

**UNIVERSIDADE DE UBERABA  
CURSO DE ODONTOLOGIA**

**LAURA LOPES GALDINO**

**AVALIAÇÃO DA PRESENÇA E ADESÃO DE *STREPTOCOCCUS MUTANS* DE  
ACORDO COM OS TIPOS DE BRÁQUETES E COM PRESENÇA DE CÁRIE E  
MANCHA BRANCA**

UBERABA-MG

2021

**UNIVERSIDADE DE UBERABA**  
**LAURA LOPES GALDINO**

**AVALIAÇÃO DA PRESENÇA E ADESÃO DE *STREPTOCOCCUS MUTANS* DE  
ACORDO COM OS TIPOS DE BRÁQUETES E COM PRESENÇA DE CÁRIE E  
MANCHA BRANCA**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao curso de Odontologia da Universidade de Uberaba como parte dos requisitos para a conclusão do curso de Graduação em Odontologia.

Orientador (a): Prof.<sup>a</sup>: Ruchele Dias Nogueira  
Geraldo Martins

UBERABA-MG  
2021

**UNIVERSIDADE DE UBERABA**

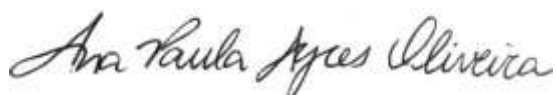
**LAURA LOPES GALDINO**

**AVALIAÇÃO DA PRESENÇA E ADESÃO DE *STREPTOCOCCUS MUTANS* DE  
ACORDO COM OS TIPOS DE BRÁQUETES E COM PRESENÇA DE CÁRIE E MANCHA  
BRANCA**

Trabalho apresentado como parte dos requisitos para obtenção do título de Cirurgião-Dentista do Curso de Graduação em Odontologia da Universidade de Uberaba.

**Aprovada em: 02/12/2021**

**BANCA EXAMINADORA:**



**Prof. Dr. Ana Paula Ayres Oliveira**

**Universidade de Uberaba**



**Prof. Dr. Ruchele Dias Nogueira Geraldo-Martins**

**Universidade de Uberaba**

**UBERABA, MG**

**2021**

## RESUMO

O acúmulo de biofilmes sobre as superfícies dentais pode levar a processos de desmineralização dentária, caracterizando a cárie. O uso do aparelho ortodôntico, por fornecer áreas retentivas, pode contribuir para um maior acúmulo de biofilmes de *Streptococcus mutans*. Vários modelos e materiais dos bráquetes vem sendo desenvolvidos com a finalidade de melhorar as propriedades mecânicas e reduzir o acúmulo microbiano, como os autoligados. Assim, os objetivos do presente estudo, foram o de comparar o acúmulo de *Streptococcus mutans* in vitro em bráquetes cerâmicos e metálicos (autoligados e convencionais) e o de detectar e comparar a presença de *S. mutans* em biofilmes coletados de usuários de aparelhos ortodônticos metálicos (autoligados e convencionais) com idades entre 18 e 45 anos, com boa saúde geral e sem uso de medicamentos. Foram incluídos 26 voluntários que assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, sendo, 10 usuários de bráquetes metálicos convencionais e 16 com autoligados. Na avaliação in vitro, os diferentes tipos de bráquetes (n=10 de cada) foram esterilizados e imersos em culturas de *S. mutans* para proliferação de biofilmes e posterior contagem do número de unidades formados de colônias (UFC). Os voluntários foram examinados oralmente e em seguida, amostras de biofilmes, adjacentes aos bráquetes foram coletadas. Este material foi encaminhado para extração de DNA e em seguida submetidos ao PCR em tempo real com primers específicos para *S. mutans*. Os resultados mostraram que os bráquetes cerâmicos permitiram uma maior adesão de *S. mutans*, visto pelo maior número de UFCs ( $379,5 \pm 192,41$ ) quando comparados aos bráquetes metálicos ( $8,7 \pm 9,3$  e  $0,5 \pm 1,5$  UFC, respectivamente para autoligados e convencionais metálicos) ( $p < 0.05$ ). A maioria das amostras de biofilme apresentou *S. mutans*. Não houve diferenças estatisticamente significantes na detecção e quantidade das bactérias testadas entre os indivíduos que usavam bráquetes autoligados ou convencionais ( $p > 0.05$ ). Lesões de manchas brancas foram mais frequentemente detectadas na interface dente/bráquete de pacientes com o autoligados ( $p < 0.05$ ). Em conclusão, os bráquetes cerâmicos permitem uma maior adesão de *S. mutans* seguido pelos bráquetes metálicos autoligados. Não há diferenças na presença das bactérias testadas nos biofilmes coletados em bráquetes metálicos convencionais ou autoligados nos pacientes analisados.

