

FABIANO FERREIRA REGALADO

**AÇÃO DA PRÓPOLIS DE *Apis Mellifera* NO CONTROLE DO RISCO
DE CÁRIE DENTÁRIA E GENGIVITE EM PACIENTES SUBMETIDOS
A TRATAMENTO ORTODÔNTICO**

Dissertação apresentada ao Programa de pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Paulo Zárte

CAMPO GRANDE

2009

FOLHA DE APROVAÇÃO

FABIANO FERREIRA REGALADO

AÇÃO DA PRÓPOLIS DE *Apis Mellifera* NO CONTROLE DO RISCO DE CÁRIE DENTÁRIA E GENGIVITE EM PACIENTES SUBMETIDOS A TRATAMENTO ORTODÔNTICO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-oeste da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Mestre.

Resultado _____

Campo Grande (MS), _____ de _____ de _____ .

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. _____
Instituição _____

Prof. Dr. _____
Instituição _____

Prof. Dr. _____
Instituição _____

DEDICATÓRIAS

- Aos meus ajudantes de trituração de própolis, os **meus filhos Pedro e Letícia**, fontes de inspiração e razões da minha vida; que este trabalho represente parte do esforço de seu pai e amigo em se tornar uma pessoa cada vez melhor, pois é através do conhecimento que temos as melhores chances para nos tornarmos mais realizados e capazes de compreendermos o mundo que nos cerca. Da mesma forma que meus pais foram exemplos através de seus estudos, espero que um dia, vocês passem para os meus netos o exemplo de vida que quero e espero sempre passar.

- **À minha esposa Christiane**, pelo companherismo, paciência e preocupação comigo e com nossos filhos. Que mesmo nesse período soube compreender e suprir minhas eventuais ausências em prol de um objetivo, sempre com carinho e afeto. Te amo.

- **A meus pais Pedro e Adelina**, pela educação, exemplo de vida e por me tornarem um homem feliz e realizado, o que só foi possível por me mostrarem que o estudo é a coisa mais valiosa que poderiam deixar para mim.

- **Aos meus irmãos e amigos Diego e Pablo**, pelo orgulho de ter vocês como irmãos e poder estar, nesse momento, percorrendo parte de suas estradas do conhecimento. Orgulho do caráter que possuem e do ser humano que representam para todos que o cercam. Quem inventou a distância, não sabe a dor de uma saudade...

- **À minha avó Evangelina**, que mesmo não tendo tido oportunidades do estudo, sempre foi e será a minha maior incentivadora e a que mais se emocionava com minhas conquistas. Esteja onde estiver, sempre lembro de você, agora mais do que nunca.

AGRADECIMENTOS

- À **Deus**, por tudo que de bom me aconteceu até hoje e a oportunidade de estar cumprindo mais uma etapa de minha vida.
- **Aos meus chefes e amigos Ten Cel Méd Curty e Maj Dent Sampaio**, pela compreensão e confiança de eventuais ausências e trocas de horários em função dos compromissos de curso.
- **Aos colegas de trabalho** que torceram ou de alguma forma tentaram ajudar com artigos e seleção de voluntários.
- **Ao professor Odair Pimentel**, que teve participação ímpar no acerto do meio de cultura.
- **Ao professor Joaquim Cursino**, pelo apoio e disponibilidade no manuseio e preparo da própolis. Foi de fundamental ajuda.
- À **colega e amiga, professora Vivian Lys Olibone**, por sempre estar disposta a me ajudar no que tange as aulas que ministrava e coincidiam com compromissos de mestrado.
- Ao meu primeiro professor de Ortodontia, amigo, incentivador e conselheiro, por tudo que pode me oferecer de oportunidade e conhecimento, sem nenhuma contrapartida. Se há alguém responsável pela paixão por essa ciência e minha permanência em Campo Grande nesses 10 anos, essa pessoa se chama **Sidnei Valieri**.
- A minha amiga e companheira de mestrado **Andréa Melani**, pelos momentos de alegria e aperto que passamos juntos, fora e dentro do curso. Pessoa batalhadora, excelente profissional que me identifiquei pelas experiências parecidas ao chegarmos em Campo Grande. Que você seja muito feliz nesse novo e acertado projeto de vida.

- Ao meu novo amigo **Edilson Zafalon**, que aprendi a admirá-lo pelo seu caráter, competência e aplicação. Sua generosidade em me ajudar nas medições surpreendeu, sem nunca ter esboçado cansaço ou empecilho para tal.

- Ao meu querido amigo, parceiro de medição e preparo do meio, esclarecedor de conceitos que não dominava, **Alessandro De Carli**. Sempre disposto e pronto a me ajudar; um verdadeiro anjo da guarda. Nos momentos mais delicados e críticos estive sempre presente e decisivo. Com certeza sem sua ajuda, teriam sido maiores as dificuldades para alcançar algumas metas.

- Na vida, o homem pode estar rico e ficar pobre; ter saúde e ficar doente, mas tem duas coisas que aconteça o que acontecer, um homem nunca perde: conhecimento e amizade; então, **Prof. Paulo Zárate**, meu muito obrigado em me proporcionar esse dois tesouros da vida, de forma natural e incondicional.

RESUMO

Regalado FF. AÇÃO DA PRÓPOLIS DE *Apis Mellifera* NO CONTROLE DO RISCO DE CÁRIE DENTÁRIA E GENGIVITE EM PACIENTES SUBMETIDOS A TRATAMENTO ORTODÔNTICO. Campo Grande; 2009. [Dissertação – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul].

Estudos têm mostrado uma forte relação entre presença de aparatologia ortodôntica fixa e aumento do risco à cárie e gengivite devido ao favorecimento de sítios de estagnação do biofilme. Também tem sido apontada a ação da própolis contra patógenos envolvidos na etiologia dessas doenças. O objetivo deste estudo foi avaliar a capacidade da própolis de *Apis mellifera*, isolada ou associada ao fluoreto de sódio (NaF), no controle da cárie dentária e da gengivite, em pacientes portadores de aparelhos ortodônticos fixos metálicos. Foram selecionados 56 pacientes em tratamento ortodôntico, divididos em três grupos conforme o risco à cárie e à gengivite, pré-determinados pelo Índice Gengival (IG), índice de placa ortodôntico (IPO), níveis salivares de estreptococos do grupo mutans (SM) e presença de manchas brancas (MB). Os voluntários realizaram bochechos durante 14 dias com as soluções de NaF 0,05% (grupo controle), solução de própolis 2,5% (Grupo 1) e solução de própolis 2,5%+NaF 0,05% (Grupo 2). As avaliações foram realizadas 24 horas, sete e quinze dias após o término do período experimental. A análise estatística foi realizada através do teste de ANOVA de uma via independente, pós-teste de Tukey e teste t-student. Os resultados revelaram que as soluções experimentais não interferiram no IG para os três grupos ($p > 0,050$), porém, reduziram significativamente o IPO e MB ($p < 0,050$), embora o efeito não tenha sido duradouro. A solução própolis 2,5%+NaF 0,05% também foi eficaz na redução de MB ($p = 0,040$). Concluiu-se que, embora não tenha sido possível verificar alterações relacionadas à gengivite, a solução de própolis, principalmente quando associada ao NaF 0,05%, é capaz de reduzir o acúmulo de biofilme e o risco à cárie dentária em pacientes sob tratamento ortodôntico.

Palavras-chave: própole; aparelhos ortodônticos; doenças da boca.

ABSTRACT

Regalado FF. Effectiveness of propolis from *Apis Mellifera* in controlling of dental caries and gingivitis risks in patients undergoing orthodontic treatment. Campo Grande; 2009. [Dissertação – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul].

Studies have shown a strong relationship between the use of orthodontic appliance and increased risk for dental caries and gingivitis due to increased sites of biofilm's stagnation. The action of propolis against pathogens involved in the etiology of these diseases has also been revealed. The aim of this study was to evaluate the effectiveness of propolis derived from *Apis mellifera*, alone or combined with sodium fluoride (NaF), in the control of dental caries and gingivitis in patients with fixed orthodontic appliance. Fifty-six patients undergoing orthodontic treatment were selected and divided into three groups according to the risk of dental caries and gingivitis, previously determined by the Gingival Index (GI), Orthodontic Plaque Index (OPI), salivary levels of streptococci mutans (SM) and presence of white spots (WS). The volunteers performed mouthwash for 14 days with the 0.05% NaF (control group), 2.5% propolis solution (Group 1) and 2.5% propolis solution + 0.05% NaF (Group 2). The assessments were performed 24 hours, seven and fifteen days after the end of the trial period. Statistical analysis was performed using independent one-way ANOVA test, Tukey's post-test and t-student's test. The results showed that the experimental solutions did not affect the GI for any of the three groups ($p > 0.050$), but significantly reduced the IPO and WS ($p < 0.050$), although the effect was not permanent. The 2.5% propolis' solution + 0.05% NaF was also effective in the reduction of MB ($p = 0.040$). It was concluded that, although it was not possible to verify changes related to gingivitis, the propolis solution, especially when associated with NaF 0,05%, is able to reduce the dental biofilm and the risk for dental caries in patients undergoing orthodontic treatment.

Key-words: propolis; orthodontic appliance; oral diseases.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

| | |
|----------------|--|
| API | Apigenina |
| CBM | Concentração bactericida mínima |
| CD | Cirurgião-dentista |
| CHX | Clorexidina |
| CIM | Concentração inibitória mínima |
| CIMA | Concentração inibitória de aderência |
| DP | Doença periodontal |
| EEP | Extrato etanólico de própolis |
| F ⁻ | Fluoreto |
| Far | tt-farnesol |
| GTF | Glicosiltransferase |
| HM | Higiene mecânica |
| IG | Índice gengival |
| IHOS | Índice de higiene oral simplificado |
| IP | Índice de placa |
| IPO | Índice de placa ortodôntico |
| ISG | Índice de sangramento gengival |
| KHN | <i>Knoop Hardness Number</i> |
| LB | Lactobacilos |
| MB | Mancha branca |
| MO | Microrganismos |
| NaF | Fluoreto de sódio |
| pH | Potencial hidrogeniônico |
| PA | Puro para análise |
| PEC | Polissacarídeos extracelulares |
| PIC | Polissacarídeos intracelulares |
| SM | Estreptococos do grupo mutans |
| | <i>S. mutans Streptococcus mutans</i> |
| UFMS | Universidade Federal de Mato Grosso do Sul |

LISTA DE SÍMBOLOS

| | |
|-------|--------------------------------|
| % | - Porcentagem |
| mm | - Milímetro |
| ° | - Graus |
| °C | - Graus Celsius |
| mL | - Mililitro |
| µg | - Micrograma |
| µg/mL | - Micrograma por mililitro |
| µL | - Microlitro |
| µL/mL | - Microlitro por mililitro |
| mg/mL | - Miligrama por mililitro |
| nm | - Nanômetro |
| UFC | - Unidade formadora de colônia |

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|------------|--|----|
| Figura 1 – | Seqüência dos procedimentos para obtenção das soluções..... | 46 |
| Figura 2 – | Revelação de placa para obtenção do IPO..... | 47 |
| Figura 3 – | UFC de SM. Em A - crescimento de colônias no meio <i>mitis salivarius</i> bacitracina. Em B – detalhe da UFC (aumento de 10x)..... | 48 |
| Figura 4 – | Lesão incipiente de cárie (mancha branca). Gentileza: Prof. Paulo Zárate..... | 48 |
| Figura 5 - | Critérios de classificação dos riscos à cárie dentária e doença periodontal..... | 49 |
| Figura 6 - | Distribuição dos voluntários conforme o <i>status</i> de risco e soluções indicadas..... | 49 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 - Índices gengivais (média + DP) dos grupos controle e experimentais | 51 |
| Tabela 2 - Índice de placa ortodôntico (média± DP) em cada momento de análise nos grupos controle e experimentais..... | 52 |
| Tabela 3 - Mancha branca (MB) em cada momento de análise e grupo experimental | 52 |
| Tabela 4 - Unidades formadoras de colônia (UFC) em cada momento de análise e grupo experimental | 53 |

SUMÁRIO

| | |
|---|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO..... | 13 |
| 2 REVISÃO DE LITERATURA..... | 15 |
| 2.1 Biofilme | 15 |
| 2.2 Cárie | 17 |
| 2.3 Gengivite..... | 20 |
| 2.4 Tratamento ortodôntico e a placa bacteriana..... | 22 |
| 2.5 Métodos preventivos em pacientes ortodônticos..... | 29 |
| 2.6 Própolis..... | 32 |
| 2.6.1 Própolis em Odontologia..... | 34 |
| 3 OBJETIVOS..... | 44 |
| 4 MATERIAIS E MÉTODO..... | 45 |
| 5 RESULTADOS..... | 51 |
| 6 DISCUSSÃO..... | 54 |
| 7 CONCLUSÕES..... | 59 |
| REFERÊNCIAS..... | 60 |
| APÊNDICE | |
| ANEXO | |

1 INTRODUÇÃO

O tratamento ortodôntico é considerado fator predisponente à ocorrência da cárie dentária e da doença periodontal, visto o aumento do potencial de acúmulo do biofilme propiciado pelo aparatologia fixa. Isso se deve ao fato de que sítios de estagnação da placa bacteriana mantêm-se organizados, favorecendo a seleção ecológica de espécies bacterianas específicas e formação de um biofilme potencialmente patogênico (MARSH, 1991).

De acordo com Chung (1986), pacientes em terapia ortodôntica estão propensos a apresentar desvios da normalidade dos tecidos bucais enquanto durar a fase ativa do tratamento. Entre essas possíveis alterações, pode ocorrer o aparecimento de manchas brancas por desmineralização do esmalte, primeiro sinal clínico da lesão cariosa, e gengivite, ambas causadas pelo acúmulo do biofilme.

A gengivite, classificada como doença periodontal, juntamente com a cárie dentária são as doenças bucais mais freqüentes no Brasil; conforme mencionou Frazão (1999), porém, as maloclusões podem ser tão prevalentes quanto, dependendo da região e do grupo populacional.

Oficialmente, o índice de cárie dentária para dentes permanentes na idade de 12 anos é de 2,8 com aumento conforme a faixa etária, chegando a 20,1 aos 18 anos. Quanto à doença periodontal, o percentual de indivíduos sem problema periodontal nas faixas etárias de 15 a 19, 35 a 44 e 65 a 74 anos de idade foi 46,2%, 21,9% e 7,9%, respectivamente. Não menos preocupante é a prevalência de maloclusão moderada ou severa em crianças de até 5 anos de idade, com prevalência de 14,5%; para as idades de 15 e 19 anos, os valores são de 21% e 19%, respectivamente (BRASIL, 2004).

Deve-se ressaltar que a cárie dentária é uma doença de caráter multifatorial, de evolução aguda quando da presença de fatores de risco, e de alta prevalência e incidência na população brasileira. Assim como a doença periodontal, essa patologia apresenta causa comum de morbidade; existem métodos para seu controle e prevenção, porém, dados epidemiológicos ainda apontam como um problema de saúde pública, e negligenciada na sociedade moderna (CARVALHO; MALTZ, 1997).

Ainda que os dados oficiais não apresentem relações diretas entre esses resultados, a literatura é rica ao apontar correlações entre o tratamento ortodôntico e

risco de cárie e doença periodontal, devido ao aumento das retenções e superfícies de contato de todos os acessórios ortodônticos, propiciando maior acúmulo de biofilme (ZACHRISSON, 1975; HEINTZE, 1996; RODRIGUES *et al.*, 2004; BRANDÃO *et al.*, 2006; OLYMPIO *et al.*, 2006; SUGUINO, 2006).

Essa condição tem sido tratada, além das orientações sobre higiene, com as indicações de produtos à base de fluoretos e clorexidina, que embora tenha de efetividade consagrada, ambos apresentam restrições devido à possibilidade da intoxicação aguda e efeitos indesejáveis sobre os tecidos bucais, respectivamente. Essa situação tem direcionado investigações científicas sobre produtos naturais que apresentam propriedades antimicrobianas e poderiam estar indicadas no controle do biofilme em situações particulares, como no tratamento ortodôntico.

Entre os produtos naturais, a própolis tem sido alvo de experimentos em todas as especialidades da Odontologia. Suas propriedades antibacteriana, antifúngica e anticariogênica foram demonstradas inicialmente por Ikeno *et al.*, em 1991. Desde então, a ação antimicrobiana da própolis, especialmente contra bactérias cariogênicas e periodontopatogênicas, tem sido verificada, como mostram os estudos de Gebara *et al.* (1996); Zárate-Pereira (2003), De Carli (2007) e Parma-Neto (2008). Em todas essas pesquisas, foi verificada a ação efetiva da própolis contra biofilmes e/ou microrganismos patogênicos.

Entretanto, não há uma avaliação *in vivo* da ação da própolis no controle do risco de cárie em pacientes submetidos a tratamento ortodôntico, o que justifica este estudo, ao propor verificar o possível controle do risco à cárie e a gengivite. Nesse sentido, esta investigação possibilita duas contribuições importantes, ou seja, a perspectiva favorável do uso de uma substância natural para o controle de doenças bucais e o estímulo à investigação de um produto nativo, visto que foi avaliada a própolis do tipo verde, oriunda do estado de Mato Grosso do Sul, sendo pela primeira vez analisado em um estudo *in vivo*.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Biofilme

Em 1994, Cai *et al.* afirmaram que a formação da placa bacteriana é extremamente seletiva e dinâmica. É constituída pela agregação de microrganismos não calcificados, contidos em uma matriz orgânica formada de substâncias oriundas da dieta, saliva e de polímeros bacterianos. A interação físico-química entre as bactérias e a película adquirida do esmalte é responsável pela aderência das bactérias à superfície dentária.

Thylstrup (1995) citou que o acúmulo de biofilme maduro é responsável pela variação de saúde-doença; o biofilme é capaz de causar os primeiros indícios de dissolução no esmalte e alterações aos tecidos periodontais em pacientes clinicamente saudáveis. Além disso, o mesmo deve estar localizado em sítios específicos, capazes de produzir uma variedade de irritantes locais após maturar-se, os quais, com o tempo, possibilitam o desenvolvimento das comunidades bacterianas com potencial cariogênico ou periodontopatogênico.

Quanto à organização do biofilme, Costerton *et al.*, em 1995, propuseram que o biofilme é composto por unidades estruturais, as microcolônias, formações em forma de cogumelo com diferentes espécies de bactérias. Envolvendo o biofilme, a matriz extracelular de polissacarídeos forma um sistema circulatório levando nutrientes e removendo metabólitos de todo o sistema, funcionando como uma esponja na captação de água e nutrientes para o interior do biofilme.

Desde o clássico trabalho – Gengivite experimental em humanos - de Løe *et al.* (1965)¹ *apud* Lelis *et al.* (1995), o biofilme dental está bem estabelecido como fator etiológico primário da doença periodontal.

Marsh (1995) definiu biofilme como uma cultura mista, correspondendo a uma comunidade microbiana tridimensional formada em uma interface que pode tornar-se espacialmente heterogênea, devido aos gradientes físico-químicos que se desenvolvem em seu interior.

¹Løe H, Theilade E, Jensen SB. Experimental gingivitis in man. J Periodontol, 1965; 36:177-87.

A partir desse conceito, biofilmes são definidos como sendo uma matriz fechada de populações bacterianas aderentes umas às outras e/ou às superfícies ou interfaces. Possuem sistema circulatório primitivo e evoluem para permitir a sobrevivência da comunidade (PAGE, 1998) que se desenvolve nos tecidos duros, principalmente esmalte. É constituído por bactérias, muco, matriz extracelular e fluido.

Já Pratten *et al.* (2000), através de microscopia confocal a *laser*, afirmaram que o biofilme possui um sistema de canais que são responsáveis pela passagem de água e nutrientes para todas as células, além de servir de via de excreção de produtos metabólicos bacterianos que podem ser eliminados ou reaproveitados por outros microrganismos.

Biofilme também pode ser definido como uma estrutura complexa composta de várias espécies de bactérias que se acumulam em tecidos duros quando em ambiente úmido. Vem sendo utilizado de forma mais adequada do que o termo placa, visto que o último considera apenas a estrutura física constituída de placas ou camadas; já o biofilme apresenta, microbiologicamente, a estruturação igual a da placa encontrada em diversas superfícies sólidas na presença de umidade (SPOLIDORIO *et al.*, 2003).

