias periodontopatológicas. Concluíram que a instalação dos brackets influenciaram no acúmulo de placas e colonização de importantes bactérias periodontopatológicas e proporcionaram uma super-infecção bacteriana, resultando em uma maior inflamação e sangramento

Lee et al. (2005)<sup>2</sup> objetivando detectar e comparar a presença de periodontopatógenos na placa subgingival de adultos que utilizavam aparelho ortodônticos fixos, realizaram uma pesquisa com 36 indivíduos, dezenove destes pacientes não utilizavam nenhum dispositivo ortodôntico, e estes compreendiam o grupo Controle. Outros 17 indivíduos apresentavam dispositivos ortodônticos fixos. As amostras foram colhidas e processadas utilizando a Reação em Cadeia Polimerase para detectar a presença de seis espécies periodontopatógenas: *Treponema denticola*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella nigrescens*, *Prevotella intermedia*, e *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Concluíram que a *T. forsythia*, *T. denticola*, e o *P. nigrescens* eram significativamente mais comuns nas amostras obtidas dos pacientes ortodônticos do que nas amostras obtidas dos pacientes do grupo Controle, não-ortodônticos.

Devido às alterações periodontais que o tratamento ortodôntico pode desencadear, vê-se necessário avaliar alterações no acúmulo de placa, sangramento gengival e as possíveis mudanças da microbiota subgingival de pacientes saudáveis periodontalmente submetidos a tratamento ortodôntico, levando em consideração a

presença da *Tannerella forsythia* (Tf) e do *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa).

## **MATERIAL E MÉTODO**

### *Participantes, exame clínico e amostras*

O presente estudo clínico aleatório não controlado obteve a aprovação junto ao Comitê de Ética em Pesquisa (CAAE – 0079.0.172.000-09), e foi realizado em um consultório privado, localizado em Recife, capital do estado de Pernambuco, Região nordeste do Brasil.

A amostra estudada foi constituída de 20 pacientes, alunos do curso de graduação em Odontologia, que procuraram atendimento ortodôntico no período de janeiro a junho de 2010, diagnosticados saudáveis periodontalmente<sup>1,23</sup> que se enquadravam nos critérios de inclusão e exclusão contidos na Tabela 1.

**Critérios de inclusão**

1. Idade igual ou superior a 18 anos;
2. Mínimo vinte e quatro dentes naturais;
3. Aceitar participar da pesquisa;

**Critérios de exclusão**

1. Profundidade a sondagem maior ou igual que 4 mm;
  2. Perda de inserção maior ou igual que 3 mm;
  3. Gengivite;
  4. Perda óssea observada radiograficamente;
  5. Alteração sistêmica;
  6. Fumar;
  7. Grávida ou lactente;
  8. Tratamento periodontal nos últimos 6 meses;
  9. Uso de antibióticos nos últimos seis meses, bem como durante o tratamento;
  10. Uso de anti-inflamatório de forma crônica;
  11. Coroas protéticas nos dentes avaliados;
  12. Uso de colutório;
  13. Aparelho ortodôntico;
  14. Lesão de cárie com cavitação;
  15. Problemas respiratórios (adenóide e amigdalite).
  16. Rinite;
  17. Sinusite crônica;
  18. Deformidades faciais;
  19. Oclusopatias moderadas e graves.
- 

Os pacientes selecionados foram distribuídos em dois grupos (n=10) de acordo com a necessidade de tratamento ortodôntico (Grupo Teste = pacientes que apresentavam maloclusão e receberam tratamento ortodôntico; Grupo Controle = pacientes sem maloclusão e não receberam tratamento ortodôntico). Todos alunos selecionados com maloclusão, apresentavam classe I de Angle com diastemas ou apinhamento menor que quatro mm.

Inicialmente foi avaliado Índice de Placa (Silness e Løe<sup>24</sup>) e sangramento gengival (Ainamo e Bay<sup>25</sup>) com auxílio de uma sonda periodontal milimetrada tipo PC-15 (Sonda da Universidade da Carolina do Norte, Trinity®). Após esses procedimentos, foi dado o início a coleta das amostras microbiológicas. A partir de então, o campo foi isolado relativamente com gaze estéril, sendo a matéria alba removida com pelotas de algodão estéril e posteriormente, seco com leve jato de ar. Cones de papel estéreis nº 30 (Dentsply, Petrópolis - Brasil) foram inseridos no interior do sulco gengival (médió-vestibular) e permaneceram no local por 30 segundos em quatro sítios pré-estabelecidos: primeiro molar superior direito, primeiro molar inferior esquerdo, incisivo central superior direito e incisivo central inferior esquerdo. Os cones de papel foram transportados para o mesmo tubo tipo *Eppendorf* e armazenados a -20°C para posterior extração de DNA e análise através da Reação em Cadeia Polimerase (PCR). O procedimento foi realizado para cada paciente do grupo Teste e Controle.