**Palavras-chaves:** *Streptococcus mutans*, Braquetes, Ortodontia.

## ABSTRACT

The accumulation of biofilms on dental surfaces can lead to dental demineralization processes, characterizing caries. The use of orthodontic appliance, by providing retentive areas, can contribute to a greater accumulation of *Streptococcus mutans* biofilms. Several models and materials of brackets have been developed with the aim of improving their mechanical properties and reducing microbial accumulation, such as self-alloying ones. Thus, the objectives of the present study were to compare the accumulation of *Streptococcus mutans* in vitro in ceramic and metallic brackets (self-ligated and conventional) and to detect and compare the presence of *S. mutans* in biofilms collected from users of metallic orthodontic appliances (self-ligated and conventional) aged between 18 and 45 years, in good general health and without the use of medication. Twenty-six volunteers who signed the Informed Consent Term were included, 10 of them using conventional metal brackets and 16 self-ligating. In the in vitro evaluation, the different types of brackets (n=10 of each) were sterilized and immersed in *S. mutans* cultures for biofilm proliferation and subsequent counting of the number of formed colony units (CFU). The volunteers were examined orally and then biofilm samples adjacent to the brackets were collected. This material was sent for DNA extraction and then submitted to real-time PCR with specific primers for *S. mutans*. The results showed that ceramic brackets allowed greater adhesion of *S. mutans*, seen by the greater number of CFUs ( $379.5 \pm 192.41$ ) when compared to metallic brackets ( $8.7 \pm 9.3$  and  $0.5 \pm 1, 5$  CFU, respectively for self-alloying and conventional metallic) ( $p < 0.05$ ). Most biofilm samples showed *S. mutans*. There were no statistically significant differences in the detection and amount of bacteria tested between individuals who used self-ligated or conventional brackets ( $p > 0.05$ ). White spot lesions were more frequently detected at the tooth/bracket interface of self-ligated patients ( $p < 0.05$ ). In conclusion, ceramic brackets allow greater adhesion of *S. mutans* followed by self-alloyed metal brackets. There are no differences in the presence of the bacteria tested in biofilms collected from conventional or self-ligated metal brackets in the patients analyzed.

**Keywords:** *Streptococcus mutans*, Brackets, Orthodontics.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Coleta da amostra do biofilme com auxílio de um fio ortodôntico pré-contornado na região dos incisivos inferior com uso do aparelho autoligado.....	16
Figura 2. Representação esquemática do processo de extração do DNA cromossomal. .....	17 e 18
Figura 3. Culturas contendo colônias de <i>S. mutans</i> crescida após o contato com bráquetes cerâmicos (CER), Autoligado (SLI) e Convencional (MAX) .....	20
Figura 4. Valores médios de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de <i>S. mutans</i> aderidos aos bráquetes cerâmicos, autoligados e convencionais.....	21
Figura 5. Número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de <i>S. mutans</i> aderidos aos 10 bráquetes autoligados e convencionais.....	21
Figura 6. Médias de intensidade de fluorescência emitidas pela detecção de <i>S. mutans</i> em amostras de biofilmes obtidas de pacientes com aparelhos autoligado (n=16) e convencional (n=10).....	22