Em relação à DP, as bactérias presentes no biofilme podem responder com a quebra da homeostasia do sulco gengival, devido ao desequilíbrio decorrente do aumento da agressão bacteriana ou diminuição das defesas orgânicas. Os periodontopatógenos que apresentam forte associação na etiologia da DP são *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Tanarella forsythensis* e *Treponema denticola* (BRUNETT, 2004).

O processo de formação do biofilme é altamente dinâmico, onde todos os estágios de desenvolvimento da placa podem ocorrer. De acordo com Marsh e Nyvad (2005):

“O desenvolvimento da placa bacteriana pode ser dividido em vários estágios: formação da película; adesão de células bacterianas simples (0-4h); crescimento de bactérias aderidas, levando à formação de microcolônias distintas (4-24 h); sucessão e co-agregação que levam a uma alta diversidade de espécies, concomitantemente com o crescimento continuado de microcolônias (1-14 dias); comunidade clímax/placa madura (2 semanas ou mais)” (MARSH; NYVAD, 2005, p.31).

Ditterich *et al.*, em 2007, destacaram a importância do estabelecimento de hábitos de higiene bucal no controle do biofilme através do controle mecânico caseiro. Esse hábito deve ser estimulado pelo cirurgião-dentista, além de promover a motivação do paciente através da consciência de que a doença periodontal e a cárie são reflexos de suas atitudes ou falta de preocupação com a saúde bucal.

O biofilme possui propriedades que conferem aumento da resistência aos agentes antimicrobianos e aos antibióticos. As bactérias cariogênicas têm várias propriedades, incluindo o transporte rápido e fermentação de carboidratos na dieta, síntese de polissacarídeos extracelulares e intracelulares, além da capacidade em metabolizar carboidratos sob ambientes adversos. Incluem bactérias cariogênicas: *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Lactobacillus* e espécies de *Actinomyces*, bem como em um menor grau de *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus gordonii* e *Streptococcus anginosus*. Determinadas bactérias em biofilme dentário podem diminuir os efeitos de cáries, por exemplo, *Veillonella* metaboliza o ácido láctico produzido por bactérias acidogênicas; *Streptococcus salivarius* e *Streptococcus sanguinis* produzem arginina, desaminase e urease que darão origem a uréia e compostos de amoníaco, elevando o pH do biofilme (GARCÍA-GODOY; HICKS, 2008).

2.2 Cárie

Em uma associação entre os *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) e a ocorrência de cárie, Loesche *et al.* (1975) observaram, *in vivo*, que 71% das cáries de fissuras em crianças estudadas apresentavam *S. mutans*, correspondendo a 10% da microbiota, enquanto 70% das fissuras sem cárie não apresentavam esse percentual. Os autores perceberam que os *Streptococcus mutans* estariam relacionados com o processo de iniciação da cárie, enquanto os *Lactobacillos sp.* estariam relacionados à progressão.

Em 1979, Loesche e Straffon, em estudo prospectivo para detectar mudanças nos níveis e proporções de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillos sp.* e *S. sanguis*, antes e durante o desenvolvimento de cárie em fissuras oclusais, observaram que, após análise longitudinal, as proporções de *Streptococcus mutans* eram significativas no momento do diagnóstico da cárie, e pela comparação do corte transversal, ficou evidente que as proporções desse microrganismo nas fissuras

cariadas foram significativamente maiores que nas fissuras livres de cárie. Com isso, concluíram sobre a etiologia dos *S.mutans* no surgimento das lesões de cárie de fissura.

Van Houte (1980) confirmou que a etiologia da cárie estava associada com a história de infecção oral por *Streptococcus mutans*, correlacionando o fato de que indivíduos inicialmente livres da doença apresentavam o início do desenvolvimento das lesões cariosas com o aumento populacional dessa bactéria na cavidade bucal.

O potencial cariogênico do *Streptococcus mutans* é resultante de sua alta propriedade acidogênica e em sua capacidade de se aderir sobre os dentes. A primeira aderência dos *Streptococcus mutans* aos dentes pensava-se ser graças às interações entre os componentes de sua superfície e os constituintes salivares presentes na película. No entanto, o acúmulo do organismo é favorecido pela síntese de glucanos extracelulares a partir de sacarose. A fixação das bactérias aos dentes e outras superfícies da boca ocorre com surpreendente especificidade, e se correlaciona com aderência natural de colonização (GIBBONS, 1984).

Loesche (1986) afirmou que o *Streptococcus mutans* é o principal organismo cariogênico devido às suas propriedades acidúrica e acidogênica, além de produzir polissacarídeos extracelulares (PEC) e polissacarídeos intracelulares (PIC). Loesche relatou que a colonização por esse patógeno ocorre após a erupção dentária e, conseqüentemente, coloniza as fissuras em sua profundidade. No entanto, se essa colonização for atrasada até que a profundidade das fissuras seja ocupada por outras bactérias, existe a possibilidade de redução de incidência de cárie.

Em estudo com crianças suíças entre 7 e 8 anos, Lang *et al.* (1987) correlacionaram o surgimento de desmineralização sem cavitação em fissuras e superfícies lisas a um número elevado de *S.mutans*, que foram detectados 12 a 18 meses antes do diagnóstico da cárie.

O início da cárie se caracteriza pelo desequilíbrio dos processos que mantêm o aporte mineral dos tecidos dentários (esmalte e dentina). Essa relação dinâmica do meio bucal com o dente pode ser explicada pela atividade metabólica das bactérias que colonizam os dentes, que a partir da fermentação dos carboidratos da dieta, são capazes de causar flutuações no pH da placa e o resultado pode ser a perda de minerais do tecido dentário. O pH bucal tende a neutralizar, mas ao se ingerir açúcar, o meio bucal pode atingir o pH inferior a 5,5 e, conseqüentemente, por uma tendência de equilíbrio físico-químico, o dente perde

íons de cálcio e fosfato (produto da solubilidade da hidroxiapatita) para a saliva. O resultado desse desequilíbrio será a desmineralização do dente, que clinicamente se apresenta com coloração esbranquiçada e uma superfície opaca e branca. Essa lesão inicial de cárie é conhecida como mancha branca (CARVALHO; MALTZ, 1997).

Reforçando esse conceito, Stookey (1998) relatou que o processo de cárie começa quando, por um período prolongado, ocorre o desequilíbrio do binômio desxre, implicando na incapacidade do organismo em reparar a continuidade da perda mineral. Como os mecanismos de defesa naturais do organismo são simplesmente incapazes de reparar os danos causados pela perda de mineral, a desmineralização continua a ocorrer. Eventualmente, uma lesão incipiente de cárie na superfície dentária coronal é detectada como uma mancha branca ou uma área translúcida na face interproximal, detectada radiograficamente, dependendo do estágio de progressão. A área da lesão apresenta uma fina camada parcialmente desmineralizada. Esse aspecto da lesão cariiosa ocorre independentemente do tipo de superfície coronária, idade do hospedeiro, ou se o dente é decíduo ou permanente. Sabe-se que nessa fase, a lesão pode ser remineralizada, e essa remineralização só pode ocorrer enquanto a fina camada exterior de esmalte permanecer intacta; se essa camada superficial for destruída, a remineralização do dente não ocorrerá. De acordo com o autor, as estratégias de prevenção podem ser divididas em duas categorias: diminuição do ataque cariioso e aumento da resistência das superfícies dentárias. Essas ações são realizadas através de medidas para controlar o acúmulo de placa bacteriana e alterar a cariogenicidade da dieta.

O controle do biofilme cariogênico deve ser encarado como uma forma de tratamento e prevenção à cárie, visto que o seu acúmulo é um fator determinante e imprescindível para o surgimento e desenvolvimento da doença. Apesar de alguns fatores serem mais importantes que outros na etiologia da cárie, os mesmos se complementam para o desenvolvimento da doença; logo, é de suma importância a identificação desses fatores para uma correta avaliação da atividade cariogênica do indivíduo em um determinado momento, para posteriormente se estabelecer o tratamento adequado (MALTZ, 2000).

De acordo com Featherstone (2000), a lesão é oriunda do ácido produzido pela fermentação dos carboidratos que se difundem no dente e dissolvem a

hidroxiapatita. A progressão da cárie está relacionada a fatores acidogênicos, disfunção salivar e carboidratos. Fatores protetores, que incluem níveis salivares de cálcio, fosfato e proteínas, o fluxo salivar, o fluoreto na saliva e agentes antibacterianos podem impedir ou reverter a doença. O fluoreto é o principal agente no combate à cárie, principalmente através do mecanismo de inibição da desmineralização, indução da remineralização, e da inibição de enzimas bacterianas.

Estudos realizados na década de 50 e 60 utilizando animais *germ-free* são evidências inequívocas sobre o papel da bactéria na etiologia da cárie dental. Essas investigações comprovaram a transmissibilidade da cárie e outros estudos ressaltaram a importância dos açúcares fermentáveis da dieta. As fissuras foram identificadas como locais mais propensos à lesão de cárie e nelas são detectados altos níveis de estreptococos do grupo mutans (FEJERSKOV; KIDD, 2005).

A cárie ocorre ao longo da interface entre o biofilme dental e a superfície do esmalte. A capacidade do biofilme para seqüestrar cálcio, fosfato e flúor a partir da saliva e fontes exógenas, permitem a remineralização do esmalte após períodos de desmineralização. Uma boa remineralização depende de exposição prolongada da superfície do esmalte ao cálcio, fosfato e fluoreto, cuja biodisponibilidade exógena pode alterar a cariogenicidade do biofilme dental (GARCÍA-GODOY; HICKS 2008).

2.3 Gengivite

Estudos *in vivo* mostraram que higiene meticulosa propicia saúde gengival, e com sua interrupção, é possível verificar acúmulo de placa e gengivite. Após o período de 10 a 21 dias sem higiene oral, se observa presença de inflamação gengival, sendo a gengiva saudável restituída poucos dias depois do retorno de uma correta higiene. Essa alteração gengival acontece graças aos produtos do metabolismo bacteriano, enzimas, toxinas e antígenos que acumulam na placa causando uma longa irritação que origina a reação inflamatória. A gengivite subclínica começa após 2-3 dias de acúmulo de placa, ou seja, muito antes de toda a complexa microbiota da placa estar presente (THEILADE, 1969).

O aspecto clínico da gengivite difere do tecido sadio sobre os seguintes aspectos: a cor da borda marginal é mais rosa ou vermelho-azulada; a morfologia gengival é freqüentemente modificada devido à presença de edema e, por esse

motivo, a superfície é mais lisa. Não há destruição das estruturas de suporte. Se o paciente tem gengivite, as gengivas podem sangrar com facilidade durante a escovação ou quando a sonda periodontal é inserida no sulco gengival. O tratamento, portanto, consiste na remoção do biofilme, além da eliminação de todos os sítios retentores de placa, como restaurações defeituosas, onde esses materiais podem aderir (THEILADE, 1971).

A gengivite é a mais comum e prevalente forma de doença periodontal em crianças e adolescentes. Sua incidência atinge um pico de prevalência de 80% dos 11 aos 13 anos de idade. Clinicamente, a gengivite é caracterizada por inflamação da gengiva marginal; radiograficamente, observa-se não haver perda detectável de osso. A gengiva marginal aparece vermelha (eritema), edemaciada e de fácil sangramento após a sondagem. Histologicamente, essa doença inflamatória é caracterizada por uma ulceração do sulco do epitélio e uma infiltração de células inflamatórias do tecido conjuntivo subjacente. O epitélio permanece na junção cimento-esmalte, e após a remoção da placa bacteriana, o processo da doença é revertido com remissão completa (DIBART, 1997).

É a partir da gengivite que evoluem a maioria das doenças periodontais. Estudos epidemiológicos têm demonstrado que a doença periodontal atinge a todos, adultos e crianças, e pode ter sua origem na infância; logo, a importância do diagnóstico e tratamento precoce. Dessa forma, Novais *et al.* (1997) realizaram um estudo em 500 crianças, entre 2 e 6 anos, de creches e escolas públicas de Aracajú (SE), com o objetivo de se conhecer as condições gengivais dessas crianças. Os resultados mostraram grande prevalência de crianças com gengivite (92,8%; n= 464). Mereceram destaque as meninas com 6 anos de idade, com 100% de prevalência contra 95,45% dos meninos da mesma idade. O estudo mostrou que a gengivite estava fortemente associada à má higiene oral, à erupção dentária e à respiração bucal.

O controle mecânico é a forma mais eficaz de remoção do biofilme, que está relacionado com a manutenção da saúde periodontal. Existe no mercado uma variedade de enxaguatórios bucais que não são muito claros aos usuários sobre a eficácia no controle da placa. Dottori *et al.* (2002) realizaram um estudo para esclarecer a função de 3 tipos de enxaguatórios bucais que existem no mercado, a clorexidina, cloreto de cetilpiridínio e o composto fenólico, onde se comprovou a clorexidina como sendo o melhor antimicrobiano para redução da placa bacteriana.

Entretanto, os efeitos colaterais limitam o seu uso prolongado. Já os compostos fenólicos e cloreto de cetilpiridínio apresentam baixa eficácia, o que impede de serem substitutos dos meios mecânicos.

2.4 Tratamento ortodôntico e a placa bacteriana

A remoção de placa bacteriana é essencial para a saúde oral, entretanto, na presença de aparatologia fixa ortodôntica, há um comprometimento dessa efetiva remoção, que pode levar à gengivite e um crescimento do tecido gengival (BAER, 1964¹, *apud* THIENPONT *et al.*, 2001).

Zachrisson, em 1975, afirmou que a aparatologia ortodôntica é considerada um fator de risco clínico para a integridade do esmalte dentário, devido ao acúmulo de placa bacteriana ao redor da base dos braquetes. Lesões de cárie por debaixo de bandas podem ocorrer devido ao afrouxamento ou má seleção das mesmas, cimentações deficientes, faltas de cimentação e cavidades não restauradas, enquanto desmineralizações adjacentes às bandas são causadas por uma alimentação inadequada e higiene bucal deficiente. Quaisquer que sejam as causas, o aumento do risco cárie demanda máxima utilização dos procedimentos preventivos, em particular para os doentes em áreas não fluoretadas, embora outras medidas também sejam importantes. O uso do fluoreto é a melhor abordagem para a prevenção da cárie dentária. Sua administração pode ser variada: gel, enxaguatórios, vernizes, dentifrícios, cimentos, água fluoretada, e incorporação de flúor nos elásticos ortodônticos.

Esse mesmo autor, em 1976, ressaltou que a não atenção do ortodontista para todos esses fatores faz com que haja o aparecimento de manchas brancas, desmineralizações dentárias, placa bacteriana e gengivite, com conseqüente interrupção do tratamento ortodôntico e risco no aumento do tempo de tratamento, interferindo, muitas vezes, até no resultado final do mesmo.

Gwinnett e Ceen (1979) observaram que um dos locais mais comuns de desmineralização do esmalte ocorreu na junção entre resina e colagem no esmalte, abaixo da base do braquete, devido, principalmente, ao excesso de resina. Nesses

¹ Baer PN, Coccaro PJ. Gingival enlargement coincident with orthodontic therapy. J Periodontol 1964;9:251-5.

locais, se encontrava placa bacteriana madura. Além da superfície da resina, os autores concluíram que o tamanho das partículas da resina e o tipo de retenção da base dos braquetes também influenciaram no acúmulo de placa bacteriana.

Estudando esse aspecto, Hirce *et al.* (1980) mencionaram que o alto risco começa desde a instalação com a desmineralização do esmalte pelo ataque ácido para os procedimentos adesivos na cimentação dos acessórios, passando pelo aumento da superfície de contato dos braquetes com os alimentos, dificultando a higienização.

Por conta desses aspectos, tornou-se cada vez mais importante a obtenção ou a prática de um meio eficiente e eficaz de se manter boa higiene em arcadas com aparatologia ortodôntica, vista a dificuldade de limpeza em torno dos aparelhos. Se não houver controle de placa, o risco de cárie e doença periodontal é aumentado (HAMP *et al.*, 1982).

Mizrahi, em 1982, declarou que um dos objetivos do tratamento ortodôntico é proporcionar, ao final do tratamento, uma estética agradável ao paciente, mas que o resultado esperado pode ser comprometido quando do aparecimento de manchas brancas.

Em 1987, Carvalho publicou um estudo das condições gengivais em pacientes portadores de aparelho ortodôntico fixo, tanto na técnica de bandagem quanto na colagem direta dos acessórios. Concluiu que em ambas as técnicas, o aparelho ortodôntico é um fator importante de alteração das condições gengivais, ou seja, pode favorecer o aparecimento da gengivite; a incidência e a severidade da doença decrescem com a remoção do aparelho; logo, é de suma necessidade cuidados especiais de higiene bucal nos pacientes com aparelhos fixos, independente da técnica de fixação empregada.

Em um estudo de 1988, Ogaard *et al.* concluíram que a descalcificação subjacente ou periférica às bandas ortodônticas representa um problema clínico e estético, pois as partículas alimentares e a placa bacteriana podem passar despercebidas ao exame visual. Afirmaram que as manchas visíveis por causa de braquetes e acessórios soltos desenvolvem-se num período de quatro semanas, intervalo de uma consulta para a outra. No mesmo ano, Maijer e Smith relacionaram a descalcificação com o longo tempo de tratamento ortodôntico e à deficiência de adaptação das bandas aos dentes.

A instalação do aparelho fixo ortodôntico faz com que haja um aumento do acúmulo de placa e com isso, um aumento da incidência da cárie e das doenças periodontais. Silva Filho *et al.* (1989) investigaram o possível aumento da patogenicidade a partir da avaliação de formação e metabolismo da placa bacteriana em pacientes portadores de aparelho ortodôntico fixo. As amostras de placa provieram de 32 pacientes portadores de aparelho, na faixa etária entre 12 e 19 anos. A partir dos resultados, os autores verificaram que houve uma tendência no aumento de placa em paciente com uso de aparelho ortodôntico, quando comparados ao grupo de pacientes não portadores de aparelhagem ortodôntica; a presença de aparelho ortodôntico não modificou a qualidade da placa no que se refere à fermentação e à síntese de polissacarídeos extracelulares insolúveis, *in vitro*. Os autores concluíram que pacientes portadores de aparelho fixo devem ser motivados a terem uma boa higiene bucal devido ao maior acúmulo de placa.

Com o intuito de se verificar o controle da placa bacteriana e da gengivite em pacientes de ortodontia com a aparelhagem fixa, em 1990, Carvalho e Lascaia realizaram uma pesquisa em 60 pacientes de ambos os sexos. Os voluntários foram divididos em 3 grupos; o primeiro realizou apenas escovação; o segundo e terceiro grupos realizaram escovação associada a bochechos com fluoreto de sódio (NaF) 0,05% e solução de Cepacol[®] (Sanofi-Aventis, Brasil), respectivamente. Cada indivíduo foi examinado clinicamente em 5 momentos: 1^o) após uma semana da colocação do aparelho; 2^o) seis meses após a 1^a medição; 3^o) um ano após a 1^a medição; 4^o) 30 dias antes da remoção do aparelho e; 5^o) 30 dias após a remoção. Os exames realizados para determinar o índice gengival e índice de placa bacteriana foram baseados nos métodos de Løe e Silness (1963) e Silness e Løe (1964), respectivamente. Comparando o exame inicial (1^o) e o exame final (5^o), os dois primeiros grupos apresentaram valores similares; entretanto, no grupo escovação mais Cepacol[®] observou-se uma diminuição acentuada de 29% no acúmulo de placa. Quanto ao índice gengival, todos os grupos apresentaram aumento no decorrer do estudo, até o 4^o exame. Após a remoção do aparelho os valores, dos 3 grupos retornaram aproximadamente aos valores iniciais do 1^o exame. Os autores concluíram que os bochechos com fluoreto e escovação não apresentaram vantagem, visto que não houve qualquer diferença durante o estudo. Entretanto, os bochechos com Cepacol[®] e escovação apresentaram resultados mais estáveis ao longo do experimento, em relação à placa bacteriana.

Sobre esse aspecto de aumento do acúmulo de placa e aparatologia ortodôntica, Rosenbloom e Tinanoff (1991) verificaram que esse fato também reflete nos níveis de estreptococos do grupo mutans na saliva. Se for levado em conta os anos de tratamento ortodôntico, essas bactérias possuem tempo suficiente para desenvolver cárie dentária.