Amostras microbiológicas e os índices de placa e sangramento gengival foram coletados no mesmo dia antes da instalação do aparelho e repetidos com 90 e 180 dias para o grupo Teste (dois homens e oito mulheres) e realizados com 0, 90 e 180 dias para o grupo Controle (seis homens e quatro mulheres) pelo próprio pesquisador em ambiente de consultório com luz artificial e equipamentos de proteção individual.

Todos pacientes do grupo Teste receberam bandas com tubos soldados (Morelli, Sorocaba - Brasil) nos primeiros molares superiores e inferiores e brackets metálicos 0,022X0,030” Roth Standard (Morelli, Sorocaba - Brasil) nos incisivos, caninos e pré-molares superiores e inferiores de modo que os acessórios nem o material utilizado para fixação (resina e ionômero de vidro) não entrassem em contato com a gengiva ou sulco

gingival. Todos pacientes foram orientados e monitorados quanto a higienização durante todo o período avaliado.

#### *Extração do DNA*

Para a extração de DNA foi utilizada a matriz comercial de purificação kit QIAamp DNA investigator (Qiagen, Colônia - Alemanha), seguindo o protocolo determinado pelo fabricante.

#### *Processamento através da técnica de Reação de Cadeia Polimerase*

A reação de amplificação foi realizada com um volume total de 25µl contendo 1,3µl de MgCl<sub>2</sub> a 50mM (LGC Biotecnologia, Cotia - Brasil), 2,5µl de dNTP 2mM (LGC Biotecnologia, Cotia - Brasil), 1µl de cada *primer* inicializador e finalizador a 10 µM (Invitrogen®, São Paulo - Brasil), 2,5µl de 10x PCR tampão (LGC Biotecnologia, Cotia - Brasil), 0,2µl da Taq DNA polimerase a 5U/µl (LGC Biotecnologia, Cotia - Brasil), 11,5µl de água de injeção e 3µl de DNA da amostra. Em todas as reações de amplificação, foi utilizada uma reação da amplificação sem amostra de DNA como controle negativo para verificação da possibilidade de contaminação.

O termociclador (Biocycler, Hangzhou - China) foi programado da seguinte maneira: 1ª fase - “*hot start*” (94° C por 5 minutos); 2ª fase – dividida em três etapas e realizada por 30 ciclos – 1) desnaturação do DNA alvo por aquecimento (94°C por 30 segundos), 2) anelamento dos *primers* (temperatura de anelamento de acordo com cada *primer* utilizado por 30 segundos), 3) extensão (72° C por 30 segundos); e 3ª fase -

extensão final (72° C por 5 minutos). Os *primers* utilizados durante a PCR neste estudo foram espécie-específicos para a porção 16S rDNA, a seqüência utilizada foi de acordo com Ashimoto *et al.*<sup>26</sup>, e a temperatura de anelamento foi a mesma adotada por Ávila-Campos e Velásques<sup>21</sup> (Quadro 2).

Quadro 2 - Microorganismos e *primers* específicos para a PCR.

Microrganismo	Primer	Temperatura de anelamento da PCR	Extensão do amplicon (pb*)
<i>Aa</i>	F - GCT AAT ACC GCG TAG AGT CGG R - ATT TCA CAC CTC ACT TAA AGG T	50°C	557
<i>Tf</i>	F - GCG TAT GTA ACC TGC CCG CA R - TGC TTC AGT GTC AGT TAT ACC T	60° C	641

\*pb – pares de base.

Após essa etapa, 9,5µl dos produtos da PCR foram adicionados a 0,5 µl do corante fluorescente *blue green* (LGC Biotecnologia, Cotia - Brasil) e submetidos à eletroforese em gel de agarose a 1,5%. Posteriormente, as corridas de eletroforese foram visualizadas em luz ultravioleta e fotografadas para posterior análise. A massa molecular padrão 100 pb ladder (LGC Biotecnologia, Cotia - Brasil) foi incluída na corrida da eletroforese. Todas as amostras negativas para os patógenos pesquisados foram repetidas e confirmadas.

## *Análise Estatística*

A análise foi realizada em duas fases: descritiva e analítica. Para comparação dos dados intra-grupo e entre grupos foram utilizados média, desvio padrão e mediana (Técnicas de Estatística Descritiva); t-Student com variâncias iguais ou desiguais, F(ANOVA) com medidas repetidas com comparações LSD (Least significance differences) e teste Exato de Fisher (Técnicas de estatística inferencial).

O nível de significância utilizado na decisão dos testes estatísticos foi de 5,0%. Os dados foram digitados na planilha Excel e o “*software*” estatístico utilizado para a obtenção dos cálculos estatísticos foi o SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) na versão 15.

## **RESULTADOS**

Na Tabela 1 se apresenta as estatísticas do índice de placa e de sangramento gengival segundo o grupo e o tempo de avaliação quando foram considerados todos os dentes. As médias do índice de placa no grupo Teste reduziram de 1,17 no dia 0 para 1,06 com 180 dias, enquanto que no grupo Controle as médias reduziram de 1,06 para 1,01. Diferenças significativas entre os grupos foram verificadas na avaliação com 90 e 180 dias.