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Seleção da Cepa e Meios de Cultura .....	14
Tabela 2. Primers de oligonucleotídeos .....	18
Tabela 3. Detecção de S. mutans em amostras de biofilmes coletadas de pacientes com bráquetes convencionais e autoligados de pacientes.....	22
Tabela 4. Frequência de detecção de alterações orais detectadas em exame clínico de pacientes com bráquetes convencionais e autoligados.....	23

## SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO .....	9
2.	HIPÓTESE .....	11
3.	JUSTIFICATIVA .....	12
4.	OBJETIVOS .....	13
5.	MATERIAL E MÉTODOS.....	14
	Parte I - Estudo <i>in vitro</i> do acúmulo de <i>S. mutans</i> em diferentes tipos de bráquetes.....	14
	<u>Seleção da Cepa Microbiana e Meios de Cultura</u> .....	14
	<u>Ensaio de formação <i>in vitro</i> de biofilme de <i>S. mutans</i> nos bráquetes</u> .....	14
	<u>Preparação do meio de cultura e Cultivo microbiano</u> .....	14
	.....Formação de biofilme.....	14
	<u>Seleção dos pacientes e Coleção amostral</u> .....	15
	<u>Extração do DNA e detecção de <i>S. mutans</i> nos biofilmes</u> .....	17
6.	RESULTADOS .....	20
7.	DISCUSSÃO .....	24
8.	CONCLUSÃO. ....	27
	<u>REFERÊNCIAS</u> .....	28
	ANEXOS .....	34



## 1. INTRODUÇÃO

O ambiente bucal é constituído por incalculáveis micro-organismos, elementos bioquímicos e imunológicos que estão em harmonia, determinado o estado saudável do hospedeiro. O tratamento ortodôntico é uma terapia amplamente aplicada para correção da estética e da má oclusão, que traz diversas modificações neste ambiente bucal sendo algumas positivas, como por exemplo na correção de um apinhamento severo, como também é capaz de trazer malefícios para o paciente, devido à dificuldade de higienização alterando o estado periodontal do paciente. (KIM *et al.*, 2012).

O desequilíbrio microbiológico do hospedeiro, devido ao aumento e modificação da colonização microbiana, está altamente relacionado a (KIM *et al.*, 2012) a cárie dentária. Como a composição microbiológica dos biofilmes sobre as faces dos dentes está diretamente relacionada à saúde oral, as consequências dos aparelhos ortodônticos fixos sobre a microflora supra/subgengival, o estado periodontal, dentário e imunológico precisa ser estudado e frequentemente vigiado. O uso de aparelhos ortodônticos fixos na cavidade oral promove o aumento do nível de acidez, resultando em um maior desafio cariogênico em torno dos aparelhos (MEI *et al.*, 2017)

Biofilmes são consequentes microbiológicos de comunidades sésseis reconhecidos por células que estão irreversivelmente conectadas a um substrato ou uma interface ou uma à outra (ZIJNGE *et al.*, 2010) contendo uma ampla variedade de espécies que interagem entre si (SHIRTLIFF *et al.*, 2009; THEIN *et al.*, 2009) e são agregados em uma matriz de substâncias poliméricas extracelulares (DONLAN & COSTERTON, 2002). A cavidade bucal é colonizada por diferentes espécies microbianas que se encontram organizadas em biofilmes (JAROSZ *et al.*, 2009). Bactérias orais aderem às superfícies dos dentes, das superfícies de restaurações de resina composta, aparelhos ortodônticos e outras superfícies de células bacterianas orais (HUANG *et al.*, 2011).