Heintze (1996) ressaltou a obrigação do ortodontista de identificar os pacientes de alto risco e, conseqüentemente, tratá-los com medidas preventivas, principalmente uma profilaxia intensiva, uma vez que as características dos acessórios ortodônticos tornam o paciente de risco elevado para cárie e gengivite.

Souza *et al.*, em 1999, enfatizaram que indivíduos não apresentando boas condições de saúde bucal e/ou ao longo do tratamento ortodôntico mostram-se pouco colaboradores, devendo ser submetidos a um rígido controle preventivo, inclusive envolvendo métodos antimicrobianos. Como o objetivo da Ortodontia é atingir suas metas sem contudo provocar danos às estruturas bucais, é imprescindível que os pacientes requeiram cuidados preventivos especiais. Quando esses princípios são negligenciados, os danos podem ser consideráveis e os benefícios do tratamento ortodôntico questionáveis.

A ortodontia se desenvolve significativamente, tanto na parte técnica como na parte científica. Entretanto, a manutenção da higiene bucal pelo paciente continua sendo um dos maiores problemas ao longo do tratamento ortodôntico. Analisando esse conceito, Aarestrup e Guimarães (1999) desenvolveram um estudo com o objetivo de verificar a eficiência de um protocolo diagnóstico-preventivo, formulado com o intuito de reconhecer e estabelecer condutas terapêuticas específicas para pacientes de ortodontia a partir da contagem dos níveis salivares de *S. mutans*. Pré e pós-instalação do aparelho fixo, foi também verificada a capacidade tampão da saliva e o fluxo salivar. A fase de pré-tratamento contou com 40 pacientes, crianças e adultos de ambos os sexos, livres de lesão ativa de cárie. Todos foram submetidos ao exame laboratorial de análise de saliva (contagem de *S. mutans*, capacidade tampão e fluxo salivar). Os pacientes foram divididos em 2 grupos: A – pacientes com baixo risco de cárie (*S. mutans* abaixo de 100.000 UFC/mL de saliva), e B – pacientes com maior risco cárie (*S. mutans* acima de 100.000 UFC/mL de saliva). Como proposta terapêutica, os pacientes do grupo A foram orientados sobre higienização bucal com escova comum, escova interdental e fio dental. Nos pacientes do grupo B, além da orientação, foi realizada profilaxia com

jato d'água e bicarbonato de sódio, sob pressão, seguida de aplicação tópica de flúor-fosfato-acidulado 1,23%, durante 4 minutos. Decorridos 7 a 10 dias, foi realizada uma nova profilaxia profissional e aplicado clorexidina à 1%, em 3 aplicações de 5 minutos e intervalos de 5 minutos entre as aplicações. Após aproximadamente 60 dias, foram selecionados 4 pacientes de cada grupo para reavaliação dos exames laboratoriais. Os autores concluíram que após a instalação da aparatologia fixa, há uma diminuição do pH bucal, um aumento do fluxo salivar e um aumento do número de *S. mutans*. Pacientes com risco baixo de cárie (contagem baixa de *S. mutans*), a orientação de higiene bucal é suficiente para manter o risco baixo, enquanto o uso de antimicrobianos, fluoreto e clorexidina é a conduta mais eficaz em paciente de médio e alto risco de cárie (contagem alta de *S. mutans*). O protocolo diagnóstico-preventivo mostrou-se eficiente no controle da cárie dentária em pacientes ortodônticos.

Com o objetivo de qualificar o aparecimento de manchas brancas hipoplásicas nos pacientes em tratamento ortodôntico, Guidi e Roque (2001) avaliaram 110 pacientes da clínica odontológica da Umesp (Universidade Metodista de São Paulo), divididos em 2 grupos: 38 pacientes que utilizaram algum tipo de aparelho ortodôntico; e 72 pacientes que nunca utilizaram. Os autores constataram que de alguma forma, o aparelho ortodôntico aumenta a frequência de manchas brancas hipoplásicas, 2 vezes mais nos grupos dos incisivos, premolares e molares, e de, aproximadamente, 3 vezes no grupo dos caninos. Outra constatação foi a referência pelos pacientes de uma maior dificuldade na higienização dos dentes que receberam os acessórios ortodônticos.

Puppin Filho e Brunharo, em 2002, afirmaram que os pacientes de ortodontia têm o risco maior de desenvolver cárie dentária, e por isso, é de suma importância métodos para sua redução, tanto por parte do ortodontista como do paciente, com o controle da dieta e higienização. Ressaltaram, ainda, que as condições dos mesmos podem acelerar tal malefício, como por exemplo, nos casos de bandas mal adaptadas (subgingivais), excesso de resina em volta dos braquetes, o número de alças, inclusive a presença de disjuntores, arco lingual, grade palatina fixa, elásticos em cadeia e molas.

Rodrigues *et al.* (2004) realizaram uma pesquisa envolvendo 60 pacientes do Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais, da Universidade de São Paulo, com objetivo de determinar a incidência e severidade de manchas brancas

em dentes após a remoção do aparelho ortodôntico fixo. Os pacientes possuíam idade variando de 13 a 30 anos, e com duração mínima de tratamento de 22 e máxima de 108 meses. Os resultados obtidos mostraram que todos os pacientes apresentaram manchas brancas após o tratamento, sendo os dentes mais afetados na arcada superior, os primeiros molares superiores direitos (73,33%) e os primeiros molares esquerdos (68,33%), seguidos pelos premolares direitos (55,00%) e segundos esquerdos (50,00%); na arcada inferior, os primeiros molares direitos (50,00%) e os primeiros molares esquerdos (48,33%). Os dentes menos afetados da arcada foram os incisivos inferiores, com média de 10,42% de incidência. Os resultados também mostraram que o terço cervical da face vestibular foi o mais afetado de toda a arcada. Ao avaliar as faces, observou-se que a vestibular foi a mais afetada (61,91%), seguida da lingual (16,63%), mesial (9,55%), distal (8,14%), incisal (2,59%) e oclusal (1,18%). Os pesquisadores concluíram que a área mais afetada foi o terço cervical vestibular, visto que abriga grande parte da aparatologia fixa; a incidência e a intensidade das manchas brancas estavam diretamente relacionadas com a duração do tratamento, e os acessórios ortodônticos devem ser bem adaptados, mas também o excesso de material deve ser removido para evitar áreas retentivas.

A composição do biofilme pode diferir em relação a diferentes superfícies ortodônticas, conforme o tipo de material, elasticidade e topografia. As proteínas salivares apresentam afinidade pelos braquetes e ligaduras elásticas. Os *S. sobrinus* se acumulam principalmente sobre os elásticos, conforme verificaram Steinberg e Eyal, em 2004. No estudo, os autores concluíram que diferentes tipos de biofilmes são formados sobre as superfícies ortodônticas, de acordo a variação do tipo de material, a sua elasticidade e topografia. Diferença no perfil de absorção foi visto entre os diferentes tipos de elásticos ortodônticos. Molas absorveram menos quantidade de saliva e menos quantidade de biofilme, porém, os outros metais testados, como os braquetes, mostraram uma alta afinidade para bactérias e proteínas salivares. Os achados indicaram que o acúmulo inicial de biofilme sobre os aparelhos envolve processos que influenciam as propriedades do biofilme maduro depositado sobre essas superfícies.

Yassuda-Mattos e Rodrigues, em 2006, pesquisaram os níveis de estreptococos do grupo mutans (SM) e de lactobacilos em 75 pacientes em terapia ortodôntica com aparelhagem fixa, com idade entre 12 e 38 anos. Os resultados

mostraram que 37% dos pacientes (n=28) apresentaram altos níveis salivares desses microrganismos, elevada contagem de SM e lactobacilos (acima de $1,0 \times 10^5$ UFC/mL). Com isso, concluíram que os elevados níveis de bactérias encontrados, os tornam pacientes de alto risco à cárie dentária.

O tratamento ortodôntico pode proporcionar saúde e bem estar ao paciente pela correção do mau posicionamento dentário, apinhamentos e discrepâncias de bases ósseas, ou seja, situações que dificultam a correta higienização dos dentes e conseqüentemente, controle do biofilme, o que torna a Ortodontia uma especialidade que visa, no seu contexto final, a prevenção da doença cárie. Mas para o sucesso do tratamento ortodôntico é preciso, também, que os profissionais compreendam os riscos dos pacientes e a possibilidade de evitá-los ou monitorá-los mediante o controle rígido do biofilme através de técnicas de escovação, uso do fio dental e orientação dietética, além da aplicação tópica de flúor (dentifrícios, géis, vernizes e soluções para bochecho) e ainda, uso de cimentos que liberam flúor. Todas essas são condutas para manutenção da saúde bucal durante o tratamento ortodôntico (SUGUINO, 2006).

Conforme Olympio *et al.* (2006), no final do tratamento ortodôntico, podem ser encontradas áreas de desmineralização ou até cavitações sob braquetes e bandas, além da inflamação dos tecidos periodontais. Em pacientes com aparelhos fixos, a higiene bucal é difícil; as regiões mais críticas são as cervicais dos dentes bandados, enquanto nos dentes com braquetes são aquelas nos lados mesial e distal da base do braquete, que ficam localizadas na sombra do arco e de difícil acesso às cerdas das escovas. Os autores mencionaram que tais situações poderiam ser evitadas se o paciente fosse inserido em um programa educativo-preventivo, uma vez que o mesmo vai se submeter a um tratamento longo e mensal, ótima oportunidade de se criar hábitos saudáveis (escovação, dieta adequada, fio dental e educação do paciente sobre sua responsabilidade frente à sua saúde bucal). Agentes químicos, tais como fluoreto, clorexidina, cimentos de ionômero de vidro, cloreto de cetilpiridínio, são excelentes auxiliares na diminuição de placa bacteriana, principalmente em pacientes de ortodontia pouco colaboradores.

No mesmo ano, Brandão *et al.*, baseados no fato da aparatologia ortodôntica fixa promover maior acúmulo de placa e a maioria dos ortodontistas se preocuparem exclusivamente no tratamento em si, realizaram um estudo com 41 pacientes sob terapia ortodôntica com o objetivo de avaliar, através do índice de placa de Ciâncio

(1975) e Índice de Sangramento Gengival de Løe e Silness (1963), a eficácia do que chamaram de protocolo de orientação para controle de placa em pacientes portadores de aparelhos ortodônticos. Os resultados mostraram que pacientes de 8 a 12 anos apresentaram os maiores índices, assim como as faces vestibulares e os dentes posteriores foram as áreas mais afetadas. Concluíram que houve uma considerável redução nos índices de placa e sangramento gengival através do protocolo proposto aos pacientes que participaram da pesquisa.

Em 2007, Mattousch *et al.* realizaram um estudo *in vivo* com intuito de acompanhar e detectar, através de luz fluorescente, as lesões cáries imediatamente após a remoção do aparelho (T0), após 6 semanas (T1), 6 meses (T2), e 2 anos (T3). No T0, 370 superfícies cáries foram registradas. Durante o estudo, 16 lesões foram restauradas e três dentes foram extraídos por cárie, o que resultou em 351 lesões incluídas nesse estudo. O exame foi realizado nas superfícies vestibulares dos dentes de 51 indivíduos (24 homens e 27 mulheres) com idade igual ou superior a 12 anos de idade. As lesões variaram de incipiente (n = 227) à avançada (n = 6). De um modo geral, as lesões mostraram melhora entre T0 e T2 ($p < 0,01$), mas já não houve significativas melhorias no T3. Depois de 2 anos da remoção do aparelho, observou-se o agravamento de 35 lesões. A maioria das lesões (n=171) foi considerada como estáveis, e 145 lesões significativamente melhores, das quais apenas 10 lesões melhoraram a tal ponto que as mesmas desapareceram. Lesões brancas desenvolvidas durante o tratamento ortodôntico têm capacidade muito limitada de melhorar após a remoção do aparelho. Os resultados comprovaram que muitos pacientes desenvolveram manchas brancas durante o tratamento ortodôntico e que não desapareceram depois da remoção da aparatologia; entretanto, 255 das lesões mostraram alguma melhora, enquanto 15% pioraram depois de 2 anos de retenção. Os autores sugeriram ainda, que é necessário encontrar tratamentos preventivos mais eficazes que possam ser usados durante o tratamento com aparelho fixo.

2.5 Métodos preventivos em pacientes ortodônticos

Evidências científicas demonstram que apenas a escovação não é o suficiente para manter uma excelente higiene bucal, principalmente nos pacientes de ortodontia (ZACHRISSON, 1974).

Em 1977, Wisth e Nord desenvolveram uma pesquisa em 84 meninos e 73 meninas entre 17 e 18 anos de idade. Para 26 meninos e 26 meninas, utilizando aparelho ortodôntico fixo, foram dadas a instrução de higiene oral e prescrito o uso de bochecho diário de fluoreto de sódio à 0,05% durante todo o tratamento ortodôntico. O restante de meninos e meninas que não utilizavam aparelho ortodôntico serviu como controle. O objetivo do trabalho foi comparar as experiências de cárie nos dois grupos, após 1,5 à 2 anos da finalização do tratamento. Pode-se concluir que os pacientes que utilizaram bochecho diário de fluoreto de sódio à 0,05% e receberam instrução de higiene oral durante todo o tratamento apresentaram menos lesões de cárie após o término do tratamento ortodôntico.

Gorelick *et al.* (1982) recomendaram que os ortodontistas adotassem procedimentos preventivos, visto que após 3 meses da instalação da aparatologia, os níveis salivares de *S.mutans* e pH ultrapassam os valores encontrados antes da instalação. Em pacientes, com má higienização, é comum encontrar desmineralizações, até mesmo cavitações, ao redor dos braquetes e abaixo das bandas cimentadas. Os pesquisadores também observaram que os incisivos superiores têm a maior incidência de mancha branca, entretanto, as regiões linguais dos incisivos e caninos inferiores não apresentam esse tipo de lesão, mesmo após o uso prolongado da barra de contenção. O fato sugeriu uma relação de resistência entre o aparecimento de mancha branca e a proporção do fluido salivar.

Rosenbloom e Tinanoff (1991) demonstraram que pacientes de ortodontia apresentam alterações bucais como baixo pH e aumento de *S. mutans* pelo aumento da retenção de alimentos. Na mesma época, Dénes e Gabris (1991) preconizaram o uso de fluoreto durante o tratamento ortodôntico, a fim de reduzir significativamente as manchas brancas.

O papel do ortodontista não se limita apenas em movimentar os dentes e arranjos alinhados nas suas bases ósseas, mas também informar, instruir e motivar o paciente quanto aos bons hábitos de higiene bucal, assim como identificar os pacientes de alto e baixo risco de cárie, para posterior uso ou não de meios complementares de higiene bucal como, por exemplo, os antissépticos bucais. Entretanto, ainda não se chegou a um antimicrobiano ideal que possua todas as características desejáveis, sabor agradável, sem efeitos colaterais, destruído no trato gastrointestinal, prático e com substantividade (GARIB; UNGARO, 1997).

Puppin Filho e Brunharo, em 2002, pesquisaram o risco aos tecidos bucais nos tratamentos ortodônticos e chegaram à conclusão que os aparelhos elevam o risco devido ao aumento das retenções, dificultando com isso a higienização. Essa condição deve ser uma preocupação constante durante todo o tratamento. Cuidados na montagem podem reduzir esses riscos, mas a motivação, escovação, uso do fio dental, fluoroterapia e os bochechos com antimicrobianos devem ser sempre recomendados.

Matos *et al.* (2003) desenvolveram um trabalho com o objetivo de analisar os índices de placa e gengival de pacientes de ortodontia. A amostra foi composta de 66 pacientes de ambos os sexos, entre 10 a 20 anos de idade, divididos em 3 grupos (controle, grupo higiene mecânica e grupo clorexidina + flúor). A avaliação do índice de placa (IP) de Løe e Silness (1963) e do índice gengival (IG) de Silness e Løe (1964) foram avaliados antes de iniciar o experimento. Os dentes foram agrupados seguindo os seguintes códigos: D1 (dente livre de acessórios), D2 (dente relacionado apenas ao arco), D3 (dente com braquete) e D4 (dente com banda). Após 3 e 6 meses, o registro dos índices foi medido, levando-se em conta a presença ou o tipo de acessório no dente. O grupo controle (C) recebeu uma profilaxia dental, remoção de cálculo e excesso de material de colagem, em seguida foi aplicado flúor-fosfato-acidulado 1,23%. O grupo higiene mecânica (HM) recebeu, além dos mesmos procedimentos do grupo controle, um programa preventivo com instrução e motivação para uso de escova e fio dental. Já o grupo clorexidina (CHX) também recebeu os mesmos procedimentos dos outros grupos e, posteriormente, procederam 2 bochechos diários com 10mL de uma solução contendo flúor (0,05%) e clorexidina (0,12%). As maiores médias de índices de placa, sempre associados aos dentes bandados, foram 1,23 no grupo HM; 1,22 no grupo CHX + flúor; e 1,25 no grupo C, assim como as médias do IG (HM=1,47; CHX + flúor=1,45 e C=1,33). As maiores reduções de IG foram alcançados em dentes com braquetes (73,4%) e bandados (61,5%) do grupo CHX + flúor; e nos dentes associados ao arco (59,6%) e bandados (56,9%) do grupo HM. Quanto ao IG, as maiores reduções foram dentes com braquetes (81,3%) e livres de acessório (64,8%) no grupo CHX, enquanto no grupo HM, em dentes com braquetes (64,8%) e associados ao arco (63,1%). No grupo HM, houve uma redução nas médias para todos os acessórios, sendo o maior percentual de redução no código D2 (59,6%) e a menor D1 (33,9%). Os autores concluíram que sempre que a técnica permitir, deve-se optar pelo uso de braquetes

ao invés de bandas, e que apesar da redução dos índices pelos dois métodos de controle de placa, as maiores reduções foram obtidas pelo grupo clorexidina + flúor nos dentes com braquetes.

2.6 Própolis

Segundo Moreira (1986), foram Hitcchec e Borish (1907) que realizaram os primeiros estudos sobre a composição química da própolis no início do século XX, e puderam verificar que a própolis era constituída de 46% de resina, 27% de cera de abelha, 7% de princípios voláteis e 13% de impurezas, além de se fundir a 64° C e ser solúvel em álcool. A palavra própolis é originária do grego (pró = defesa e polis = cidade) e significa proteção, em defesa da colméia, cidade das abelhas. A partir de amostras brutas de própolis provenientes dos Estados de São Paulo e Minas Gerais, o autor determinou os teores de vitaminas e aminoácidos, e mostrou a presença de esteróides, pigmentos vegetais, óleos essenciais, ésteres de ácidos graxos e álcoois de cadeia longa na composição do produto.

A própolis é uma complexa mistura de substâncias que as abelhas coletam de muitas plantas e depositam em seus ninhos com o objetivo de fechar e eliminar as entradas de ar da colméia. É resinosa, aromática e consistente, com intervalo de fusão entre 64° a 69°C e coloração que varia de acordo com a flora de origem: amarelo-avermelhada, cinza, verde ou âmbar (BIRI; ALBERT, 1979¹ *apud* WOISKY *et al.*, 1994).

Ferreira *et al.*, em 1996, testaram a capacidade antibacteriana do extrato de própolis em várias diluições, quando colocadas com cepas bacterianas tipadas e padronizadas. Foram utilizados dois tipos de EEP, oriundas de Capão Redondo (SP) e Bragança Paulista (SP). Os EEP foram testados em diluições (1/10, 1/100, 1/1.000, 1/10.000, 1/100.000 e 1/1.000.000). Os resultados comprovaram poder antibacteriano contra bactérias gram-positivas, gram-negativas e bacilos gram-positivos esporulados, entretanto, os bacilos gram-negativos possuem uma resistência maior ao EEP, mesmo com média de redução de 75%. De acordo com a pesquisa, quanto maior o contato do EEP com a bactéria, melhor será o efeito antibacteriano. O experimento provou ainda que a própolis é um agente de redução

¹ Biri M, Albert JMA. Moderna criação de abelhas. Barcelona: De Vecchi, 1979.p.105.

e destruição bacteriana, podendo ser empregado em várias infecções causadas por *S.aureus*, *S.faecalis*, *E.coli* e *K. pneumoniae*, assim como um produto de antissepsia e desinfecção.