As médias do sangramento gengival variaram de 0,03 a 0,05 no grupo Teste e de 0,01 a 0,04 no grupo Controle e não se comprova diferença significativa entre os dois grupos no período avaliado. Entre as avaliações observa-se pequenas oscilações, sendo comprovada diferença significativa no grupo Controle entre 0 a 180 dias.

Tabela 1 – Estatísticas do índice de placa e sangramento gengival por tempo de avaliação segundo o grupo

Variável	Tempo de avaliação	Grupo		Valor de p
		Teste Média ± DP (Mediana)	Controle Média ± DP (Mediana)	
• Índice de placa	0 dia	1,17 ± 0,15 (1,14)	1,06 ± 0,07 (1,05) <sup>(A)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 0,050
	90 dias	1,13 ± 0,13 (1,07)	1,02 ± 0,03 (1,00) <sup>(AB)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 0,027*
	180 dias	1,06 ± 0,06 (1,05)	1,01 ± 0,02 (1,00) <sup>(B)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 0,032*
	<b>Valor de p</b>	<b>P<sup>(3)</sup> = 0,055</b>	<b>p<sup>(3)</sup> = 0,041*</b>	
• Sangramento Gengival	0 dia	0,03 ± 0,04 (0,02)	0,01 ± 0,02 (0,00) <sup>(A)</sup>	p <sup>(1)</sup> = 0,115
	90 dias	0,05 ± 0,05 (0,04)	0,04 ± 0,02 (0,04) <sup>(B)</sup>	p <sup>(2)</sup> = 0,358
	180 dias	0,03 ± 0,04 (0,04)	0,02 ± 0,02 (0,02) <sup>(AB)</sup>	p <sup>(2)</sup> = 0,276
	<b>Valor de p</b>	<b>P<sup>(3)</sup> = 0,389</b>	<b>p<sup>(3)</sup> = 0,025*</b>	

(\*): Diferença significativa ao nível de 5,0%.

(1): Através do teste t-Student com variâncias desiguais para comparação entre os grupos em cada avaliação.

(2): Através do teste t-Student com variâncias iguais para comparação entre os grupos em cada avaliação.

(3): Através do teste F(ANOVA) para medidas repetidas para a comparação entre as avaliações em cada grupo.

Obs.: Se todas as letras entre parênteses são distintas comprova-se diferença significante entre as avaliações correspondentes através das comparações pareadas de LSD.

Na Tabela 2 se analisa a presença de cada uma das bactérias segundo o grupo. Na avaliação com 0 dia nenhum paciente apresentou as bactérias Tf e Aa; com 90 dias foi observado a presença da bactéria Aa em três pacientes apenas no grupo Teste. Na avaliação com 180 dias se verifica a presença da bactéria Tf em dois pacientes em cada grupo, enquanto que a bactéria Aa estava presente em quatro pacientes do grupo Teste e ausente em todos os pacientes do grupo Controle.

Tabela 2 – Avaliação das bactérias Tf e Aa por tempo de avaliação e grupo

Tempo de avaliação	Bactéria	Grupo Teste		Controle		Valor de p
		N	%	N	%	
	<b>TOTAL</b>	<b>10</b>	<b>100,0</b>	<b>10</b>	<b>100,0</b>	
• 0 dia	Tf					
	Presente	-	-	-	-	**
	Ausente	10	100,0	10	100,0	
• 90 dias	Presente	-	-	-	-	**
	Ausente	10	100,0	10	100,0	
• 180 dias	Presente	2	20,0	2	20,0	p <sup>(1)</sup> = 1,000
	Ausente	8	80,0	8	80,0	

	<b>Aa</b>					
• 0 dia	Presente	-	-	-	-	**
	Ausente	10	100,0	10	100,0	
• 90 dias	Presente	3	30,0	-	-	p <sup>(1)</sup> = 0,211
	Ausente	7	70,0	10	100,0	
• 180 dias	Presente	4	40,0	-	-	p <sup>(1)</sup> = 0,087
	Ausente	6	60,0	10	100,0	

(1): Através do teste Exato de Fisher.

Na tabela 3 se observa a presença de bactéria (Tf e/ou Aa) por tempo de avaliação segundo o grupo, bem como o risco relativo. Na avaliação com 90 dias apenas três pacientes do grupo Teste apresentaram bactérias (Tf e/ou Aa); com 180 dias quatro pacientes do grupo Teste e dois pacientes do grupo Controle apresentaram bactérias (Tf e/ou Aa). O risco relativo com 180 dias para os pacientes do grupo Teste foi duas vezes maior comparando ao grupo controle, porém sem significância estatística.