Os dispositivos usados em aparelhos ortodônticos (bandas, fios, ligaduras ou bráquetes) também são capazes de viabilizar o aumento da adesão de bactérias cariogênicas, como *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* (FOSBERG *et al.*, 1991; AHN *et al.*, 2007; PELLEGRINI *et al.*, 2009; VANISHREE *et al.*, 2017) o que leva, dentro de 6 meses da colocação dos aparelhos (TUFECKIT *et al.*, 2011), o aumento

da possibilidade de desmineralização do esmalte (FALTERMEIR *et al.*, 2008) e desenvolvimento de lesões de mancha branca descalcificadas que são capazes de avançar para cavitação (VAN DER VEEN *et al.*, 2010). As lesões de mancha branca normalmente são resultado do aumento do acúmulo de placa na superfície do dente, devido à higiene bucal inadequada em torno dos aparelhos ortodônticos (CHAPMAN *et al.*, 2010). De acordo com Rosentritt (2008) e Lim. *et al.*, (2008) a desmineralização do esmalte consecutivo da doença cárie, manifesta em 50% dos pacientes que usam aparelho ortodôntico fixo, revelando a suscetibilidade da presença de lesão de mancha branca em pacientes que realizam o tratamento ortodôntico.

Estreptococos orais, contendo *Streptococcus mutans*, são os primeiros colonizadores orais, que podem ser adquiridos logo depois de nascer (Abranches *et al.*, 2018). A aderência inicial de *S. mutans* às superfícies dentais é um pré-requisito para a geração de biofilme (KRZYSCIAK *et al.*, 2014; KLEIN *et al.*, 2015; KOO *et al.*, 2009). *S. mutans* é bastante reconhecido como um relevante agente etiológico da cárie dentária; por causa do meio de sua habilidade de aderir à superfície do esmalte, formar biofilme e produzir ácidos desmineralizantes (LAMONT *et al.*, 2015; TAKAHASHI *et al.*, 2011). *S. mutans* é um ponderoso produtor de substâncias polimerizado extracelulares e é a bactéria mais conhecida por formar biofilme na cavidade oral (XIONG *et al.*, 2020). A cárie dentária é uma doença multifatorial, cuja dinâmica depende de alguns fatores principalmente da frequência de açúcar fermentável, fatores do hospedeiro, participação de flora microbiana cariogênica e demais fatores ambientais correlacionados (RATHEE *et al.*, 2020). *S. mutans* contém diversos fatores de virulência, um dos quais é o mecanismo de adesão que depende de sacarose, responsável pela colonização da superfície dentária (ZHANG *et al.*, 2021). Adesão, produção de ácido e tolerância ao ácido; são principais fatores de virulência de *S. mutans* (SUN *et al.*, 2021).

Diante do reconhecimento do acúmulo microbiano e das doenças orais recorrentes ao uso de aparelhos ortodônticos fixos, os avanços científicos e tecnológicos da Ortodontia vêm focando para a confecção de aparelhos mais definidos no controle da força, menos retentivos e removíveis, possibilitando assim melhores condições para uma adequada higiene bucal. Os aparelhos ortodônticos fixos mais comuns se fundamentam na instalação de bráquetes e acessórios na superfície dentária, a fim de que os dentes consigam se movimentar e chegar na posição certa e restabelecer a oclusão e as funcionalidades estomatognáticas ideais.

Existem diversos tipos de sistemas sendo que bráquetes mais comum são os de aço inoxidável. Em decorrência da busca de tratamentos ortodônticos mais estéticos, surgiram os bráquetes formados com materiais cerâmicos, que são à base de óxido de alumínio ( $Al_2O_3$ ), também chamado de alumina, e esse material tem como fundamental benefício a simplicidade de ser moldados em braquetes, contudo esse método há possibilidade de formar falhas e porosidade na sua composição. (SIFAKAKIS *et al.*, 2018; SWARTZ ML *et al.*, 1988).

Os bráquetes convencionais estão relacionados a utilização de ligaduras elastoméricas ou de aço inoxidável para preservar o fio ortodôntico dentro do slot (FORSBERG *et al.*, 1991). Já os bráquetes ortodônticos autoligáveis apresentam um método exclusivo para abertura e fechamento do slot e não precisam de ligadura metálica ou elastomérica como método de ligadura do fio (CACCIASFESTA *et al.*, 2003), indicando benefício em relação à retenção do biofilme, devido à ausência destas ligaduras e, também, a sua forma que permite uma melhor higienização (PELLEGRINI *et al.*, 2009).