Quando extraída é bruta (amarga, aromática, fluida, pegajosa e de cor esverdeada ou marrom) e necessita de preparações utilizando etanol e água como solventes (extrato etanólico). A mata virgem alta e vegetação densa propiciam à própolis maior teor de flavonóides totais em mg/g do produto, como por exemplo, as regiões de Bragança Paulista (SP) (69,3mg/g) e Santa Luiza (MG) (75 mg/g) (KOO; PARK, 1996).

Marcucci, em 1996, em um artigo sobre as propriedades biológicas e terapêuticas dos constituintes químicos da própolis, destacou que essas atividades são devido a alguns componentes como os flavonóides, que possuem atividade espasmolítica (queratina, canferol e pectolinarigenina), antiinflamatória (acacetina), anti-úlceras (luteolina e apigenina) e anti-bacteriana (pinocembrina e galangina), além de derivados do ácido caféico que apresentam atividade anti-câncer. Apesar das propriedades, sua composição varia de acordo com a flora e as condições sazonais de uma área, o tempo de coleta e contaminantes. Essas variáveis impedem a definição qual o tipo de própolis indicada para uso medicinal. Para solucionar esse problema, seria indicada uma padronização através de um controle de qualidade dos produtos comercializados à base de própolis, como já acontece em alguns países.

Em 1997, Park *et al.* coletaram 46 amostras de própolis de *Apis mellifera* de várias localidades das regiões sul (Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul), centro-oeste (Goiás e Mato Grosso do Sul) e sudeste do Brasil (Minas Gerais e São Paulo). Após obtenção do extrato etanólico de própolis (EEP) a 80% e da análise da concentração total de flavonóides e suas identificações, os autores chegaram à conclusão que as própolis das regiões do sudeste e centro-oeste eram similares, contendo maior qualidade e quantidade de flavonóides quando comparados às própolis da região sul. Entretanto, na análise microbiológica, todos os EEP's inibiram o crescimento do *Staphylococcus aureus*, mas não de *Escherichia coli*.

Partindo de aproximadamente 100g de própolis coletada por abelhas da espécie *Apis mellifera*, obtida do Estado de Minas Gerais, Park *et al.* (1998) analisaram os extratos etanólico e aquoso quanto suas propriedades antioxidante, antimicrobianas e antiinflamatória, e também verificaram a concentração de flavonóides aglicanas em relação a concentração do etanol utilizado como solvente

extrator, bem como sua comparação com o extrato aquoso. A maioria dos flavonóides foi extraída nas concentrações alcólicas entre 60 a 80%. Os resultados mostraram que os extratos etanólicos inibiram satisfatoriamente o crescimento microbiano; os extratos etanólicos 70 a 80% apresentaram grande atividade antioxidante e o extrato etanólico a 80% inibiu a atividade da enzima hialuronidase. Concluíram que existe uma grande variação na concentração de flavonóides entre os extratos.

Em 2008, Peña afirmou que as propriedades biológicas e farmacológicas mais estudadas da própolis são antiinflamatória, antioxidante, anti-séptica e antineoplásica. Devido à diversidade de própolis e a variabilidade de seus componentes, é necessário que exista um protocolo padronizado para que se obtenha informações biológicas e farmacológicas, a fim de produzir medicamentos de eficácia e de segurança terapêutica.

Quanto à atividade farmacológica, essa é devido aos compostos fenólicos, como os flavonóides, que apresentam uma gama de atividades biológicas, incluindo antibacteriana, antivirais, antiinflamatórias, antialérgicas e vasodilatadoras. Além de inibirem a peroxidação lipídica, a agregação plaquetária, a fragilidade e permeabilidade capilar, inibe também a atividade enzimática (VIUDA-MARTOS *et al.*, 2008).

2.6.1 Própolis em Odontologia

A atividade antimicrobiana da própolis foi estudada sobre *Streptococcus pyogenes*, microbiota da cavidade bucal e fungos produtores de micotoxinas, em 1987, por Vicente e Hirooka. Observaram que a concentração de 0,5% e 1,0% inibiu o crescimento de bactérias orais apenas até o 2º dia, cessando o seu efeito inibitório após 72 horas nas concentrações baixas, e que a adição de etanol em placa controle sem própolis, não interferiu no crescimento de microrganismos da cavidade bucal. Concluíram que a própolis demonstrou ação bacteriostática de pouca duração.

Silveira *et al.* (1988) realizaram uma pesquisa com o intuito de conhecer os efeitos da própolis no tratamento de gengivite crônica e úlceras bucais. A amostra contou com 40 pacientes divididos em 2 grupos; 20 pacientes para tratamento de gengivite e os outros 20 para tratamento de úlcera. Todos receberam instrução de

higiene oral. Os hemiarcos, superior direito e o inferior esquerdo, receberam irrigação de própolis 50%, e os hemiarcos opostos (controle) receberam aplicação com álcool etílico 95°. As aplicações foram realizadas 3 vezes/semana em dias alternados, durante 1 mês. Para saber as condições gengivais e de higiene oral, os pacientes foram examinados antes e depois das aplicações, baseados no índice gengival de Løe (1963) e o índice de higiene de Love (1975). Após os 30 dias, observou-se a redução da severidade das gengivites e melhora das úlceras, quando comparadas com o grupo controle. Os autores chegaram à conclusão que os efeitos antimicrobianos da própolis sobre as bactérias gram-positivas da placa supragengival parecem favorecer a recuperação do tecido gengival, e que os mesmos efeitos antimicrobianos, cicatrizantes, anestésicos e a resposta imune local à própolis, parecem promover a regressão mais rápida dos sintomas dolorosos e uma melhor recuperação das úlceras.

Em 1991, Ikeno et al. estudaram o efeito da própolis sobre o crescimento de SM e na inibição da síntese de GTF. Na primeira investigação, os autores verificaram que o EEP 99,5% inibiu o crescimento das populações das bactérias testadas, assim como reduziram a síntese enzimática (40% para *S.sobrinus* e *S.cricetus*, e 60% para *S.mutans*). Na segunda etapa do estudo, desenvolvida em animais, os autores verificaram redução significativa da atividade de cárie no grupo tratado com própolis ($p=0,01$), sendo essa redução da ordem de 56,2%. O mesmo aconteceu em relação à GTF, que foi inibida na ordem de 62,2%. Vale ressaltar que todos os ratos foram infectados com *S. sobrinus* e receberam a mesma dieta.

A partir de balas contendo extrato de própolis de *Apis mellifera* (coletada no Estado do Paraná), óleos essenciais, aromatizantes, sacarose e glicose, Woisky et al. (1994) verificaram, em um estudo *in vitro*, a ação antibacteriana da própolis em concentrações de 2,5%; 1,0% e 0,625%. Foram analisadas bactérias gram-positivas: *Streptococcus* β -hemolítico do grupo A, cepas diferentes de *Staphylococcus aureus* e de *S. epidermidis*, além das bactérias gram-negativas, *Proteus mirabilis*, *Proteus sp.*, e cepas diferentes de *Pseudomonas aeruginosa* e de *Escherichia coli*. O experimento mostrou que as bactérias gram-negativas foram resistentes à própolis contida nas balas, entretanto, a ação inibitória sobre bactérias gram-positivas foi devida, exclusivamente, à ação antibacteriana da própolis e não dos outros componentes da formulação.

Em 1996, Gebara *et al.* sugeriram maiores estudos com o tomilho, cacau e própolis para o uso preventivo de cáries em humanos. Os autores analisaram a atividade antibacteriana de tinturas contra *S.mutans* e *S.sobrinus*. Verificaram que as mesmas apresentaram ação antibacteriana e foram capazes de inibir a adesão de *S.mutans* e *S. sobrinus*, observados os valores de concentração inibitória de aderência (CIMA) 0,02; 0,04 e 0,01mg/mL para tomilho, cacau e própolis, respectivamente. Para *S.mutans*, as CIM (concentração inibitória mínima) foram 0,06 mg/mL para tomilho, 0,10mg/mL para cacau e 0,04mg/mL para própolis, e com *S. sobrinus* 0,04; 0,12 e 0,02 mg/mL, respectivamente.

Ota *et al.*, em 1998, testaram a atividade antibacteriana da própolis em amostras padrão de bactérias recém isoladas da cavidade bucal: *Lactobacillus sp*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus* e *Streptococcus mutans*. As concentrações de própolis variaram entre 1mg/mL a 10mg/mL. Após os resultados, observaram que a própolis mostrou atividade antibacteriana, *in vitro*, sobre todas as cepas testadas. Esses resultados indicaram a possibilidade do uso da própolis em infecções causadas por tais bactérias, incluindo o combate e o controle da cárie.

Em um ensaio duplo-cego realizado em 1999 por Panzeri *et al.*, foi mostrado que um dentífrico contendo própolis a 3% foi capaz de melhorar significativamente ($p < 0,05$) a condição gengival dos voluntários que utilizaram o produto. Essa ação foi verificada através da mensuração do Índice Gengival (Silness e Løe, 1967) realizada antes, 15 e 30 dias após o uso do dentífrico. No ensaio microbiológico, os autores verificaram que o dentífrico inibiu cocos gram-positivos, bastonetes gram-negativos e *Enterococcus faecalis*.

Frente à comprovada ação antimicrobiana da própolis até então, e consagrada efetividade dos fluoretos em reduzir a perda mineral do esmalte dentário, Zárate-Pereira decidiu, em 1999, unir os dois produtos em uma única solução, a fim de testar sua capacidade anticariogênica, do ponto de vista microbiológico. Para tanto, selecionou 2 grupos, com 15 crianças cada, portadoras de cárie ativa. No grupo controle, foi ministrado bochechos com NaF 0,05%, durante 15 dias, e no grupo teste, bochechos com solução de própolis 5% acrescida de NaF 0,05%, durante o mesmo período. Foram comparados os níveis salivares de SM, antes e após os bochechos e entre os grupos. Os resultados revelaram que a solução de própolis 5% + NaF 0,05% reduziu significativamente ($p < 0,1$) a população de SM, quando comparada à solução NaF 0,05%. O autor verificou que após 7 e 15

dias do término dos bochechos, os níveis de SM tendiam aos valores iniciais. Com a redução de 64% dos níveis salivares de SM, esse estudo abriu a possibilidade de se investigar a redução da perda mineral utilizando-se própolis associada ao fluoreto.

Koo *et al.* (2000) coletaram própolis dos estados brasileiros, Rio Grande do Sul e Minas Gerais. Ambos os EEP's nas concentrações entre 7,5% e 3,0mg/mL mostraram resultados satisfatórios na inibição de formação das glicosiltransferases, enzimas produzidas pelas bactérias com o objetivo de síntese de polímeros bacterianos, importantes para a maturação da placa bacteriana e no processo de des x re.

Em um trabalho de revisão de literatura a respeito da capacidade antibacteriana da própolis contra os patógenos periodontais e da cárie, Swerts *et al.* (2002) verificaram que a atividade antibacteriana vai depender do local da coleta, da espécie da abelha coletora e do preparo da solução. Observaram capacidade antibacteriana *in vitro* contra bactérias cariogênicas e patógenos periodontais; verificaram também que apesar da pequena substantividade, a própolis inibe a enzima glicosiltransferase.

Gebara *et al.* (2002) obteve excelentes resultados do extrato de própolis, frente às espécies de bactérias da doença periodontal, *Prevotella intermedia* (CIM 0,25µg/mL), *Prevotella melaninogenica* (CIM 0,25µg/mL), *Porphyromonas gingivallis* (CIM 1µg/mL), *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (CIM 1µg/mL) e *Capnocytophaga gingivallis* (CIM 1µg/mL).

Em 2002, Koo *et al.*, em estudo com 6 voluntários, avaliaram a eficácia do uso de enxaguatório com própolis 3%, comparando-a com placebo. O estudo foi dividido em duas fases de 3 dias, nos quais suspenderam a higiene oral e realizavam bochechos com sacarose 20%, cinco vezes ao dia, e bochechos com própolis 3% ou placebo, 2 vezes ao dia para remover placa formada. No quarto dia, foi mensurado o índice de placa. O IP do grupo de própolis apresentou uma redução de 61,7%, estatisticamente significante ($p < 0,05$) em relação ao grupo controle; o grupo controle ainda apresentou menos que 5% das superfícies livres de placa depois de 3 dias sem um controle mecânico, enquanto o grupo experimental apresentou aproximadamente 30% de superfícies limpas. Já o IP do grupo da própolis reduziu 44,7%, estatisticamente significante ($p < 0,001$) em relação ao grupo controle. Os autores concluíram que o bochecho à base de própolis 3% reduziu a placa supragengival e a concentração de polissacarídeos insolúveis.

A fim de ampliar o conhecimento sobre a solução proposta em 1999, Zárate-Pereira (2003) verificou, através de um estudo *in situ*, a capacidade da própolis 5% associada ao NaF 0,05% em reduzir a perda mineral do esmalte e os níveis salivares de SM, LB, estreptococos totais e totais de MO viáveis no biofilme dental. Na primeira fase do estudo, os voluntários realizaram desafio cariogênico com sacarose 20%, durante 28 dias. Na segunda fase, além do desafio cariogênico, os voluntários gotejaram solução de própolis 5% + NaF 0,05%. Verificou-se redução significativa dos níveis salivares das bactérias testadas ($p < 0,05$). A redução da perda mineral, verificada através do ensaio de microdureza Knoop, também mostrou redução significativa ($p < 0,05$) de 135,6 KHN a 42,1 KHN, nas duas fases respectivamente.

A associação fluoreto e própolis foi posteriormente testada por Koo *et al.* (2005), em um estudo com animais. Os autores associaram o fluoreto a dois componentes da própolis, o apigenin (potente inibidor da síntese das glucanos insolúveis) e ao tt-farnesol (inibidor da produção de ácido dos estreptococos) e verificaram sua ação sobre biofilme formado em laboratório. Nas primeiras 24 horas após a formação, os biofilmes foram tratados duas vezes por dia; em seguida, até o quinto dia do período do experimento, com uma das seguintes soluções: (1) 5mM tt-farnesol (Far); (2) apigenina 1mM (API); (3) 250 ppm de fluoreto (F); (4) Far + F; (5) Api + F; (6) Api + Far + F; (7) veículo controle ou clorexidina (CHX) + F (como controle positivo). Todos os agentes testados, com exceção do flúor isolado, diminuíram o acúmulo de biofilme quando comparados com a solução controle ($p < 0,05$). As combinações de Api + F, e Api + Far + F foram mais efetivas no tratamento com 40,7% e 50,6% menos biomassa, respectivamente. Nenhum dos agentes testados apresentou ação bactericida. A quantidade de glucanos insolúveis no biofilme tratados com Ap + Far, sozinhos e associados, foi significativamente menor que a solução controle ($p < 0,05$). A combinação de Api + F e Api + Far + F foram mais efetivos que cada agente isolado ($p < 0,05$). No experimento animal, ratos foram infectados por SM (UA 159), e colocados aleatoriamente em 8 grupos de 12 animais, tratados duas vezes por dia. Para cada grupo foi fornecida uma dieta contendo 56% de sacarose e 5% de sacarose/água *ad libitum*. O percentual de SM na placa dos animais foi semelhante entre todos os grupos e variou de 19,1% a 25,4%. Entretanto, o grupo tratado com CHX + F exibiu contagem significativamente menor quando comparados com o grupo controle ($p < 0,05$). A incidência de cárie em

superfícies lisas foi reduzida em todos os grupos comparados com o grupo controle, com redução de 30 a 75% ($p < 0,05$), com exceção do grupo com 5mM tt-farnesol. Os autores concluíram que a combinação das substâncias testes com fluoreto foi mais efetiva na prevenção de cáries em ratos, especialmente Api + Far + F, cujos resultados foram comparados com clorexidina + fluoreto, comprovando que a apigenin e o tt-farnesol podem aumentar a eficácia cariostática do flúor.

No mesmo ano, Sabir *et al.* realizaram um estudo, com 9 ratos, divididos em 3 grupos, tratados com capeamento pulpar direto. O grupo I foi tratado com óxido de zinco-eugenol, os grupos II e III com própolis com e sem flavonóides, respectivamente. Os animais foram sacrificados em intervalos de 1, 2 ou 4 semanas, e a região trabalhada era avaliada microscopicamente. Os resultados histológicos mostraram que os grupos I e III apresentaram inflamação pulpar em 1 semana, ao contrário do grupo II, tratado à base de própolis com flavonóides, que apresentou leve e moderada inflamação pulpar em 2 e 4 semanas respectivamente; quanto a formação de ponte de dentina, somente o grupo II a apresentou parcialmente com 4 semanas. Os autores concluíram que o capeamento à base de própolis com flavonóides atrasa a inflamação pulpar e estimula a reparação de dentina.

Swerts *et al.*, em 2005, avaliaram *in vitro*, a inibição da aderência do *Streptococcus spp.* a partir de 3 soluções: associação de digluconato de clorexidina 0,12% e solução de própolis 0,12%; solução de própolis 0,12% (Apis Flora[®]); e solução de digluconato de clorexidina a 0,12% (Periogard[®], Colgate). Os resultados mostraram que a aderência de *S. mutans* e *S. sanguis* foi reduzida em presença da solução de digluconato de clorexidina e da solução associada, não diferindo estatisticamente ($p > 0,05$). Entretanto, as mesmas concentrações de solução associada não surtiram efeito inibitório para cepas de *S. salivarius*. A solução de própolis a 0,12% inibiu tais cepas com elevadíssimas concentrações; 1600 μ g/mL, 3200 μ g/mL e 2650 μ g/mL para *S. mutans*, *S. salivarius* e *S. sanguis*, respectivamente. Comparativamente, a solução de digluconato de clorexidina a 0,12% inibiu as mesmas cepas de *S. mutans*, *S. salivarius* e *S. sanguis*, em concentrações muito menores; respectivamente, 0,2 μ g/mL, 0,9 μ g/mL e 1,5 μ g/mL. Concluíram que as soluções de digluconato de clorexidina e solução associada inibiram drasticamente a aderência de *S. mutans* e *S. sanguis*; em contra partida, a solução associada foi mais eficaz contra *S. salivarius*.

Um ensaio clínico para avaliar uma solução anti-séptica de extrato de própolis sobre índices de higiene oral e contagem de *S. mutans* foi desenvolvido por Almeida *et al.*, em 2006. Quinze crianças bochecharam 2 soluções separadamente (solução de própolis a 6,25% e clorexidina a 0,12%) por quinze dias num intervalo de 21 dias de uma fase para a outra. O índice de sangramento gengival (ISG) e índice de higiene oral simplificado (IHOS) foram mensurados antes, e após 24 horas, 7 dias, 15 dias e 21 dias do término do último bochecho de cada solução. Após o uso das soluções, os resultados demonstraram redução significativa de SM nos tempos 24 horas ($p < 0,001$), 7 dias ($p < 0,05$) e 15 dias ($p < 0,05$). Os resultados mostraram que decorridos os 21 dias de intervalo, os níveis bacterianos se mostraram próximos aos iniciais, não identificando diferença significativa entre as soluções. Em relação ao desempenho das soluções, apesar da redução significativa da própolis na condição gengival ($p < 0,05$), a clorexidina apresentou maior poder inibitório ($p < 0,01$). Através do IHOS, verificou-se que a solução de própolis promoveu uma redução não significativa ($p > 0,05$), diferente da clorexidina ($p < 0,05$). Os autores concluíram que a solução de própolis a 6,25% demonstrou ser um bom anti-séptico bucal com comportamento semelhante a clorexidina, reduzindo significativamente os níveis de *S. mutans* e atuando sobre as condições gengivais e acúmulo de biofilme.

A associação própolis 5% e fluoreto de sódio 0,05% foi também avaliada por De Carli, em 2007. A associação em forma de gel foi avaliada *in vivo*, sobre o acúmulo de biofilme, níveis salivares de *S. mutans* e inativação de manchas brancas. A amostra foi composta por 97 crianças de ambos os gêneros, com idade de 6 a 12 anos, divididas em 2 grupos; o primeiro utilizou o gel com a associação de própolis e fluoreto, enquanto o segundo grupo, somente solução de própolis a 5%. Foram realizadas 4 aplicações consecutivas dos géis (uma vez por semana, durante quatro semanas). Os resultados mostraram que tanto nos indivíduos que fizeram uso do gel de Própolis 5% + NaF 0,05%, como aqueles que utilizaram apenas o gel de Própolis 5%, houve redução significativa ($p < 0,0001$) da média de UFC de SM. Foi verificada a presença de 71 manchas brancas ativas à época da seleção da amostra, estando 43,6% ($n=31$) nos indivíduos do Grupo I e 56,4% ($n=40$) nos indivíduos do Grupo II. Após a aplicação houve uma redução para 38 manchas brancas, ficando 7,8% ($n=3$) nos indivíduos do grupo I e 92,2% ($n=35$) para os do grupo II. Independente do gel aplicado, observou-se redução do acúmulo do biofilme

para ambos os grupos, com diferença significativa entre IHO-S₂ e IHO-S₁ (p=0,01). O autor concluiu que o gel composto de Própolis 5% + NaF 0,05% reduziu o acúmulo do biofilme dental de forma similar ao gel composto somente de própolis 5%, e que o mesmo reduziu significativamente os níveis salivares de *Streptococcus mutans*, além de reequilibrar o processo DES-RE, inativando manchas brancas.