Tabela 3 – Avaliação da presença de bactéria (Tf e/ou Aa) por tempo de avaliação segundo o grupo

Tempo de avaliação	Bactéria	Grupo Teste		Controle		Valor de p	RR (IC 95%)
		n	%	n	%		
	<b>TOTAL</b>	<b>10</b>	<b>100,0</b>	<b>10</b>	<b>100,0</b>		
• 0 dia	Presente	-	-	-	-	**	***
	Ausente	10	100,0	10	100,0		
• 90 dias	Presente	3	30,0	-	-	p <sup>(1)</sup> = 0,211	***
	Ausente	7	70,0	10	100,0		
• 180 dias	Presente	4	40,0	2	20,0	p <sup>(1)</sup> = 0,628	2,00 (0,47 a 8,56)
	Ausente	6	60,0	8	80,0		1,00

(\*\*): Não foi determinado devido à ocorrência de ausência de uma das categorias.

(\*\*): Não foi determinado devido à ocorrência de prevalência nula em um dos grupos.

(1): Através do teste Exato de Fisher.

## DISCUSSÃO

Vários estudos abordam a influência do aparelho ortodôntico na saúde bucal, principalmente ligados aos aspectos periodontais, como sangramento gengival, alteração no acúmulo de placa e presença de bactérias periodontopatógenas<sup>1,3,7,22,27-29,30</sup>.

O presente estudo teve como objetivo avaliar mudanças quanto a presença de inflamação gengival, placa e patógenos periodontais (*Aa* e *Tf*), que são conhecidamente associados à progressão e severidade da doença periodontal<sup>10,31</sup>, em uma amostra de pacientes sadios periodontalmente submetidos a tratamento ortodôntico com aparelho fixo.

Para o índice de placa, observou-se uma média maior no grupo de paciente que recebeu aparelho ortodôntico quando comparado ao grupo Controle. Este resultado ratifica a teoria de estudos<sup>3,22,32</sup> que afirmam a influência do aumento do índice de placa ao aumento da energia livre de superfície devido a incorporação dos brackts e bandas nos elementos dentários<sup>2</sup>. Analisando a média no intervalo de tempo avaliado, houve uma diminuição no índice tanto no grupo Teste como no grupo Controle, possivelmente ligado ao fato dos pacientes conhecerem as técnicas de higienização, aos estímulos e/ou monitoramento, uma vez que todos foram instruídos periodicamente da necessidade de um bom auto-controle de placa durante o tratamento ortodôntico.

Considerando o índice de sangramento gengival, não foi encontrado qualquer influência no uso do aparelho ortodôntico no período avaliado, havendo apenas uma oscilação na média dos valores, tanto para o grupo Teste como Controle, que considerando o desvio padrão, tornaram-se insignificante. Assim como o índice de placa, tal fato pode ser explicado devido à boa higienização apresentada pelos pacientes

durante todo o período, aos estímulos quanto a higienização e/ou monitoramento, apesar de alguns autores afirmarem que o tratamento ortodôntico influencia no surgimento de inflamação/sangramento gengival, devido a dificuldade de higienização<sup>2,22,32</sup> e o movimento dentário proporcionar uma resposta inflamatória ao periodonto<sup>33</sup>.

Quanto à presença de periodontopatógenos na placa sub-gengival, observou-se a presença da bactéria *Aa* apenas no grupo Teste e um número crescente no grupo de pacientes que apresentaram a referida bactéria durante o período avaliado. Na avaliação de 180 dias, observou-se que 50% dos pacientes que apresentaram a bactéria *Aa* já a possuíam com 90 dias. Quando observado o risco relativo do paciente apresentar a bactéria *Aa* e/ou *Tf*, constatou-se que o grupo de pacientes que utilizou aparelho ortodôntico possuía duas vezes mais chance de apresentar bactérias que o grupo de pessoas que não utilizaram apesar de não haver significância estatística. O fato preocupa, uma vez que as bactérias têm um potencial patogênico<sup>34</sup> e o número de adultos que procuram tratamento ortodôntico vem aumentando nos últimos anos<sup>35</sup>.

A avaliação confirma o resultado de várias pesquisas para a bactéria *Aa*, que afirmam que a instalação do aparelho fixo promove uma super-infecção de bactérias periodontopatógenas<sup>2,3,22,29,32,36</sup>. Este fato não foi confirmado para a bactéria *Tf*, uma vez que a bactéria só foi encontrada em quatro pacientes (90 dias), sendo dois do grupo Teste e dois no grupo Controle. Isto pode ter ocorrido possivelmente pela rigidez nos critérios de inclusão e exclusão da pesquisa, pelo baixo número de participante no presente estudo, e/ou pela boa higienização, estímulo e monitoramento durante o tratamento ortodôntico, não tornando os dados detectáveis.

Como limitação, a pesquisa apresentou principalmente um baixo número de pacientes. Tal fato deve-se a dificuldade na obtenção de participantes que se

enquadrassem nos critérios de inclusão e exclusão e na seleção da maloclusão, necessários para eficácia dos resultados na citada pesquisa.

Para o desenvolvimento do estudo, estabeleceram-se critérios de inclusão e exclusão bem delineados, divergindo de alguns estudos pré-existentes<sup>23,27,32, 30,36 ,37</sup> que negligenciaram alguns fatores que poderiam influenciar diretamente nos aspectos periodontais estudados, como a respiração bucal e as deformidades faciais. Tais cuidados visaram a promoção de uma amostra mais homogênea, logo um menor número de vieses.