Entretanto, ainda existe inúmeras controvérsias a respeito desta menor adesão microbiana nos autoligáveis, e a prescrição destes bráquetes ao invés dos convencionais, pautada na melhora o acúmulo de biofilme, ainda não é capaz de ser aplicado, por conta da falta de fundamentos científicas (PEJDA *et al.*, 2013; DO NASCIMENTO *et al.*, 2014). Também não há evidências de um viável controle do desenho dos bráquetes (convencionais ou autoligáveis) sobre a formação de colônias e a adesão de *S. mutans* (PANDIS *et al.*, 2010; DO NASCIMENTO *et al.*, 2014).

Em princípio, mesmo com as mudanças nos tipos modernos de bráquetes e aparelhos, o problema do acúmulo de micro-organismos, relacionados ao tratamento ortodôntico ainda é constante na prática ortodôntica diária. Para isso, o presente trabalho verifica a adesão de *Streptococcus mutans*, através de um estudo *in vitro* em aparelhos fixos cerâmicos, autoligados e convencionais metálicos e analisa a adesão de *Streptococcus mutans*, em biofilmes formados em aparelhos ortodônticos fixos autoligados e convencionais metálicos de 26 pacientes que utilizam aparelho a mais de seis meses através do PCR (reação em cadeia da polimerase) logo é um estudo preciso e seguro, que possibilita a visualização dos micro-organismos nos pares de base do DNA, através de primers específicos (OLIVEIRA *et al.*, 2007).

## **2. HIPÓTESE**

A hipótese do estudo é a de que os bráquetes autoligados metálicos permitem uma menor adesão bacteriana, o que determina um menor surgimento de manchas brancas nas proximidades do bráquete.

### 3. JUSTIFICATIVA

O presente estudo é de grande relevância para a população em geral, profissionais da área e comunidade científica, pois traz informações sobre a presença de *S. mutans* em associação com os tipos de bráquetes (autoligados, convencionais e cerâmicos), especialmente os autoligados que foram desenhados com intuito de diminuir o acúmulo de biofilme e seus efeitos nocivos sobre a superfície dos dentes e tecidos adjacentes.

#### 4. OBJETIVOS

Avaliar a quantidade de *S. mutans* aderidos em diversos tipos de bráquetes, detectar a presença desta bactéria em biofilmes de pacientes usuários de aparelho ortodôntico e associar com exame clínico.

Os objetivos específicos incluíram:

- Quantificar a adesão *in vitro* de *S. mutans* em diferentes bráquetes ortodônticos: autoligados, cerâmicos e convencionais;
- Detectar a presença de *S. mutans* em amostras de biofilme coletadas de pacientes que estão em tratamento ortodôntico com aparelhos fixos metálicos convencionais e autoligados.
- Comparar a presença de mancha branca de acordo com o tipo de bráquete.

## 5. MATERIAL E MÉTODOS

### Parte I - Estudo *in vitro* do acúmulo de *S. mutans* em diferentes tipos de bráquetes

#### Seleção da Cepa Microbiana e Meios de Cultura

O quadro a seguir indica a cepa, seu registro de ATCC (American Type Culture Collection), e os meios de cultura utilizado para obtenção do inóculo para os testes realizados:

**Tabela 1. Seleção da Cepa e Meios de Cultura**

Micro-organismo	Número ATCC	Meio de cultura
<i>Streptococcus mutans</i>	25175	BHI (Brian Heart Infusion) com 5% de sacarose

#### Ensaio de formação *in vitro* de biofilme de *S. mutans* nos bráquetes

##### Preparação do meio de cultura e Cultivo microbiano

Foi usado o meio de cultura Brian Heart Infusion (BHI; Difco Laboratories, Detroit, MI) diluído em água deionizada e depois autoclavado em tubos de 25 mL. A cepa de *S. mutans* foi crescida em BHI ao longo de 24 h em microaerofilia a 37° C. Após alcançar uma absorbância de 1 após a mensuração a 600 nm em Espectrofotômetro (Thermo Plate TP-Reader), a cultura microbiana foi usada para a formação de biofilme.