No mesmo ano, Duailibe *et al.* também verificaram que a própolis apresenta atividade antibacteriana *in vivo*, indicando o seu uso na prevenção à cárie dentária. Essa conclusão foi obtida a partir de um ensaio clínico com 41 voluntários, na faixa etária de 11 a 30 anos, que realizaram bochechos com solução de própolis, 3 vezes por dia, durante 7 dias. Verificaram redução dos níveis salivares de *S.mutans* na ordem de 49% de todas as amostras de saliva recolhidas, sendo que uma hora após o primeiro enxágüe, verificou-se uma redução de 62% no crescimento de *S.mutans*.

Em 2007, através de um estudo comparativo do efeito antimicrobiano sobre as bactérias testadas, onde se dividiu em 4 grupos de medicação intracanal : EEP 10%, hidróxido de cálcio, paramonoclorofenol, formocresol e um grupo com apenas etanol; Ferreira *et al.* concluíram que o etanol não influenciou o efeito antimicrobiano do EEP.

Comparado com os produtos industrializados Paradontax[®] (Smithkline, Reino Unido), Periogard[®] (Colgate, Brasil), Listerine[®] (Jonhson & Jonhson, Brasil) e Malvatricin[®] (Laboratório Daudt Oliveira, Brasil), os extratos de própolis apresentam a mesma eficácia antimicrobiana, de acordo com o estudo de Simões *et al.*, realizado em 2008. No ensaio clínico, participaram 30 doadores de saliva que atenderam as exigências relativas às condições de saúde geral e bucal, como ausência de lesões de cárie. Os voluntários foram submetidos ao exame salivar para avaliação do fluxo e da capacidade de tamponamento. Na primeira fase, foi avaliada a ação, *in vitro*, dos extratos de própolis a 11%, 20% e 30%, do Periogard[®], Listerine[®], Malvatricin[®] e Parodontax[®]. O protocolo experimental foi elaborado tendo-se como fundamentação a determinação do possível efeito antimicrobiano das diferentes concentrações do extrato de própolis, comparativamente aos enxagüatórios contendo os princípios ativos clorexidina, timol e tirotricina. Na fase *in vivo*, foram coletadas as amostras de saliva de cada voluntário. Após os testes laboratorial e experimental, os autores concluíram que o extrato de própolis a 11% parece ser o mais indicado, devido a sua baixa concentração e ao fato de os demais extratos apresentarem a mesma eficácia antimicrobiana. Em relação à comparação

da eficácia dos extratos de própolis com os produtos industrializados, os autores concluíram que possuem a mesma eficácia antimicrobiana.

Em 2008, Rezende *et al.*, em estudo *in vitro*, testaram a atividade antibacteriana de duas pastas com extrato de própolis 11% (Apis Flora[®]) associada com hidróxido de cálcio (Biodinâmica[®]), com e sem etanol, em infecções endodônticas de primeiros molares necrosados e fistulados, em 16 crianças de 4 a 8 anos de idade, de ambos os sexos. O grupo controle positivo utilizou uma pasta de hidróxido de cálcio e propilenoglicol. Os resultados apontaram que as associações de própolis com hidróxido de cálcio, com e sem álcool, foram mais efetivas para o controle da infecção ($p=0,021$ e $p=0,003$, respectivamente) quando comparadas ao grupo controle. Na comparação entre si, a pasta sem álcool apresentou maior zona de inibição contra os microrganismos ($p=0,053$). Os autores concluíram que a associação entre hidróxido de cálcio e própolis foi efetiva no controle de infecções dentárias, *in vitro*.

Parma Neto, em 2008, pesquisou *in vitro*, a capacidade do extrato de própolis quanto à inibição de bactérias periodontopatogênicas em forma planctônica e em biofilmes, além de comparar 3 tipos de própolis (vermelha, verde e resinosa) oriundas do Estado de Mato Grosso do Sul. As própolis foram testadas frente às cepas de bactérias anaeróbicas facultativas - *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus sanguinis* e *Escherichia coli*, além de cepas clínicas de bactérias periodontopatogênicas, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e *Porphyromonas gingivalis*. Para os ensaios de biofilmes, foram utilizadas culturas mistas proveniente de bolsas periodontais de pacientes com periodontite severa. A partir dos resultados, o autor concluiu que a própolis verde foi ativa contra os periodontopatógenos nas concentrações de 1,6 µg/mL, 3276,8 µg/mL e contra biofilmes 4,0µg/mL.

Koo, em 2008, estudou moléculas naturais como alternativa para agentes antibiofilme, através da associação de apigenin, tt-farnesol (componentes da própolis) e fluoreto quando comparados com as mesmas soluções isoladamente, e pode-se observar que a associação das substâncias foi mais efetiva no controle *in vitro*, no biofilme de *S.mutans*. Nesse estudo também revisaram a mesma associação no desenvolvimento de cáries em ratos e pode-se observar a eficácia dessa associação quando comparados com o grupo controle positivo (clorexidina + fluoreto). Os autores sugeriram que a eficácia do flúor poderia ser reforçada por outras substâncias que afetam a virulência de bactérias e/ou aumentar os efeitos

antibacterianos do flúor. Em continuidade a pesquisa anterior, Koo e Jeon, em 2009, reforçaram a idéia da importância em se pesquisar outras substâncias naturais inexploradas, que possam ser desenvolvidos novos quimioterápicos que intensifiquem a ação biológica do fluoreto contra biofilmes.

3 OBJETIVOS

Frente à comprovada ação antibacteriana da própolis e a ausência de estudos semelhantes, este estudo tem o objetivo de avaliar a ação da própolis de *Apis mellifera* no controle do biofilme, da gengivite e do risco de cárie dentária, em pacientes sob tratamento ortodôntico.

4 MATERIAIS E MÉTODO

4.1 Aspectos éticos

Este trabalho foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UFMS, sob protocolo nº 914 (Anexo A). Previamente à realização da fase experimental, todos os voluntários receberam os esclarecimentos necessários e assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Apêndice A).

4.2 Obtenção das soluções experimentais

Foram obtidas 892 g de própolis bruta, tipo verde, oriunda de Ivinhema (MS) junto ao Apiário Vovô Pedro em Campo Grande (MS), originada da espécie botânica *Baccharis dracunculifolia* (alecrim do campo). A amostra de própolis, até a preparação dos extratos, foi armazenada em sacos plásticos hermeticamente fechados sob temperatura de 4°C. Após trituração manual foi acrescentado etanol PA (CHEMCO, Brasil). Em seguida, a solução foi levada ao ultrassom (THORNTON, MODELO T14, USA) para uma extração efetiva dos constituintes da própolis. Procedeu-se a filtragem em papel absorvente e acrescentou-se etanol de forma a cobrir o precipitado, sendo novamente levado ao ultrassom. Esse processo foi repetido 5 vezes e o precipitado obtido foi levado ao rotaevaporador (FISATOM, USA) para remoção do etanol, obtendo-se o extrato etanólico bruto da própolis (EEBP), com massa de 405g. A este foi acrescentado hexano para separação da parte apolar da polar, porção que contém os constituintes moleculares de classe antimicrobiana – flavonóides e terpenos. O EEBP foi dividido em fração hexânica e fração etanólica, chamada essa última de extrato etanólico de própolis (EEP). Foi preparada uma solução com água destilada e álcool cereais PA (80:20), acrescentando 50 g de própolis

em 1000mL dessa solução, obtendo-se assim, a solução hidroalcoólica de própolis 5 % (solução-mãe), CBM conforme Zárte-Pereira (1999), Zárte-Pereira (2003), De Carli (2007) e Parma-Neto (2008).

O ensaio piloto revelou uma solução altamente adstringente; a fim de possibilitar seu uso no ensaio clínico, optou-se pela sua diluição em água, obtendo-se uma solução hidroalcoólica de própolis 2,5%, possível de ser utilizada nos bochechos. A partir desta solução, foi preparada a associação própolis e fluoreto, acrescentado à primeira, fluoreto de sódio (NaF) 0,05%. Ambas as soluções foram mantidas sob refrigeração até o momento do uso, a fim de se evitar a evaporação do álcool de cereais. A Figura 1 resume a fase de obtenção das soluções.

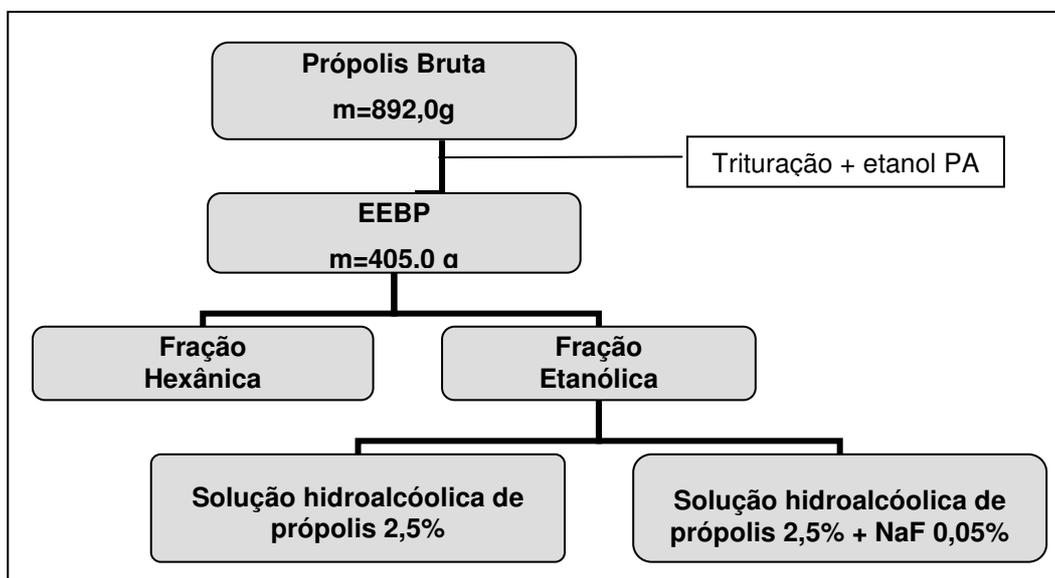


Figura 1 – Seqüência dos procedimentos para obtenção das soluções.

4.3 Sujeitos da pesquisa

Foram selecionados para o estudo, 56 pacientes em tratamento no curso de pós-graduação em Ortodontia da Base Aérea de Campo Grande-MS, portadores de aparelho ortodôntico fixo, metálico, com o mínimo de um ano de tratamento, na faixa etária de 12 a 40 anos de idade. Para participarem da pesquisa, os voluntários deveriam estar com todos os dentes irrompidos, alinhados, nivelados, além de no máximo quatro dentes ausentes nas arcadas.

Foram considerados critérios de exclusão a presença de condições sistêmicas patológicas (diabetes, hipertensão, cardiopatias) e uso de antimicrobianos nos últimos seis meses que antecederam o início da fase experimental. Os voluntários preencheram um questionário a fim de se verificar quais os hábitos alimentares e de higiene, uso de medicamentos e colutórios (Apêndice B).

4.4 Procedimentos clínicos

O risco de cárie dos voluntários foi determinado através do índice de placa ortodôntico (IPO) de Heintze (1999), após evidenciação da placa com fucsina 2% (Figura 2); níveis salivares de estreptococos do grupo mutans (KÖLLER; BRATHALL, 1979) expressos em Unidades Formadoras de Colônia de SM (Figura 3); e presença de lesões incipientes de cárie dentária (mancha branca – Figura 4). O risco à doença periodontal foi determinado pela presença de gengivite, verificado de acordo com o índice de Løe e Silness (1963). Os procedimentos são descritos no Apêndice C. Os critérios de classificação dos pacientes, conforme o risco à cárie e doença periodontal, são mostrados na Figura 5.



Figura 2 – Revelação de placa para obtenção do IPO.

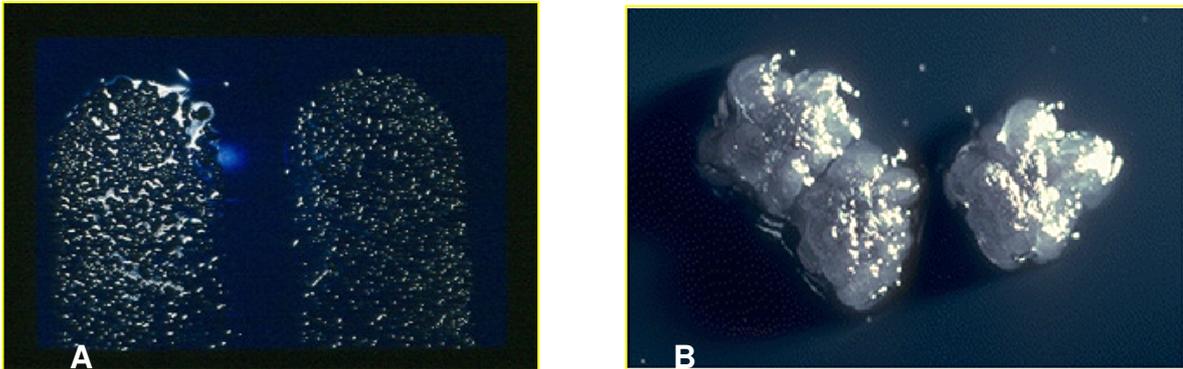


Figura 3 – UFC de SM. Em A – crescimento de colônias no meio mitis salivarius bacitracina. Em B – detalhe da UFC (aumento de 10x). Gentileza: Prof. Paulo Zárate.



Figura 4 – Lesão incipiente de cárie (mancha branca). Gentileza: Prof. Paulo Zárate.

Após a classificação quanto ao risco à cárie dentária e doença periodontal, os voluntários foram distribuídos em três grupos, conforme o *status* de risco (Figura 6). Todos os voluntários fizeram bochechos com 10mL da solução indicada para o grupo o qual pertencia. Os bochechos foram realizados durante 14 dias, após a última higienização bucal diária.

| Status quanto ao risco | CÁRIE | | | DOENÇA PERIODONTAL |
|------------------------|----------|----------------------|---------|--------------------|
| | MB | EGM | IPO | IG |
| Alto | ≥ 1 | $>10^6$ UFC/mL | > 50 | 2,1 - 3,0 |
| Médio | - | $10^5 - 10^6$ UFC/mL | 26 - 50 | 1,1 - 2,0 |
| Baixo | 0 | $0 - 10^4$ UFC/mL | 0 - 25 | 0,1 - 1,0 |

MB – mancha branca. EGM – estreptococos do grupo mutans. IPO – índice de placa ortodôntico. IG – índice gengival. Os critérios de classificação são descritos no Apêndice C.

Figura 5 – Critérios de classificação dos riscos à cárie dentária e doença periodontal.

Novas análises quanto ao risco foram realizadas no período de 24 horas, 7 e 15 dias após a realização dos bochechos. Todos receberam instrução quanto à higiene diária com escovas dentais, dentifrícios fluoretados e fio dental. Eventual uso de colutórios foi suspenso.

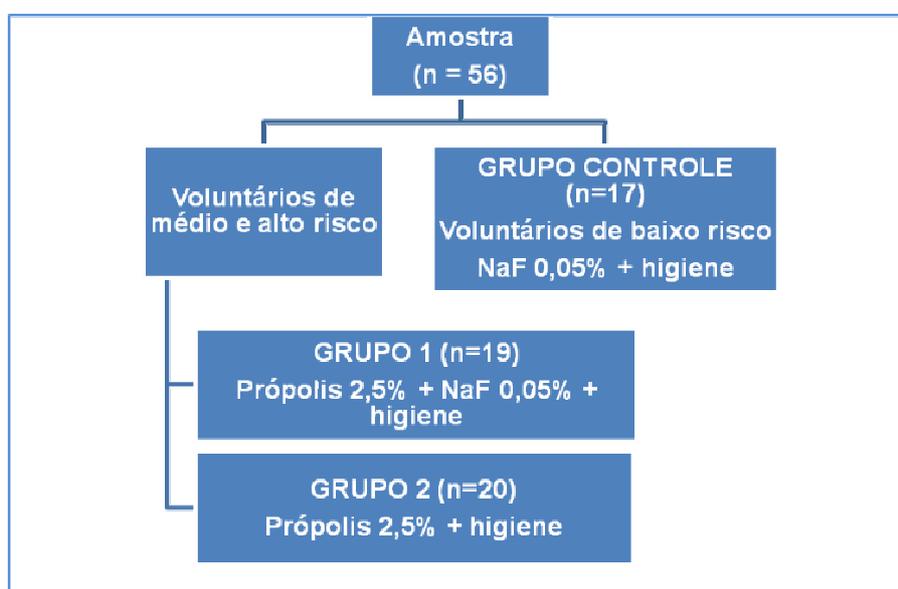


Figura 6 – Distribuição dos voluntários conforme o *status* de risco e soluções indicadas.

4.5 Análise estatística

As análises dos fatores momentos e grupos experimentais, em relação às variáveis, foram realizados por meio do teste ANOVA. A comparação entre os momentos de análise, em relação às variáveis IG, IPO e UFC, em cada grupo experimental, foi realizada por meio do teste ANOVA seguido pelo pós-teste de Tukey. A comparação entre *baseline* e 24 horas, em relação à variável MB foi realizada por meio do teste *t-student* pareado. Já a comparação entre os grupos (controle, própolis e flúor + própolis), para as mesmas variáveis, foi realizada pelo teste ANOVA de uma via independente, seguido pelo pós-teste de Tukey. A análise estatística foi realizada utilizando-se o *software* SigmaStat, versão 2.0, considerando diferenças e correlações significativas, quando o valor de p foi menor que 0,05.

5 RESULTADOS

A análise referente ao Índice Gengival (IG) para os grupos controle e experimental nos quatro períodos avaliados são mostrados na Tabela 1 e ilustrados na Figura 1 (Apêndice D).

Tabelas 1 - Índices gengivais (média + DP) dos grupos controle e experimentais (n=56)

| Grupos | Índice Gengival (IG) | | | Valor de <i>p</i> |
|----------------------|----------------------|-----------|-----------|-------------------|
| | Baseline | 24 horas | 15 dias | |
| Controle | 0,13±0,03 | 0,09±0,02 | 0,15±0,03 | 0,222 |
| Própolis | 0,16±0,03 | 0,16±0,03 | 0,12±0,02 | 0,237 |
| Própolis + NaF 0,05% | 0,17±0,04 | 0,09±0,03 | 0,14±0,01 | 0,094 |
| Valor de <i>p</i> | 0,693 | 0,140 | 0,499 | |

DP – desvio padrão. Teste ANOVA e pós-teste de Duncan.

O mesmo tratamento estatístico foi realizado em relação ao índice de Placa Ortodôntico. Os resultados são mostrados na Tabela 2 e ilustrados na Figura 2 (Apêndice D). A quantidade de lesões incipientes de cárie (mancha branca) diagnosticadas nos voluntários previamente ao período de realização dos bochechos e imediatamente após o término dos mesmos está relatada na Tabela 3 e ilustrada na Figura 3 do Apêndice D.

Tabela 2 - Índice de placa ortodôntico (média \pm DP) em cada momento de análise nos grupos controle e experimentais (n=56)

| Grupos | Índice de placa ortodôntico (IPO) | | | | Valor de <i>p</i> |
|----------------------|-----------------------------------|------------------|------------------|------------------|-------------------|
| | Baseline | 24 horas | 7 dias | 15 dias | |
| Controle | 67,82 \pm 2,39 | 63,58 \pm 2,71 | 56,59 \pm 2,22 | 65,24 \pm 2,89 | 0,004 |
| Própolis | 74,84 \pm 2,76 | 59,31 \pm 3,45 | 66,12 \pm 3,28 | 69,25 \pm 3,21 | <0,001 |
| Própolis + NaF 0,05% | 75,86 \pm 3,63 | 57,05 \pm 3,00 | 66,53 \pm 2,29 | 73,80 \pm 3,24 | <0,001 |
| Valor de <i>p</i> | 0,143 | 0,336 | 0,020 | 0,170 | |

DP – desvio padrão. Teste ANOVA e pós-teste de Tukey.