Pacientes que apresentaram história progressiva de problemas relacionados a rinite, sinusite, adenóide e amigdalites foram excluídos devido a possibilidade de apresentar um padrão de respiração alterado, predominantemente oral, uma vez que este tipo de respiração é considerado fator de risco para o desenvolvimento de doenças periodontais<sup>38</sup>.

As deformidades faciais e as maloclusões moderadas e graves produzem um impacto social e psicológico negativo, comprometendo a auto-estima e a qualidade de vida dos indivíduos<sup>39-41</sup>. Portanto, tornaram-se selecionáveis, pacientes que não apresentavam deformidades faciais e oclusopatias moderadas e graves, pois alterações físico-psico-sociais poderiam gerar desestímulos no processo de higienização bucal. Além deste fator, as maloclusões moderadas ou graves por si só já produziriam maior dificuldade no auto-controle da placa e poderiam necessitar durante o tratamento ortodôntico de dispositivos como: elásticos inter-maxilares, disjuntores maxilares e distalizadores, que desta forma aumentariam o grau de dificuldade na higienização.

## CONCLUSÃO

Os resultados da presente investigação mostraram que:

- houve uma diminuição no índice de placa dos grupos no período avaliado;
- o índice de sangramento gengival não apresentou qualquer relação com o tratamento ortodôntico;
- a terapia ortodôntica fixa promoveu um aumento no número de pacientes que apresentaram a bactéria Aa, porém insignificante para proporcionar danos ao periodonto de uma pessoa saudável.

## REFERÊNCIAS

1. Gastel JV, Quirynen M, Teughels W, Coucke W, Carels C. Influence of bracket design on microbial and periodontal parameters in vivo. *J Clin Periodontol.* 2007; 34(5):423-31.
2. Lee SM, Yoo SY, Kim HS, Kim KW, Yoon YJ, Lim SH, et al. Prevalence of putative periodontopathogens in subgingival dental plaques from gingivitis lesions in Korean orthodontic patients. *J Microbiol.* 2005; 43(3):260-5.
3. Gastel JV, Quirynen M, Teughels W, Coucke W, Carels C. Longitudinal changes in microbiology and clinical periodontal variables after placement of fixed orthodontic appliances. *J Periodontol.* 2008; 79(11):2008-86.
4. Quirynen M, Marechal M, Busscher H, el-Abiad M, Arends J, van Steenberghe D. The influence of surface characteristics on the early bacterial colonization of intra-oral hard surfaces. *J Clin Dent.* 1988;1(Suppl A):A14-A19.

5. Quirynen M, Marechal M, Busscher H, el-Abiad M, Arends J, van Steenberghe D. The influence of surface free energy and surface roughness on early plaque formation. An in vivo study in man. *J Clin Periodontol.* 1990;17:138-144.
6. Quirynen M, Bollen CM. The influence of surface roughness and surface-free energy on supra- and subgingival plaque formation in man. A review of the literature. *J Clin Periodontol.* 1995;22:1-14.
7. Lo Bue AM, Di Marco R, Milazzo I, Nicolosi D, Calì G, Rossetti B, et al. Microbiological and clinical periodontal effects of fixed orthodontic appliances in pediatric patients. *New Microbiol.* 2008; 31:299-302.
8. Eto FS, Raslan AS, Cortelli JR. Características microbianas na saúde e doença periodontal. *Rev biociênc.* 2003; 9:45-51.
9. Noiri Y, Li L, Ebisu S. The Localization of Periodontal disease-associated Bacteria in Human Periodontal Pockets. *J Dent Res.* 2001; 80:1930-1934.
10. Cortelli JR, Cortelli SC. Periodontite crônica e agressiva: prevalência subgingival e frequência de ocorrência de patógenos periodontais. *Rev biociênc.* 2003; 9:91-96.
11. Sakamoto M., Takeuchi, Y., Umeda, M., Ishikawa, I. e Benno, Y.. Rapid detection and quantification of five periodontopathic bacteria by real-time PCR. *Microbiol Immunol.* 2001; 45:39-44.
12. Mayanagi, G, Sato T, Shimauchi H, Takahashi N. Detection frequency of periodontitis-associated bacteria by polymerase chain reaction in subgingival and supragingival plaque of periodontitis and healthy subjects. *Oral Microbiol Immunol.* 2004;19:379-385.