##### Formação de biofilme

Foram usadas dez repetições em placas estéreis de 24 poços de microtitulação com fundo plano de poliestireno (Fisher Scientific, Pittsburgh, PA). Foram utilizados bráquetes metálicos (aço inoxidável) convencionais (Max) e autoligados (SLI), cerâmico (policristalino alumina) da marca Morelli (Sorocaba - SP) do incisivo central inferior. Todos os bráquetes tinham um Slot de 0,022 polegadas. Dez bráquetes de cada tipo foram primeiramente autoclavados e colocados em poços individuais de uma placa de cultura (Costar) de 24 poços. Uma suspensão de 150 µL da cultura de *S.*

*mutans* e 1 mL do meio BHI. Depois de 24 horas de incubação a 37° C em microaerofilia, os bráquetes foram transferidos com pinças estéreis e lavados para remoção das bactérias não aderentes, seguidamente foram imersos em uma solução de 2 mL de PBS estéril. Após a lavagem com PBS, os bráquetes com suas bactérias aderentes de cada poço foram tratados com 2 mL de 0,25% de tripsina EDTA por 45 minutos em condições aeróbicas a 37°C, para descolamento das bactérias aderentes. Cem microlitros deste diluído foi inoculado em meio BHI com sacarose e após 48 horas de incubação em jarra de microaerofilia a 37°C, o número total de Unidades Formadas de Colônia (UFC) foi determinado.

## **Parte II - Estudo *in vivo* da detecção de *S. mutans* em amostras de biofilmes aderidos a bráquetes metálicos autoligados e convencionais por PCR e associação com presença de manchas brancas.**

### **Seleção dos pacientes e Coleção amostral**

Vinte e seis pacientes atendidos na Clínica de Especialização da UNIUBE foram incluídos no presente estudo. Dentre os voluntários, 10 utilizavam aparelho fixo metálico convencional e 16, metálico autoligado (ambos da marca Morelli, modelos: Max e SLI, respectivamente). Estes voluntários foram elegíveis, pois faziam uso de aparelho há mais de 6 meses, não eram: fumantes, etilistas, usuários de antibióticos ou outros medicamentos nos últimos 30 dias e revelavam uma adequada saúde geral e não apresentavam cárie ou doença periodontal antes da instalação do aparelho. O presente estudo faz parte de um amplo projeto que foi aprovado pelo comitê de ética de Universidade de Uberaba sob o protocolo número (16594919.2.0000.5145, em anexo) sobre a diversidade microbiana associada ao uso de aparelhos ortodônticos. Os voluntários assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para participação no projeto. Aos voluntários foi assegurado o sigilo dos seus dados e serão utilizados apenas para objetivos científicos.

Após assinatura do TCLE, os pacientes foram submetidos a um exame clínico oral realizado por um único cirurgião-dentista. Durante a inspeção clínica foi realizada a percepção de alterações dentárias como cárie e manchas brancas. E para a avaliação de manchas brancas, adjacentes aos bráquetes colados, foi feito por visualização direta com aumento de 2 vezes e de fotografias intra-orais (Gomes-Filho