Tabela 3 - Mancha branca (MB) em cada momento de análise e grupo experimental (n=56)

| Grupos | Mancha branca (MB) | | Valor de <i>p</i> |
|-------------------|--------------------|-----------------|-------------------|
| | Baseline | 24 horas | |
| Controle | 0,71 \pm 0,42 | 0,29 \pm 0,29 | 0,030 |
| Própolis | 1,89 \pm 0,64 | 1,21 \pm 0,46 | 0,011 |
| Própolis + NaF | 2,37 \pm 0,83 | 0,63 \pm 0,37 | 0,004 |
| Valor de <i>p</i> | 0,214 | 0,247 | |

Teste *t-student*. Teste de ANOVA e pós-teste de Tukey.

Os níveis salivares de estreptococos do grupo mutans, expressos através de Unidades Formadoras de Colônia é altamente representativo na determinação do risco de cárie, pois aponta para a presença de bactérias altamente patogênicas. Os resultados obtidos estão expressos na Tabela 4 e ilustrados na Figura 4 do Apêndice D.

Tabela 4 - Unidades formadoras de colônia (UFC) em cada momento de análise e grupo experimental (n=56)

| Grupos | Unidades formadoras de colônia (UFC) | | | | Valor de p |
|--------------------------------|--------------------------------------|-------------|-------------|-------------|--------------|
| | <i>Baseline</i> | 24 horas | 7 dias | 15 dias | |
| Controle | 7,97±4,37 | 8,68±9,84 | 5,50±6,18 | 12,06±9,21 | 0,062 |
| Própolis | 65,74±35,90 | 28,18±31,79 | 30,24±30,34 | 35,71±28,88 | <0,001 |
| Flúor e própolis | 49,42±37,55 | 21,79±26,46 | 37,82±38,04 | 34,61±28,85 | 0,009 |
| Valor de p (entre grupos) | <0,001 | 0,068 | 0,004 | 0,009 | |

DP – desvio padrão. Teste ANOVA e pós-teste de Tukey.

6 DISCUSSÃO

Interessante notar na proposta deste estudo, a relação estreita entre duas áreas habitualmente analisadas separadamente no contexto da saúde bucal – a Ortodontia, cujo objetivo é o estudo sobre o desenvolvimento dos ossos da face e dos dentes e as correções das maloclusões, e a Cariologia, que analisa todo o processo saúde-doença em relação à cárie dentária, normalmente considerada no plano básico da complexidade da ciência odontológica. Mais comum é a discussão sobre a associação tratamento ortodôntico e doença periodontal. Seja a cárie ou a doença periodontal, ambas têm o biofilme como fator etiológico primário (LELIS *et al.*, 1995; THYLSTRUP, 1995).

O que irá diferenciar se o biofilme irá desencadear a dinâmica do processo cariioso ou da doença periodontal é sua composição bacteriana e, conseqüentemente, todos os mecanismos biológicos e físico-químicos decorrentes dessa especificidade. Constitui evidência científica o envolvimento dos estreptococos do grupo mutans, especialmente os *Streptococcus mutans* e o *Streptococcus sobrinus* na iniciação do processo de cárie dentária (LOESCHE *et al.*, 1975; LOESCHE; STRAFFON, 1979; VAN HOUTE, 1980; GIBBONS, 1984; LOESCHE, 1986, LANG *et al.*, 1987). Já em relação à doença periodontal, *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e *Prevotella intermedia* são significativos no biofilme periodontopatogênico.

Entretanto, independente da composição bacteriana, fato é que a aparatologia ortodôntica potencializa o acúmulo do biofilme, aumentando o risco à doença (ZACHRISSON, 1975; HIRCE *et al.*, 1980; HAMP *et al.*, 1982; GORELICK *et al.*, 1982; CARVALHO, 1987; OGAARD *et al.*, 1988; SILVA FILHO *et al.*, 1989; ROSENBLOON; TINANOFF, 1991; HEINTZE, 1996; GUIDI; ROQUE NETO, 2001; PUPIN FILHO; BRUNHARO, 2002; RODRIGUES *et al.*, 2004; STEINBERG; EYAL, 2004; YASSUDA-MATTOS; RODRIGUES, 2006; OLYMPIO *et al.*, 2006; BRANDÃO *et al.*, 2006; MATTOUSCH *et al.*, 2007).

Assim sendo, com a finalidade de minimizar o risco de cárie ou doença periodontal durante o tratamento ortodôntico, foram propostos investigações e protocolos utilizando fluoretos (ZACHRISSON, 1975; WISTH; NORD, 1977; CARVALHO; LASCALA, 1990; ROSENBLOON; TINANOFF, 1991; AARESTRUP;

GUIMARÃES, 1999; PUPPIN FILHO; BRUNHARO, 2002; SUGUINO, 2006), cuidados especiais de higiene bucal (WISTH; NORD, 1977; OGAARD *et al.*, 1988; PUPPIN FILHO; BRUNHARO, 2002; OLYMPIO *et al.*, 2006), colutórios (CARVALHO; LASCALA, 1990; GARIB; UNGARO, 1997), antimicrobianos (HEINTZE, 1996; AARESTRUP; GUIMARÃES, 1999; PUPPIN FILHO; BRUNHARO, 2002) e clorexidina (AARESTRUP; GUIMARÃES, 1999; MATOS *et al.*, 2003).

Entretanto, cada método proposto ou investigado apresenta alguma desvantagem. Exemplo é o risco de intoxicação aguda pela ingestão de fluoretos, quando da instituição de bochechos diários com fluoreto de sódio 0,05%, especialmente em crianças e indivíduos de baixo peso. Podemos citar também as limitações da clorexidina, que apesar de excelente capacidade antimicrobiana, pode ocasionar perda de paladar e manchas no esmalte. Tais características desses métodos não os invalidam, porém, estimularam a pesquisa por produtos naturais com eficiência semelhante ou superior na capacidade de redução do risco às patologias biofilme-dependentes.

Entre esses produtos, a própolis tem apresentado capacidade antimicrobiana significativa contra bactérias cariogênicas (IKENO *et al.*, 1991; WOISKY *et al.*, 1994; GEBARA *et al.*, 1996; OTA *et al.*, 1998; ZÁRATE-PEREIRA, 1999; ZÁRATE-PEREIRA, 2003; SWERTS; COSTA, 2005; ALMEIDA *et al.*, 2006; DE CARLI, 2007; DUAILIBE *et al.*, 2007) e periodontopatogênicas (SWERTS *et al.*, 2002; GEBARA *et al.*, 2002; PARMA NETO, 2008), através de interferência na ação enzimática dessas bactérias, especialmente sobre GTF (IKENO *et al.*, 1991; KOO *et al.*, 2000) e hialuronidase (PARK *et al.*, 1998).

A capacidade antimicrobiana da própolis e a remineralizadora do fluoreto incentivaram a associação desses produtos por Zárate-Pereira (1999) e Koo *et al.* (2005). Os estudos mostraram redução dos níveis salivares de bactérias cariogênicas, redução da perda mineral do esmalte sob desafio cariogênico e da atividade cariogênica em animais. De Carli, em 2007, demonstrou também que a associação, além da redução dos níveis salivares de *S. mutans*, provocou redução de lesões incipientes de cárie em indivíduos cárie-ativos. Partindo dessas premissas, nosso estudo se propôs comparar essa associação com os componentes isolados, em pacientes sob tratamento ortodôntico.

Em nosso estudo, utilizamos a própolis verde nativa de Mato Grosso do Sul, pois entre os diferentes tipos de própolis do estado, é a que apresenta o melhor efeito antibacteriano, devido ao teor de flavonóides, quando comparada às demais (Parma-Neto, 2008). Inicialmente, propusemos a concentração inicial da solução hidroalcoólica a 5% (Zárate-Pereira, 1999; Zárate-Pereira, 2003; De Carli, 2007); entretanto, a reduzimos pela metade, devido às características organolépticas da solução. Atribuímos esse fato devido a própolis utilizada por Zárate-Pereira em 1999, ser oriunda do Estado de São Paulo; já De Carli, em 2007, investigou a associação em forma de gel, não apresentando dessa forma, essa dificuldade.

Os 56 voluntários foram divididos em três grupos, conforme o risco à cárie, o índice de placa ortodôntico (Heintze, 1999) e o risco à doença periodontal, demonstrado pelo índice gengival de Løe e Silness, de 1963. O risco de cárie foi traduzido pela presença de lesões incipientes de cárie, conhecidas como manchas brancas, que na fase ativa indica alta atividade da doença. Além desses critérios, investigamos os níveis salivares de estreptococos do grupo mutans pelo consagrado método da espátula, de Köhler e Brathall (1979).

Embora a distribuição randômica dos voluntários nos grupos seja recomendada, mas não obrigatória, a formação dos grupos foi indicada conforme o *status* do risco, uma vez que pacientes de baixo risco poderiam mascarar a ação das soluções experimentais (própolis 2,5% + NaF 0,05% e própolis 2,5%). A fim de se evitar o viés científico, os componentes da associação foram analisados separadamente, sendo que o grupo controle realizou bochechos com NaF 0,05%, devido sua comprovada efetividade. Todos os voluntários receberam orientações sobre higiene bucal e fizeram uso de dentifrícios fluoretados conforme hábitos pessoais, a fim de que não houvesse alterações da realidade individual. O uso das soluções em forma de bochechos seguiu recomendações e estudos anteriores com objetivos semelhantes (ZACHRISSON, 1975; CARVALHO; LASCALA, 1990; WISTH; NORD, 1977; ZÁRATE-PEREIRA, 1999; PUPPIN FILHO; BRUNHARO, 2002; MATOS *et al.*, 2003; KOO *et al.*, 2002; ZÁRATE-PEREIRA, 2003; ALMEIDA *et al.*, 2006; DUAILIBI *et al.*, 2007).

Analisando os resultados, a divisão não randômica dos sujeitos da pesquisa não mostrou diferença significativa no *status* inicial de risco dos voluntários para o IG, IPO e MB ($p=0,693$; $0,143$ e $0,214$, respectivamente). Observamos que o índice

gingival não apresentou alterações significativas, tanto no grupo controle quanto nos grupos das soluções experimentais, em nenhum dos tempos em que foram feitas as análises (Tabela 1). Isso pode ser explicado pelo fato de que todos os voluntários apresentaram baixo IG em *baseline*; logo, possíveis alterações no índice não puderam ser detectadas. As análises foram realizadas logo após o término dos bochechos, a fim de se conhecer o IG imediatamente terminada a fase experimental, e 15 dias após a mesma, visto que a inflamação gengival somente é observada clinicamente decorridos 10 a 21 dias de suspensão da higiene oral (THEILADE, 1969). Anterior a esse período, a gengivite desenvolve-se em fase subclínica.

Em relação ao IPO, inicialmente todos os voluntários apresentaram valores semelhantes ($p=0,143$); nessa avaliação, a solução de própolis, isolada ou associada ao NaF 0,05%, reduziu significativamente o IPO ($p<0,001$), em todos os momentos da análise. Como houve mudança no IG do grupo controle, era esperado alterações no IPO desse grupo, o que foi confirmado conforme os dados da Tabela 2. Cabe lembrar que o acúmulo de placa é fator imprescindível para o surgimento da gengivite, porém, essa condição não é obrigatória, o que pode explicar diferentes performances das soluções experimentais para o IG e o IPO. Essa capacidade de redução do acúmulo de placa pelo uso de uma solução de própolis também foi verificada por Silveira *et al.* (1988), Panzeri *et al.* (1999). Swerts *et al.*, em 2005, Almeida *et al.* em 2006 e Simões *et al.* em 2008, também verificaram que a própolis foi tão eficiente em reduzir a placa bacteriana quanto à clorexidina.

Essa capacidade de reduzir placa pode refletir na diminuição do risco à cárie ou à gengivite. Em nosso estudo, os resultados sugerem que isso ocorreu em relação à cárie, visto as não alterações do IG (Tabela 1), as alterações do IPO (Tabela 2) e a redução significativa de lesões incipientes de cárie, as manchas brancas (Tabela 3), principalmente no grupo que fez bochechos de própolis associada ao NaF 0,05% ($p=0,004$). As três soluções reduziram de maneira significativa as manchas brancas ($p<0,050$), tanto que nas comparações entre grupos, os valores se apresentaram semelhantes em *baseline* e 24 horas após término dos bochechos ($p=0,214$ e $p=0,247$, respectivamente). Essa teoria se confirma com os resultados mostrados na Tabela 4. Em *baseline*, os três grupos se diferenciavam significativamente quanto aos níveis salivares de SM ($p<0,001$). Tanto a solução de própolis 2,5% quanto própolis 2,5% + NaF 0,05% foram capazes de

reduzir de forma significativa a quantidade de SM na saliva, tanto que 24 horas após os bochechos, não se observou diferenças significativas entre os grupos ($p=0,068$). Isso mostra que a própolis apresenta capacidade bactericida, porém, de baixa substantividade, uma vez que o efeito não é duradouro, como mostraram Vicente e Hirooka (1987), Zárate-Pereira (1999). Em todos os estudos que avaliaram a ação da própolis sobre SM, verificou-se ação bactericida, com redução significativa da população bacteriana (IKENO *et al.*, 1991; GEBARA *et al.*, 1996; OTA *et al.*, 1998; ZÁRATE-PEREIRA, 1999; ZÁRATE-PEREIRA, 2003; SWERTS *et al.*, 2005; DE CARLI, 2007).

Está estabelecida a relação aparatologia ortodôntica e risco à cárie e gengivite devido aos sítios de estagnação de biofilme (ZACHRISSON, 1975; GWINNETT; CEEN, 1979; HIRCE *et al.*, 1980; MIZRAHI, 1982; CARVALHO, 1987; OGAARD *et al.*, 1988; SILVA FILHO *et al.*, 1989; ROSENBLOOM; TINANOFF, 1991; PUPPIN FILHO; BRUNHARO, 2002; RODRIGUES *et al.*, 2004; YASSUDAMATTOS; RODRIGUES, 2006; OLYMPIO *et al.*, 2006; BRANDÃO *et al.*, 2006). Com isso, tornou-se imprescindível a necessidade de maior controle de placa nesses pacientes.

Nosso estudo comprovou a hipótese de que soluções à base de própolis são capazes de minimizar o risco em pacientes portadores de aparelho ortodôntico; as soluções mostraram-se eficazes na redução de placa bacteriana, manchas brancas e níveis salivares de SM. Entretanto, são necessárias novas investigações que apontem quais componentes específicos são responsáveis pelas ações aqui demonstradas; além disso, a associação com o fluoreto pode reforçar a ação biológica contra biofilme, minimizando a virulência bacteriana (KOO, 2008; KOO; JEON, 2009). Com isso, colaboramos com as investigações atuais que buscam consagrar a própolis como um produto promissor na clínica odontológica, de baixo custo, sem relatos de toxicidade e de fácil disponibilidade.

7 CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo permitem concluir que embora não tenha sido possível verificar alterações relacionadas à gengivite, a solução de própolis, principalmente quando associada ao NaF 0,05%, foi capaz de reduzir o acúmulo de biofilme e o risco à cárie dentária em pacientes sob tratamento ortodôntico.

REFERÊNCIAS¹

Aarestrup FM, Guimarães SMR. Pacientes ortodônticos: controle clínico e laboratorial da cárie dentária. Rev. ABO Nac. 1999; 7(4):231-7.

Almeida RVD, Castro RD, Pereira MSV, Paulo MQ, Santos JP, Padilha WWN. Efeito clínico de solução anti-séptica à base de própolis em crianças cáries ativas. Pesqui. Bras. Odontopediatria Clín. Integr. 2006; 6(1):87-92.

Brandão GAM, Brandão AMM, Silva JM, Almeida HA. Eficácia do Protocolo de orientação para controle de placa em pacientes portadores de aparelho ortodôntico. Ortodontia SPO. 2006; 39(4):383.

Brasil. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Atenção Básica, Coordenação Nacional de Saúde Bucal. Projeto SB Brasil: condições de saúde bucal da população brasileira. Resultados principais. Brasília: 2004.

Brunett MC (org). Periodontia médica. São Paulo: Editora Senac São Paulo, 2004.

Cai S, Simionato MR, Mayer MP, Novo NF, Zelante F. Effects of subinhibitory concentrations of chemical agents on hydrophobicity and in vitro adherence of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguis*. Caries Res. 1994; 28(5):335-41.

¹ Conforme International Committee of Medical Journal Editors (Vancouver style) – Grupo Vancouver

Carvalho LS. Estudo das condições gengivais em pacientes portadores de aparelho ortodôntico fixo (tipo multi bandas e bráquetes colados). *Ortodontia*. 1987; 20(1/2):65-71.

Carvalho LS, Lascala NT. Estudo em pacientes portadores de aparelho ortodôntico, correlacionando os índices de placa e gengival, à escovação dental, e com bochechos de fluoreto de sódio, e com Cepacol. *Ortodontia*. 1990; 23(3):35-47.

Carvalho J, Maltz M. Tratamento da doença cárie. In:Kriger: Promoção de Saúde Bucal. São Paulo:Arte Médicas; 1997. p.94-112.

Chung A. Toothbrushing and transient bacteremia in patients undergoing orthodontic treatment. *Am J Orthod. Dentofac. Orthop*. 1986;90(3):181-6.

Costerton JN, Lewandowski A, Caldwell DE, Korler DR, Lappin-Scott HM. Microbial biofilms. *Annu Rev Microbiol*.1995; 49:711-45.

De Carli AD. Capacidade antibacteriana da própolis de *Apis mellifera* associada ao fluoreto de sódio no controle do biofilme dental. [Dissertação]. Campo Grande: Universidade Federal do Mato Grosso do Sul; 2007.

Dénes J, Gábris K. Results of a 3-year oral hygiene programme, including amine fluoride products, in patients treated with fixed orthodontic appliances. *Eur J Orthod*. 1991; 13:129-33.

Dibart S. Children, adolescents and periodontal diseases. J Dentistry. 1997; 25(2):79-89.

Ditterich RG; Portero PP, Wambier DS, Pillati GL, Santos FA. Higiene bucal e motivação no controle do biofilme dental. Odontol. clín.-cient. 2007; 6(2):123-8.

Dottori RHG, Tunchel S, Sendyk WR, Gromatzky A, Cosimato P. Controle químico da placa bacterina em periodontia. Rev Odontol Univ Santo Amaro. 2002;7(1-2):4-6.

Duailibe SAC, Gonçalves AG, Ahid FJM. Effect of a propolis extract on *Streptococcus mutans* counts *in vivo*. J. Appl. Oral Sci. 2007;15(5):420-3.

Featherstone JDB. The science and practice of caries prevention. J Am Dent Assoc. 2000; 131:887-99.

Fejerskov O, Kidd E. Cárie dentária. A doença e seu tratamento clínico. Tradução: Fábio Luis Mialhe São Paulo: Ed. Santos; 2005.

Ferreira RCV, Valente PHM, Barbosa AD. Atividade antibacteriana da própolis. LECTA. 1996; 14(2):65-93.

Ferreira FBA, Torres AS, Rosa OPS, Ferreira CM, Garcia RB, Marcucci MC, Gomes BPPFA. Antimicrobial effect of própolis and other substances against selected endodontic pathogens. Oral Sur oral med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2007. 104:709-16.

Frazão P. Epidemiologia da oclusão dentária na infância e os sistemas de saúde. [Tese]. São Paulo, Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo. 1999.

García-Godoy F, Hicks MJ. Maintaining the integrity of the enamel surface: The role of dental biofilm, and saliva preventive agents in enamel demineralization and remineralization. *J Am Dent Assoc.* 2008; 139:25-34.

Garib DG, Ungaro AE. Efeito do uso do gluconato de clorexidina e do cloreto de cetilpiridínio, em bochechos, como meio complementar a higiene bucal em pacientes sob tratamento ortodôntico. *Ortodontia.* 1997; 30(2):22-30.

Gebara ECE, Zardetto CGDC, Mayer MPA. Estudo *in vitro* da ação antimicrobiana de substâncias naturais sobre *S. mutans* e *S. sobrinus*. *Rev. Odonto.* 1996; 10(4):251-6.