13. Herrera D, Contreras A, Gamonal J, Oteo A, Jaramillo A, Silva N, et al. Subgingival microbial profiles in chronic periodontitis patients from Chile, Colombia and Spain. *J Clin Periodontol.* 2007;35:106-113.
14. Atieh A. Accuracy of real-time polymerase chain reaction versus anaerobic culture in detection of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis*: a meta-analysis. *J Periodontol.* 2008;79:1620-1629.
15. Mineoka T, Awano S, Rikimaru T, Kurata H, Yoshida A, Ansai T, et al. Site-specific development of periodontal disease is associated with increased levels of *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia* in subgingival plaque. *J Periodontol.* 2008;79:670-676.
16. Morikawa M, Chiba T, Tomil N, Sato S, Takahashi Y, Konishi K, et al. Comparative analysis of putative periodontopathic bacteria by multiplex polymerase chain reaction. *J Periodont Res.* 2008; 43:268-274.
17. Torrungruang K, Bandhaya P, Likittanasombat K, Grittayaphong C. Relationship between the presence of certain bacterial pathogens and periodontal status of urban Thai adults. *J Periodontol.* 2009; 80:122-129.
18. Wara-aswapati N, Pitiphat W, Chanchaimongkon L, Taweekaisupapong S, Boch JA, Ishikawa I. Red bacterial complex is associated with the severity of chronic periodontitis in a Thai population. *Oral diseases.* 2009;15: 354-359.
19. Socransky SS, Haffajee AD, Smith C, Dibart S. Relation of counts of microbial species to clinical status at the sampled site. *J Clin Periodontol.* 1991;18:766-775.

20. Klein MI, Gonçalves RB. Detection of *Tannerella forsythensis* and *Porphyromonas gingivalis* by polymerase chain reaction in subjects with periodontal status. *J Periodontol.* 2003; 74:798-802.
21. Ávila-Campos MJ, Velásquez-Meléndez G. Prevalence of putative periodontopathogens from periodontal patients and healthy subjects in São Paulo. *Rev Inst Trop S Paulo.* 2002; 44:1-5.
22. Naranjo AA, Triviño ML, Jaramilho A, Betancourth M, Botero JE. Changes in the subgingival microbiota and periodontal parameters before and 3 months after bracket placement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2006; 130(3):275.e17-22.
23. Choi D, Cha B, Jost-Brinkmann P, Lee S, Chang B, Jang I, et al. Microbiologic changes in subgingival plaque after removal of fixed orthodontic appliances. *Angle Orthodontist.* 2009; 79(6): 1149-1155.
24. Kornman KS, Löe H. The role of local factors in the etiology of periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 1993; 2(1): 83-97.
25. Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent .* 1975;25: 229-35.
26. Ashimoto A, Chen C, Bakker I, Slots J. Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. *Oral Microbiol Immunol.* 1996;11: 266-273.
27. Sallum EJ, Nouer DF, Klein MI, Gonçalves RB, Machion L, Sallum AW, et al. Clinical and microbiologic changes after removal of orthodontic appliances. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2004; 126(3):363-6.
28. Perinetti G, Paolantonio M, Cordella C, D'Ercole S, Serra E, Piccolomini R. Clinical and microbiological effects of subgingival administration of two active

- gels on persistent pockets of chronic periodontitis patients. *Journal of Clinical Periodontology*. 2004; 31: 273–281.
29. Thornberg MJ, Riolo CS, Bayirli B, Riolo ML, Tubergen EAV, Kulberch R. Periodontal pathogen levels in adolescents before, during, and after fixed orthodontic appliance therapy. *Am J Orthod Dentofacial Orthop*. 2009; 135(1):95-8.
30. Gastel JR, Quirynen M, Teughels W, Coucke W, Carels C. Longitudinal changes in microbiology and clinical periodontal parameters after removal of fixed orthodontic appliances. *Europ J Orthodontics*. 2010; 33:15-21.
31. Van Winkelhoff AJ, Loos BG, Van Der Reijden WA, Van Der Velden U. *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus* and other putative periodontal pathogens in subjects with and without periodontal destruction. *J Clin Periodontol*. 2002; 29:1023–1028.
32. Ristic M, Vlahovic Svabic M, Sasic M, Zelic O. Clinical and microbiological effects of fixed orthodontic appliances on periodontal tissues in adolescents. *Orthod Craniofacial Rev*. 2007; 10(4):187-95.
33. Capelli JR J, Fidel Junior R, Figueiredo CM, Teles RP. Alteração no volume do fluido gengival durante a retração de caninos superiores. *Dental Press J Orthod*. 2010; 15(2):52-57.
34. Kaplan JB, Schreiner HC, Furgang D, Fine DH. Population structure and genetic diversity of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* strains isolated from localized juvenile periodontitis patients. *J Clin Microbiol*. 2002;40:1181-1187.

35. Maffei G, Brouwer N, Dolman KM, Van Der Velden U, Roos D, Loos BG. Plasma levels of mannan-binding lectin in relation to periodontitis and smoking. *J Periodontol* 2005;76:1881-1889.
36. Paolantonio M, Festa F, Placido G, D'attilio M, Catamo G, Piccolomini R. Site-specific subgingival colonization by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in orthodontic patients. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 1999; 115(4):423-8.
37. Kim K, Heimisdottir K, Gebauer U, Persson GR. Clinical and microbiological findings at sites treated with orthodontic fixed appliances in adolescents. *Am J Orthod Dentofacial Orthop.* 2010; 137(2):223-228.
38. Nascimento Filho E, Mayer MPA, Pontes PAL, Pignatari ACC, Weckx LLMA. respiração bucal é fator de risco para cárie e gengivite. *Rev bras alerga imunopatol.* 2003; 26(6):243-249.
39. McGrath C, Bedi R. A national study of the importance of oral health to life quality to inform scales of oral health related quality of life. *Qual Life Res.* 2004; 13:813-8.
40. Tesch FC, Oliveira BH, Leão A. Mensuração do impacto dos problemas bucais sobre a qualidade de vida de crianças: aspectos conceituais e metodológicos. *Cad. Saúde Pública.* 2007; 23(11):2555-2564.
41. Bernabé E, Flores-Mir, C, Sheiham A. Prevalence, intensity and extent of Oral Impacts on Daily Performances associated with self-perceived malocclusion in 11-12-year-old children. *BMC Oral Health.* 2007; 7(6):1-7.