Gebara ECE, Lima LA, Mayer MPA. Própolis antimicrobial activity against periodontopathic bacteria. *Braz. J. Microbiol.* 2002; 33(4):365-9.

Gibbons RJ. Adherent interactions which may affect microbial ecology in the mouth. *J Dent Res* 1984; 63:378-85.

Gorelick L, Geiger A, Gwinnet AI. Incidence of white spot formation after bonding and banding. *Am J Orthod.* 1982; 81(2):92-8.

Guidi D, Roque Neto A. Manchas brancas de esmalte, um estudo clínico em pacientes portadores de aparelhos ortodônticos. *Odonto.* 2001; 9(19):32-4.

Gwinnett J, Ceen RF. Plaque distribution on bonded brackets: a scanning microscopy study. *Am J Orthod.* 1979; 75(6):667-77.

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

Heintze SD. A profilaxia individual em pacientes com aparelhos fixos – recomendações para o consultório. *Ortodontia.* 1996; 29(2):4-15.

Heintze SD, Jost-Brinkmann PG, Finke C, Miethke RR (eds) *Oral Health for the Orthodontic patient.* Illinois: Quintessence publishing Co.Inc,1999.

Hirce JD, Sather AH, Chao EYS. The effect of topical fluorides, after acid etching of enamel, on the bond strength of directly bonded orthodontic brackets. *Am J Orthod.* 1980; 78(4):444-52.

Ikeno K, Ikeno T, Miyazawa C. Effects of propolis on dental caries rats. *Caries Res.* 1991; 25 (5):347-51.

Köhler B, Brathall D. Practical method to facilitate estimation of *Streptococcus mutans* levels in saliva. *J Clin Microbiol.* 1979; 9(5):584-8.

Koo MH, Park YK. Investigação do teor de flavonóides totais da própolis de *Apis mellifera* do Brasil. *Rev. Bras. Apic.* 1996; 6(12):8-11.

Koo MH, Vacca-Smith AM, Bowen WH, Rosalen PL, Cury J, Park YK. Effect of *Apis mellifera* propolis on the activities of Streptococcal glucosyltransferases in solution and adsorbed onto saliva-coated hydroxyapatite. *Caries Res.* 2000; 34:418-26.

Koo MH, Cury J, Rosalen PL, Ambrosano GMB, Ikegari M, Park YK. Effect of a mouthrinse containing selected propolis on 3-day dental plaque accumulation and polysaccharide formation. *Caries Res.* 2002; 6(6): 445-8.

Koo MH, Schobel B, Scott-Anne K, Watson G, Bowen WH, Cury JA, Rosalen PL, Park YK. Apegenin and tt-farnesol with fluoride on *S. mutans* biofilme and dental caries. *J Dent Res.* 2005; 84(11):1016-20.

Koo H. Strategies to enhance the biological effects of fluoride on dental biofilms. *Adv Dent Res.* 2008.20:17-21.

Koo H, Jeon JG. Naturally occurring molecules as alternative therapeutic agents against cariogenic biofilms. *Adv Dent Res.* 2009.21:63-68.

Lang NP, Hotz PR, Gusberti FA, Joss A. Longitudinal clinical and microbiological study on the relationship between infection with *Streptococcus mutans* and the development of caries in humans. *Oral Microbiol Immunol.* 1987;2:39-47.

Lelis ER, Siqueira CS, Rocha FS, Silva Neto JP. Inter-relação entre saúde periodontal e trabalhos restauradores. Universidade Federal de Uberlândia. 4ª semana do servidor e 5ª semana Acadêmica 1995. Disponível em: <http://www.ic-ufrj.org/anaisufu2008/PDF/SA08-40075.PDF>. Data de acesso: [5 de março 2009].

Löe H, Silness J. Periodontal disease in pregnancy.I. Prevalence and severity. Acta Odont Scand. 1963, 21:533-51.

Loesche WJ, Rowan J, Straffon LH, Loos PJ. Association of *Streptococcus mutans* with human dental decay. Infect Immun. 1975; 11(6):1252-60.

Loesche WJ, Straffon LH. Longitudinal investigation of the role of *Streptococcus mutans* in human fissure decay. Infect Immun. 1979; 26(2):498-507.

Loesche WJ. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. Microb Rev. 1986; 50(4):353-80.

Maijer R, Smith DC. A comparasion between zine phosphate and glass ionomer cement in orthodontics. Am J Orthod dentofacial Orthod. 1988; 93 (4):273-9.

Maltz M. Cárie dental: fatores relacionados. In: Pinto VG. Saúde Bucal Coletiva. 2 ed. São Paulo: Santos; 2000. p.319-39.

Marcucci MC. Propriedades biológicas e terapêuticas dos constituintes químicos da própolis. Química Nova. 1996; 19(5):529-36.

Marsh PD. The role of microbiology in models of dental caries. Adv Dent Res. 1995; 9(3):244-54.

Marsh PD, Nyvad B. A microbiota oral e biofilmes formados sobre os dentes. In: Fejerskov O, Kidd E. Cárie dentária: a doença e seu tratamento clínico. Trad. Fábio Luis Mialhe. São Paulo:Santos; 2005. p 29-48.

Marsh PD. Sugar, fluoride, pH and microbial homeostasis in dental plaque. Proc Finn Dent Soc 1991; 87: 515-25.

Matos MS, Vianna MIP, Pitta A. Controle químico e mecânico de placa em pacientes ortodônticos. Uma análise por grupo de dentes de acordo com o acessório ortodôntico empregado. Rev. Dent. Press Ortodont Ortoped. Facial. 2003; 8(1):97-3.

Mattousch TJH, Van der Veen MH, Zentner A. Caries lesions after orthodontic treatment followed by quantitative light-induce fluorescence: a 2 years follow-up. Eur J Orthod. 2007; 29:294-9.

Mizrahi F. Enamel demineralization following orthodontic treatment. Am J Orthod. 1982; 82(1):62-7.

Moreira TF. Composição química da própolis: vitaminas e aminoácidos. Rev Bras Farmacogn. 1986; 1(1):12-9.

Novais SMA, Lucena JP, Souza LKL, Santos LCS, Carvalho LG. Prevalência de gengivite em crianças de 02 a 06 anos de idade da cidade de Aracaju. Rev. Odontopediatr. 1997; 5(2):55-60

Ogaard B, Rolla G, Arends J. Orthodontics appliances and enamel desmineralization. Part I. Lesion development. Am J Orthod. 1988; 94(1):68-73.

Olympio KPK, Bardal PAP, Henriques FC, Bastos JRM. Prevenção de cárie dentária e doença periodontal em ortodontia: uma necessidade imprescindível. R Dental Ortodon Ortop Facial. 2006; 11(2):110-9.

Ota C, Valente PHM, Unterkircher CS, Shimizu MT. Atividade da própolis sobre bactérias isoladas da cavidade bucal. LECTA. 1998; 16(1):73-7.

Page RC. Periodontal diseases: a new paradigm. J Dent Educ. 1998; 62(10):812-21.

Panzeri H, Pedrazzi V, Ogasawara MS, Ito IY, Lara EHG, Gebarra FR. Um dentifrício experimental contendo própolis: avaliações físicas, microbiológicas e clínicas. Rev ABO Nac. 1999; 7(1):26-30.

Parma Neto A. Avaliação *in vitro* da atividade antibacteriana de extratos hidroalcóolicos de própolis de *Apis mellifera* sobre biofilme e cepas periodontopatogênicas. [Dissertação]. Campo Grande: Universidade Federal do Mato Grosso do Sul; 2008.

Park YK, Koo MH, Ikegaki M, Contado JL. Comparision of the flavonoid aglycone contents of *Apis mellifera* própolis from various regions of Brazil. Arq. Biol. Technol. 1997; 40(1):97-106.

Park, YK, Ikegaki M, Abreu JAS, Alcici NMF. Estudo de preparação dos extratos de própolis e suas aplicações. Rev. Ciênc. Tecnol. Aliment. 1998; 18(3):1-4.

Peña RC. Estandarización en propóleos: antecedentes químicos y biológicos. Cien. Inv. Agr. 2008; 35(1): 17-26.

Pratten J, Andrews CS, Craig DQM, Wilson M. Structural studies of microcosm dental plaques grown under different nutritional conditions. FEMS Microbiol Lett. 2000; 189:215-18.

Puppim Filho A, Brunharo IHVP. Controle da doença cárie em pacientes submetidos a tratamento ortodôntico. Rev. Bras. Odontol. 2002; 59(4):267-71.

Rezende GPSR, Costa RRLS, Pimenta FC, Baroni DA. In vitro antimicrobial activity of endodontic pastes with propolis extracts and calcium hydroxide : a preliminary study. Braz Dent J. 2008; 19 (4):301-5.

Rodrigues MC, Pereira EM, Atta MT, Godoy LF. Freqüência de manchas brancas desmineralizadas após tratamento ortodôntico. J Bras Ortodon Ortop Facial. 2004; 9 (51):272-5.

Rosenbloom GR, Tinanoff N. Salivary Streptococcus mutans, levels in patients before, during and after orthodontic treatment. Am J Orthod Dentofac. Orthop. 1991; 100(1): 35-7.

Sabir A, Tabbu CR, Agustino P, Sosroseno W. Histological analysis of rat dental pulp tissue capped with propolis. J Oral Sci. 2005; 47(3):135-8.

Silva Filho OG, Pinheiro CF, Pinheiro CE, Polleto MIP. Placa Bacteriana – Ortodontia: Formação e metabolismo da placa dentária de pacientes portadores de aparelho ortodôntico fixo. Rev. Assoc. Paul. Cir. Dent. 1989; 43(3):128-32.

Simões CC, Araújo DB, Araújo RPC. Estudo *in vitro* e *ex vivo* da ação de diferentes concentrações de extratos de própolis frente aos microrganismos presentes na saliva de humanos. Rev. Bras. Farmacogn. 2008; 18(1):84-9.

Silveira GM, Godoy AG, Torriente RO, Ortiz MCP, Cuéllar MAF. Estudio preliminar sobre los efectos del propolan em el tratamiento de la gingivitis crônica y de lãs ulceras bucales. Rev Cubana Estomatol. 1988; 25(3):36-44.

Spolidorio DMP, Zuanon ACC, Zuanon JA. Biofilme dentário. Rev Paul Odontol. 2003; 25(5):27-9.

Souza MM, Falcão AFP, Araújo TM. Higiene bucal no paciente ortodôntico. Rev. Fac. Odontol. Univ. Fed. Bahia. 1999; (18):90-7.

Steinberg D, Eyal S. Initial biofilm formation of *Streptococcus sobrinus* on various orthodontics appliances. J Oral Rehabilitation. 2004; 31:1041-5.

Stookey GK. Caries Prevention. J Dent Educ. 1998; 62(10):803-11.

Suguino R. Ana Cristina Barreto Bezerra responde (parte II). Rev. Clin. Ortodon. Dental Press. 2006; 5(3):13-9.

Swerts MSO, Freitas e Silva DS, Maldonado DV, Totti da Costa JM, Medeiros UV. Atividade antimicrobiana da própolis sobre bactérias bucais. J Bras Endo/Perio. 2002; 3(10):256-61.

Swerts MSO, Costa AMDD, Fiorinni JE. Efeito da solução associada de clorexidina e própolis na inibição da aderência de *Streptococcus spp.* Revista Internacional de Periodontia Clínica. 2005; 2(4):10-6.

Theilade E. Development of gingivitis. Rev Belge Med Dent. 1969;24(4):317-29.

Theilade J. The treatment and prevention of gingivitis. J Can Dent Assoc. 1971; 37(3):107-12.

Thienpont V, Dermaut LR, Maele GV. Comparative study of 2 electric and 2 manual toothbrushes in patients with fixed orthodontic appliances. Am J Orthod Dentofacial Orthop 2001;120:353-60

Thylstrup A, Fejerskov O. Cariologia clínica. Tradução: Sérgio Weyne/ Rui Oppermann. 2ª ed São Paulo: Santos; 1995.

Van Houte J. Bacterial specificity in the etiology of dental caries. Int Dent J. 1980; 30(4): 305-26.

Vicente E, Hirooka EY. Estudos preliminares da atividade antimicrobiana de própolis. Semina. 1987; 8(2):76-9.

Viuda-Martos M, Ruiz-Navajas Y, Fernández-López J, Pérez-Álvarez JA. Functional properties of honey, propolis, royal jelly. *J Food Sci.* 2008; 73(9):117-124.

Wisth PJ, Nord A. Caries experience in orthodontic treated individuals. *Angle Orthod.* 1977; 47:59-63.

Woisky RG, Giesbrecht AM, Salatino A. Atividade antibacteriana de uma formulação preparada a partir de própolis de *Apis mellifera* L. *Rev. Farm. Bioquím. Univ. S. Paulo.* 1994; 30(1):19-21.

Yassuda-Mattos D, Rodrigues LA. Nível salivar de estreptococos do grupo mutans e de lactobacilos de pacientes portadores de aparelhos ortodônticos fixo. *Rev Brás Odontol.* 2006; 63(1/2):33-5.

Zárate-Pereira P. Análise da atividade de bochechos contendo fluoreto de sódio 0,05%; fluoreto de sódio 0,2% e própolis 5% acrescida de fluoreto de sódio 0,05%, sobre níveis salivares de estreptococos do grupo mutans em pacientes cárie-ativos [Dissertação]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 1999.

Zárate-Pereira P. Estudo *in situ* sobre a ação da própolis de *Apis mellifera* no desenvolvimento da cárie dentária e na formação do biofilme dental [Tese]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2003.

Zachrisson BU. Oral hygiene for orthodontic patients: current concept and practical advice. *Am J Orthodont.* 1974; 66(5):487-97.

Zachrisson BU. Fluoride application procedures in orthodontic practice, current concepts. *Angle Orthod.* 1975; 45:72-81.

Zachrisson BU. Cause and prevention on injuries to teeth and supporting structures during orthodontic treatment. *Am J Orthod.* 1976; 69(3):285-300.

APÊNDICE A

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O presente termo tem por objetivo dar ciência ao voluntário da pesquisa, de todas as informações a que por ventura venha a participar e de obter seu consentimento.

O voluntário participará de um estudo que tem como objetivo averiguar o risco de cárie do indivíduo enquanto está submetido a tratamento ortodôntico, e as possibilidades de controle. Este controle será feito da seguinte forma: cada voluntário realizará durante 14 dias bochechos diários com soluções de própolis ou própolis + NaF 0,05% ou somente solução de NaF 0,05%, e posteriormente serão submetidos a testes de saliva para medir o risco de cárie no 15º e 16º dias, 15 dias e 30 dias após a primeira medição.

Título: Ação da própolis de *Apis mellifera* no controle do risco de cárie dentária e gengivite em pacientes submetidos a tratamento ortodôntico.

- **Responsável pela pesquisa:** Fabiano Ferreira Regalado
- **Riscos:** Não há nenhum tipo de risco na participação do estudo.
- **Benefícios:** Será diagnosticado o risco de cárie durante o tratamento ortodôntico e paciente/voluntário receberá o tratamento adequado.
- **Voluntariedade:** Além do anonimato que é garantido durante toda a pesquisa, é importante ressaltar que tal estudo não envolverá qualquer risco ou desconforto aos voluntários, podendo o mesmo não participar ou desistir a qualquer momento da pesquisa, sem qualquer tipo de coação.
- **Do Responsável/ Dúvidas:** Em caso de dúvidas, você deverá entrar em contato com o Dr. Fabiano, pelos fones: 67 3028-7919 ou 67 9985-7919 ou 67 9985-7043

Campo Grande, de de 200 .

Fabiano Ferreira Regalado
Pesquisador

Voluntário

APÊNDICE B

NOME: _____ Nº _____
 Idade: _____ Sexo: () M () F Naturalidade: _____
 Fone: _____ E-mail: _____ Local de atendimento: _____

1. DIETA

- a. Preferência: (1) Açúcar comum (2) Adoçante
 b. Consumo de doces: (1) Durante as refeições (2) Entre as refeições (3) Ambos
 c. Consumo de balas, chocolates, sorvetes, etc: (1) Diariamente (2) 2-3 x/semana (3) +3x/semana
 (4) Não
 d. Faz uso de: (1) Bala mentolada (2) Chiclete _____ Freqüência: _____
 e. Refrigerante: (1) Diariamente (2) 2-3x/semana (3) +3x/semana Tipo _____ (4) Não consome

2. HISTÓRICO:

- a. Cidade onde morou até os 6 anos de idade: _____
 b. Tem conhecimento se a cidade tem/tinha água fluoretada? _____
 c. Fez uso de suplementos com flúor: (1) Sim (2) Não Qual? _____
 d. Na escola, participou de programas preventivos com flúor? (1) Sim (2) Não Qual? _____
 e. Primeira vez que utiliza aparelho ortodôntico: (1) Sim (2) Não
 f. Está tomando algum medicamento? (1) Sim (2) Não Finalidade: _____

3. HIGIENE

- a. Quantas vezes escova os dentes por dia: (1) 1 (2) 2 (3) 3 (4) Mais que 3
 b. Tipo de escova: (1) Macia (2) Média (3) Dura
 c. Usa escova interdental? (1) Sim (2) Não Freqüência: _____
 d. Usa fio dental? (1) Sim (2) Não Freqüência: _____ Horário: _____
 e. Usa passador de fio dental? (1) Sim (2) Não
 f. Faz uso de colutório? (1) Sim (2) Não Qual? _____
 g. Faz uso de bochecho com flúor? (1) Sim (2) Não Qual? _____
 f. Fez alguma aplicação tópica de flúor nos últimos 6 meses? (1) Sim (2) Não
 g. Recebeu alguma instrução sobre higiene bucal após a instalação do aparelho? (1) Sim (2) Não

4. APÓS USO DA SOLUÇÃO:

- a. Alguma alteração de paladar? (1) sim (2) não
 b. Observou alguma alteração da coloração dos dentes? (1) sim (2) não
 c. Alguma outra situação/alteração que gostaria de relatar? _____

APÊNDICE C**Procedimentos padrões**

Inicialmente, os voluntários foram submetidos à análise do risco de cárie e presença de gengivite, através dos seguintes procedimentos;

a) Risco de cárie:

- Índice de placa bacteriana de Heintze (1999): Cada dente possui 3 sítios para medição: cervical (a região sombreada do arco), mesial e distal ao acessório (central), e incisal ao acessório (oclusal). Na face vestibular, após ser evidenciada com fucsina 2%, a presença ou ausência de placa em cada sítio é registrada. O número de sítios com placa é multiplicado por fatores, conforme o sítio: 1 para coronal, 2 para cervical e 3 para central do dente. Não se diferencia entre superfícies medial e distal; se placa é encontrada em alguma desses sítios, o resultado é considerado positivo. O índice de placa ortodôntico corresponderá a soma dos resultados das multiplicações realizadas, dividido pelo número de dentes presentes $\times 6 \times 100^{-1}$. Valores do índice variando de 0 – 25 representam uma boa higiene bucal, entre 26 – 50 pontos, higiene moderada; e acima de 50, higiene bucal insatisfatória. Nessa pesquisa, todos os dentes permanentes inclusive os 2^{os} molares foram examinados, exceto os dentes bandados.

- Presença de mancha branca. O exame foi realizado sob luz artificial e isolamento relativo. Foram consideradas MB ativas, as áreas com lesões brancas, opacas, regulares, localizadas em regiões de acúmulo de biofilme, referentes ao 1/3 cervical dos dentes, ou faces oclusais de molares e pré-molares. A presença de MB ativa classificou o voluntário como de alto risco.

- Níveis salivares de SM: obtido através da técnica da espátula (KÖHLER; BRATHALL, 1979). O voluntário foi orientado mastigar um chiclete de parafina durante 1 minuto, evitando a deglutição da saliva; após o tempo de 1 minuto era mergulhada na saliva uma espátula de madeira e girada 10 vezes, a fim de umedecê-la; com os lábios cerrados a espátula era removida

e se efetivava a impressão dessa sobre o Agar MSB (Mitis Salivarius Bacitracina) seletivo para *Streptococcus mutans*, previamente preparado em placa de Petri. As placas foram incubadas por 48 horas à 37^o C. Após este período eram, contadas as unidades formadoras de colônia (UFC) de *Streptococcus mutans* e se fazia as estimativas dos níveis salivares dessas bactérias. Pacientes com valores acima de 10⁶ UFC/mL de saliva foram considerados de alto risco a doença (Figura 1).

| UFC /cm ² | UFC / mL saliva | Risco à cárie |
|----------------------|-----------------------------------|---------------|
| 0-20 | 0 -10 ⁵ | Baixo |
| 21-100 | 10 ⁵ - 10 ⁶ | Moderado |
| > 100 | > 10 ⁶ | Alto |

Figura 1 – Status quanto ao risco à cárie.

b) Presença de gengivite: avaliada através do índice de Løe; Silness, 1963. Individualmente, todos os dentes (até o 2^{os} molares) foram sondados, sendo divididos em 4 faces (vestibular, lingual, mesial e distal), valor de 0 a 3 foi identificado para cada face, conforme a condição gengival. Ao somar os valores das 4 faces e dividindo por 4, obtem-se o índice gengival do dente. O valor do IG individual (do paciente) foi calculado através da soma dos índices de cada dente e dividindo o total pelo número de dentes examinados. Os valores do IG variando de 0,1 a 1,0 representam gengivite leve; de 1,1 a 2,0 gengivite moderada 2,1 a 3,0 gengivite severa. Os valores conforme a condição gengival foram:

0- ausência de inflamação (gengiva uniformemente rosada);

1- inflamação leve (modificação pequena na cor e textura gengival);

2-inflamação moderada (gengiva moderadamente avermelhada, vítrea, endemaciada e hipertrófica, com sangramento sob estímulo);

3- inflamação severa (gengiva nitidamente avermelhada, hipertrófica, com tendência ao sangramento espontâneo e presença de ulceração).

APÊNDICE D

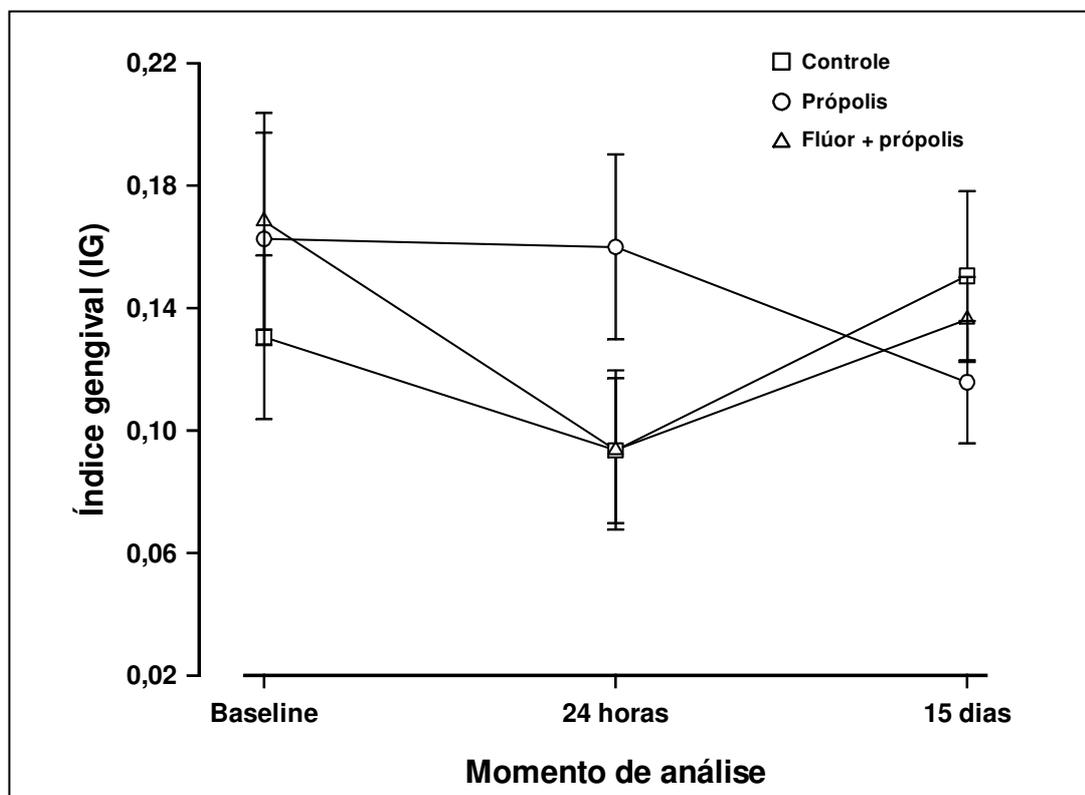


Figura 1 - Índice gengival nos quatro momentos de análise. Os símbolos representam a média e as barras o erro padrão da média.

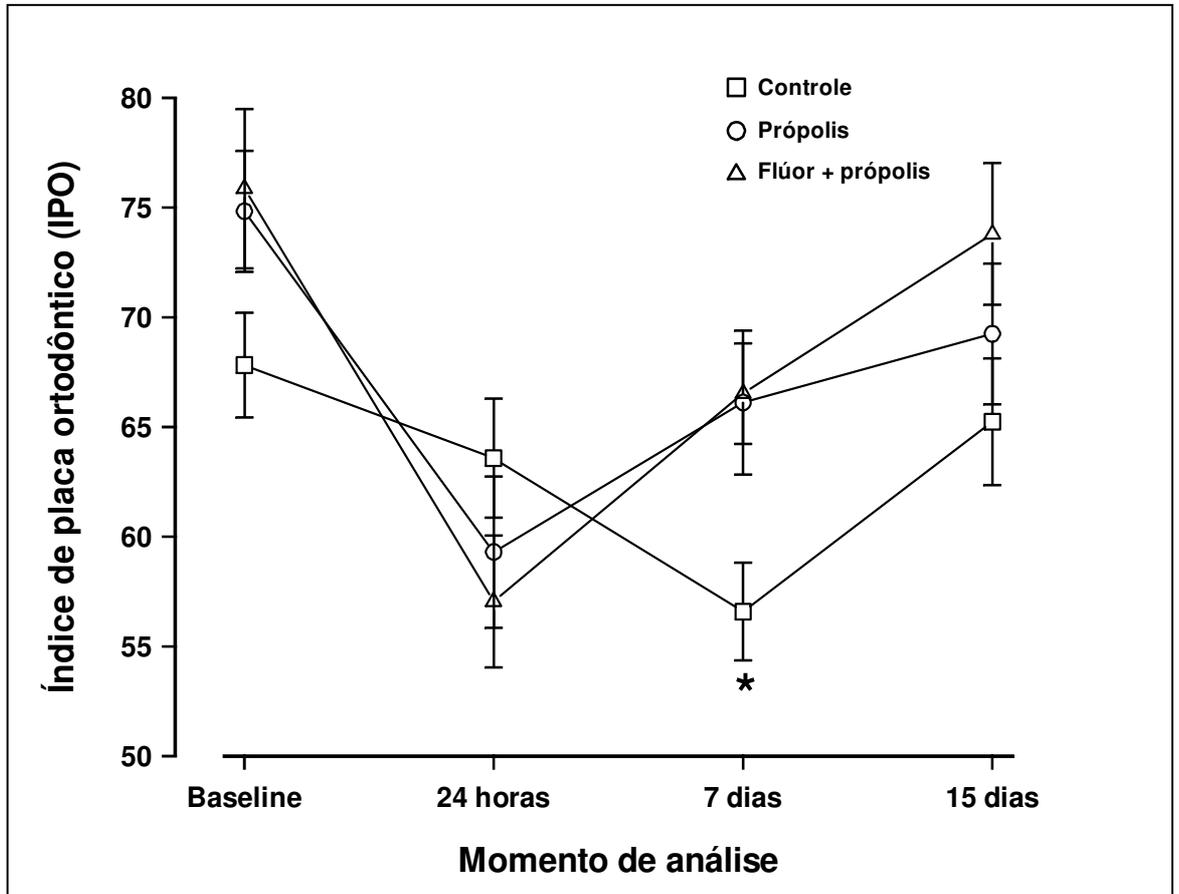


Figura 2 - Índice de placa ortodôntico nos momentos de análise *Baseline*, 24 horas, 7 dias e 15 dias após o tratamento, nos grupos experimentais Controle, Própolis e Flúor + Própolis. Os símbolos representam as médias e as barras o erro padrão da média. * Diferença significativa em relação aos grupos experimentais Própolis e Flúor + Própolis (teste ANOVA de uma via, $p=0,020$; pós-teste de Tukey, $p<0,05$).

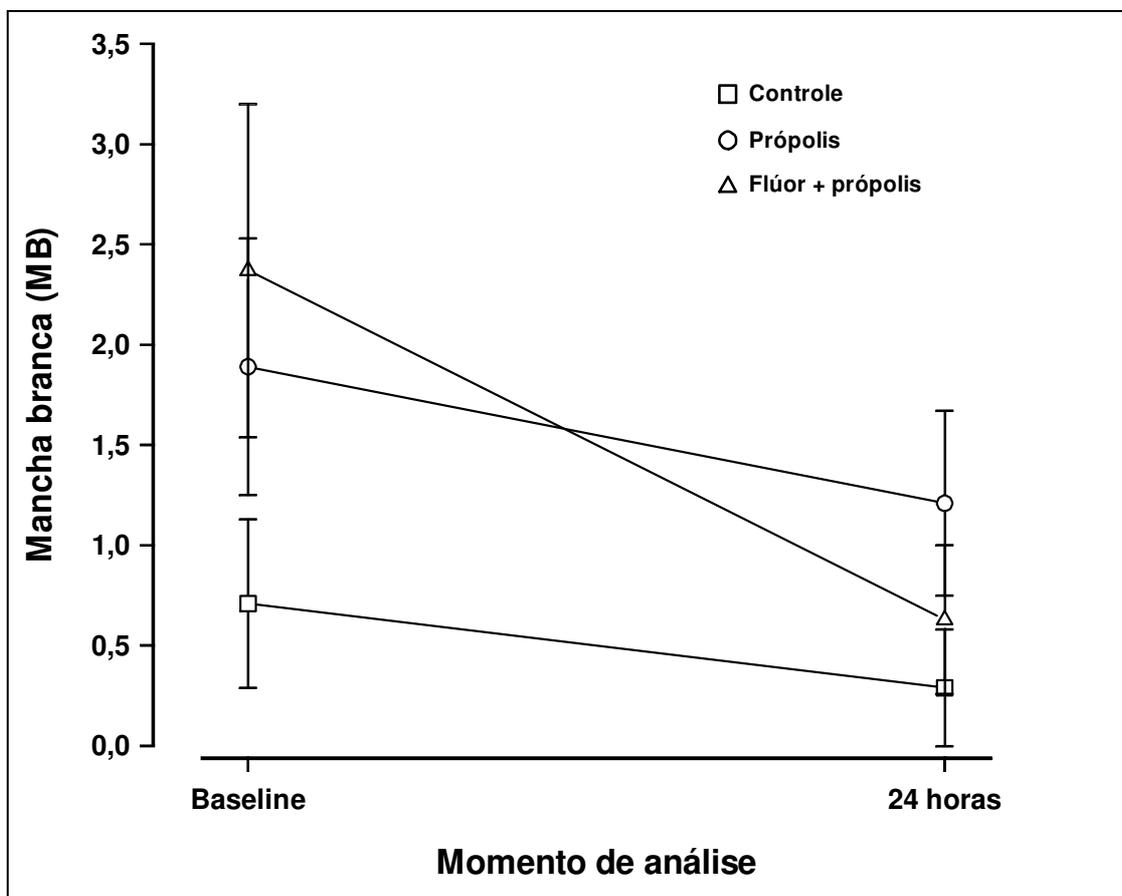


Figura 3 - Quantidade de manchas brancas (MB) nos momentos de análise *Baseline* e 24 horas após o tratamento, nos grupos experimentais Controle, Própolis e Flúor + Própolis. Os símbolos representam a média e as barras o erro padrão da média.

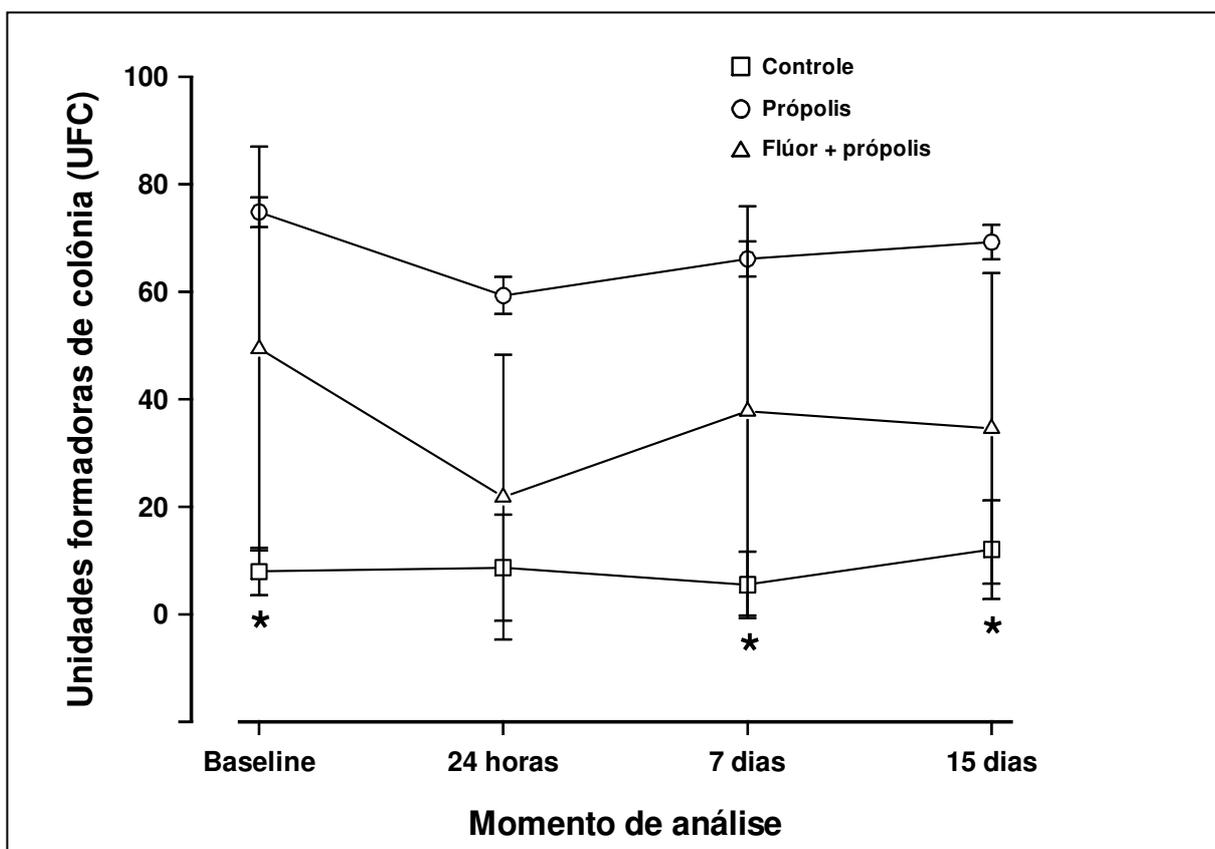


Figura 4 - Unidades formadoras de colônia (UFC) nos momentos de análise *Baseline*, 24 horas, 7 dias e 15 dias após o tratamento, nos grupos experimentais Controle, Própolis e Flúor + Própolis. Os símbolos representam a média e as barras o erro padrão da média. * Diferença significativa em relação aos grupos experimentais Própolis e Flúor + Própolis (teste ANOVA de uma via, p variando entre $<0,001$ e $0,009$, pós-teste de Tukey, $p<0,05$).

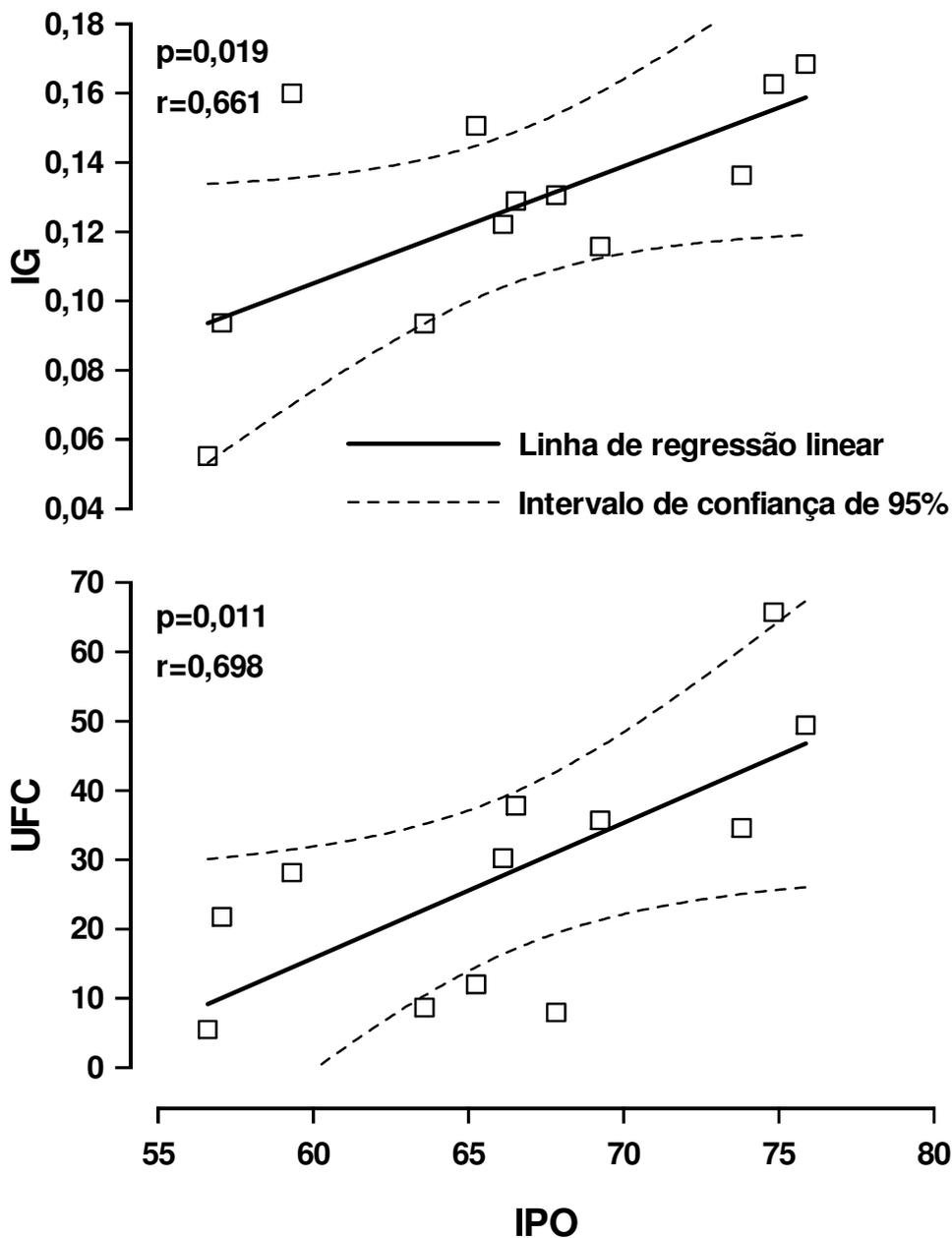


Figura 5 - Gráfico de dispersão ilustrando a correlação linear entre a variável Índice de placa ortodôntico (IPO) e as variáveis Índice Gengival (IG) e Unidades formadoras de colônia (UFC). Cada símbolo representa o valor médio das variáveis em um mesmo momento de análise. A correlação linear entre o IPO e as variáveis IG e UFC, foi avaliada por meio do teste de correlação linear de Pearson.

ANEXO A



Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Comitê de Ética em Pesquisa /CEP/UFMS



Carta de Aprovação

A minha assinatura neste documento, atesta que o protocolo nº 914 do Pesquisador Fabiano Ferreira Regalado intitulado "Ação da própolis de Apis Mellifera no controle do risco de cárie dentária e gengivite em pacientes submetidos a tratamento ortodôntico", e o seu Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, foram revisados por este comitê e aprovados em reunião ordinária no dia 30 de agosto de 2007, encontrando-se de acordo com as resoluções normativas do Ministério da Saúde.



Prof. Odair Pimentel Martins

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da UFMS

Campo Grande, 30 de agosto de 2007.