## ANEXOS

Andamento do Projeto

[http://portal2.saude.gov.br/sisnep/extrato\\_projeto.cfm?codigo=254521](http://portal2.saude.gov.br/sisnep/extrato_projeto.cfm?codigo=254521)

Andamento do projeto - CAAE - 0079.0.172.000-09				
Título do Projeto de Pesquisa				
AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA SUBGENGIVAL EM PACIENTES SADIOS SUBMETIDOS A TRATAMENTO ORTODÔNTICO FIXO				
Situação	Data Inicial no CEP	Data Final no CEP	Data Inicial na CONEP	Data Final na CONEP
Aprovado no CEP	14/04/2009 11:55:00	19/05/2009 10:40:58		
Descrição	Data	Documento	Nº do Doc	Origem
2 - Recebimento de Protocolo pelo CEP (Check-List)	14/04/2009 11:55:00	Folha de Rosto	0079.0.172.000-09	CEP
1 - Envio da Folha de Rosto pela Internet	08/04/2009 16:18:29	Folha de Rosto	FR254521	Pesquisador
3 - Protocolo Aprovado no CEP	19/05/2009 10:40:58	Folha de Rosto	081/09	CEP

[Voltar](#)

## NORMAS DE APRESENTAÇÃO DE ORIGINAIS

- O *Dental Press Journal of Orthodontics* publica artigos de investigação científica, revisões significativas, relatos de casos clínicos e de técnicas, comunicações breves e outros materiais relacionados à Ortodontia e Ortopedia Facial.
- O *Dental Press Journal of Orthodontics* utiliza o Sistema de Gestão de Publicação, um sistema on-line de submissão e avaliação de trabalhos. Para submeter novos trabalhos visite o site: [www.dentalpressjournals.com](http://www.dentalpressjournals.com)
- Outros tipos de correspondência poderão ser enviados para:  
*Dental Press International*  
Av. Euclides da Cunha 1718, Zona 5  
CEP: 87.015-180, Maringá/PR  
Tel.: (44) 3031-9818  
E-mail: [artigos@dentalpress.com.br](mailto:artigos@dentalpress.com.br)
- As declarações e opiniões expressas pelo(s) autor(es) não necessariamente correspondem às do(s) editor(es) ou *publisher*, os quais não assumirão qualquer responsabilidade pelas mesmas. Nem o(s) editor(es) nem o *publisher* garantem ou endossam qualquer produto ou serviço anunciado nesta publicação ou alegação feita por seus respectivos fabricantes. Cada leitor deve determinar se deve agir conforme as informações contidas nesta publicação. A Revista ou as empresas patrocinadoras não serão responsáveis por qualquer dano advindo da publicação de informações errôneas.
- Os trabalhos apresentados devem ser inéditos e não publicados ou submetidos para publicação em outra revista. Os manuscritos serão analisados pelo editor e consultores, e estão sujeitos a revisão editorial. Os autores devem seguir as orientações descritas adiante.

### ORIENTAÇÕES PARA SUBMISSÃO DOS MANUSCRITOS

- Os trabalhos devem, preferencialmente, ser escritos em língua inglesa.
- Apesar de ser oficialmente publicado em inglês, o *Dental Press Journal of Orthodontics* conta ainda com sua versão em língua portuguesa. Por isso serão aceitas, também, submissões de artigos em português.
- Nesse caso, após terem sido avaliados e aprovados, os autores deverão enviar a versão em inglês de seus trabalhos.
- Essa versão será submetida à aprovação do Conselho Editorial e deverá apresentar adequada qualidade vernacular.

### FORMATAÇÃO DOS MANUSCRITOS

- Submeta os artigos através do site: [www.dentalpressjournals.com](http://www.dentalpressjournals.com)
- Organize sua apresentação como descrito a seguir:

#### 1. Página de título

- deve conter título em português e inglês, resumo e abstract, palavras-chave e keywords.
- não inclua informações relativas aos autores, por exemplo: nomes completos dos autores, títulos acadêmicos, afiliações institucionais e/ou cargos administrativos. Elas deverão ser incluídas apenas nos campos específicos no site de submissão de artigos. Assim, essas informações não estarão disponíveis para os revisores.

#### 2. Resumo/Abstract

- os resumos estruturados, em português e inglês, de 250 palavras ou menos são os preferidos.
- os resumos estruturados devem conter as seções: INTRODUÇÃO, com a proposição do estudo; MÉTODOS, descrevendo como o mesmo foi realizado; RESULTADOS, descrevendo os resultados primários; e CONCLUSÕES, relatando o que os autores concluíram dos resultados, além das implicações clínicas.
- os resumos devem ser acompanhados de 3 a 5 palavras-chave, ou descritores, também em português e em inglês, as quais devem ser adequadas conforme o MeSH/DeCS.

#### 3. Texto

- o texto deve ser organizado nas seguintes seções: Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusões, Referências, e Legendas das figuras.
- os textos devem ter o número máximo de 4.000 palavras, incluindo legendas das figuras, resumo, abstract e referências.
- envie as figuras em arquivos separados (ver logo abaixo).
- também insira as legendas das figuras no corpo do texto, para orientar a montagem final do artigo.

#### 4. Figuras

- as imagens digitais devem ser no formato JPG ou TIF, em CMYK ou tons de cinza, com pelo menos 7 cm de largura e 300 dpi de resolução.
- as imagens devem ser enviadas em arquivos independentes.
- se uma figura já foi publicada anteriormente, sua legenda deve dar todo o crédito à fonte original.
- todas as figuras devem ser citadas no texto.

**5. Gráficos e traçados cefalométricos**

- devem ser enviados os arquivos contendo as versões originais dos gráficos e traçados, nos programas que foram utilizados para sua confecção.
- não é recomendado o envio dos mesmos apenas em formato de imagem *bitmap* (não editável).
- os desenhos enviados podem ser melhorados ou redesenhados pela produção da revista, a critério do Corpo Editorial.

**6. Tabelas**

- as tabelas devem ser autoexplicativas e devem complementar, e não duplicar o texto.
- devem ser numeradas com algarismos arábicos, na ordem em que são mencionadas no texto.
- forneça um breve título para cada uma.
- se uma tabela tiver sido publicada anteriormente, inclua uma nota de rodapé dando crédito à fonte original.
- apresente as tabelas como arquivo de texto (Word ou Excel, por exemplo), e não como elemento gráfico (imagem não editável).

**7. Comitês de Ética**

- Os artigos devem, se aplicável, fazer referência a pareceres de Comitês de Ética.

**8. Referências**

- todos os artigos citados no texto devem constar na lista de referências.
- todas as referências listadas devem ser citadas no texto.
- com o objetivo de facilitar a leitura do texto, as referências serão citadas no texto apenas indicando a sua numeração.
- as referências devem ser identificadas no texto por números arábicos sobrescritos e numeradas na ordem em que são citadas no texto.
- as abreviações dos títulos dos periódicos devem ser normalizadas de acordo com as publicações "Index Medicus" e "Index to Dental Literature".
- a exatidão das referências é de responsabilidade dos autores; as mesmas devem conter todos os dados necessários à sua identificação.
- as referências devem ser apresentadas no final do texto obedecendo às Normas Vancouver ([http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform\\_requirements.html](http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html)).
- utilize os exemplos a seguir:

**Artigos com até seis autores**

Sterrett JD, Oliver T, Robinson F, Fortson W, Knaak B, Russell CM. Width/length ratios of normal clinical crowns of the maxillary anterior dentition in man. *J Clin Periodontol.* 1999 Mar;26(3):153-7.

**Artigos com mais de seis autores**

De Munck J, Van Landuyt K, Peumans M, Poitevin A, Lambrechts P, Braem M, et al. A critical review of the durability of adhesion to tooth tissue: methods and results. *J Dent Res.* 2005 Feb;84(2):118-32.

**Capítulo de livro**

Kina S. Preparos dentários com finalidade protética. In: Kina S, Brugnera A. *Invisível: restaurações estéticas cerâmicas.* Maringá: Dental Press; 2007. cap. 6, p. 223-301.

**Capítulo de livro com editor**

Breedlove GK, Schorffheide AM. Adolescent pregnancy. 2<sup>nd</sup> ed. Wiczorek RR, editor. White Plains (NY): March of Dimes Education Services; 2001.

**Dissertação, tese e trabalho de conclusão de curso**

Beltrami LER. Braquetes com sulcos retentivos na base, colados clinicamente e removidos em laboratórios por testes de tração, cisalhamento e torção [dissertação]. Bauru (SP): Universidade de São Paulo; 1990.

**Formato eletrônico**

Câmara CALP. Estética em Ortodontia: Diagramas de Referências Estéticas Dentárias (DRED) e Faciais (DREF). *Rev Dental Press Ortod Ortop Facial.* 2006 nov-dez;11(6):130-56. [Acesso 2008 Jun 12]. Disponível em: [www.scielo.br/pdf/dpress/v11n6/a15v11n6.pdf](http://www.scielo.br/pdf/dpress/v11n6/a15v11n6.pdf).

\* Para submeter novos trabalhos acesse o site: [www.dentalpressjournals.com](http://www.dentalpressjournals.com)