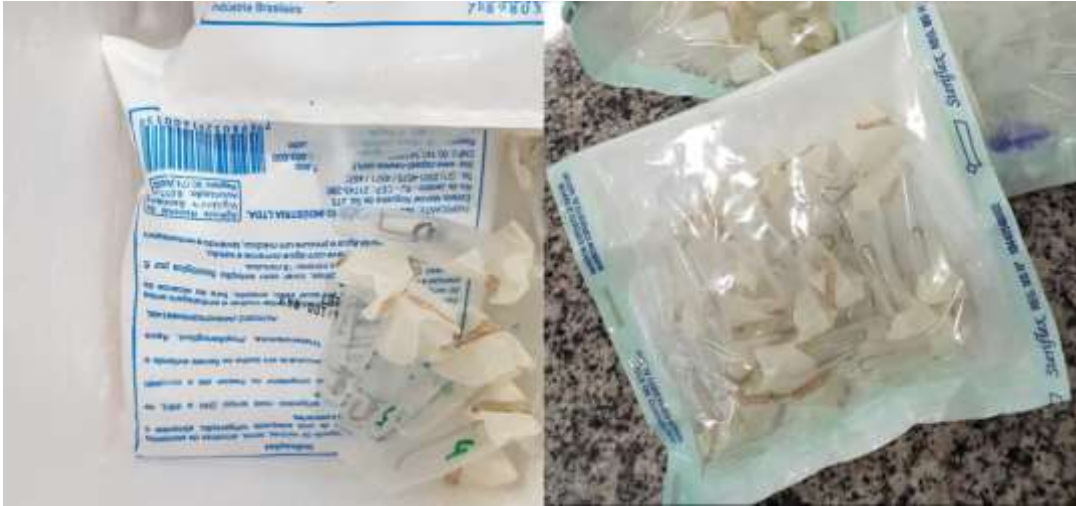
*et al.*, 2007). Uma vez detectadas as doenças bucais, os pacientes foram instruídos sobre a necessidade de uma melhor e correta higiene oral ou então encaminhados para tratamento na Clínica Getúlio Vargas da UNIUBE.

Logo após a inspeção clínica, amostras de biofilmes foram coletadas com ajuda de um fio ortodôntico pré contornado e esterilizado conforme mostrado na Figura 1, da face vestibular dos incisivos inferiores, porque é uma região que os pacientes apresentam maior dificuldade de higienização, em consequência do bráquete ser grande para um dente pequeno.



***Figura 1. Coleta da amostra do biofilme com auxílio de um fio ortodôntico pré-contornado na região dos incisivos inferior com uso do aparelho autoligado.***

Os biofilmes foram depositados em solução de PBS 1X e encaminhados em gelo para o Laboratório de Biopatologia da UNIUBE para execução dos ensaios de PCR, como mostra na figura 1.1 e 1.2. Depois dos exames laboratoriais, as amostras foram autoclavadas para descontaminação e posteriormente descartadas.

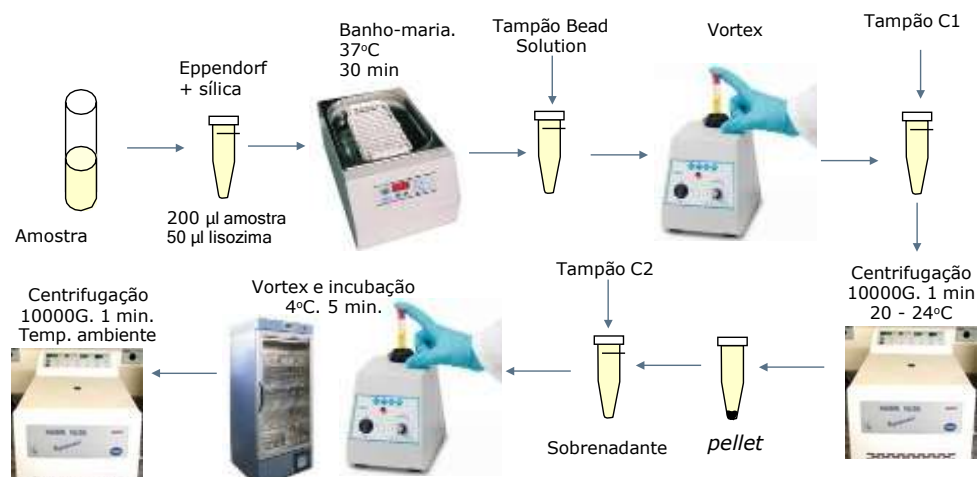


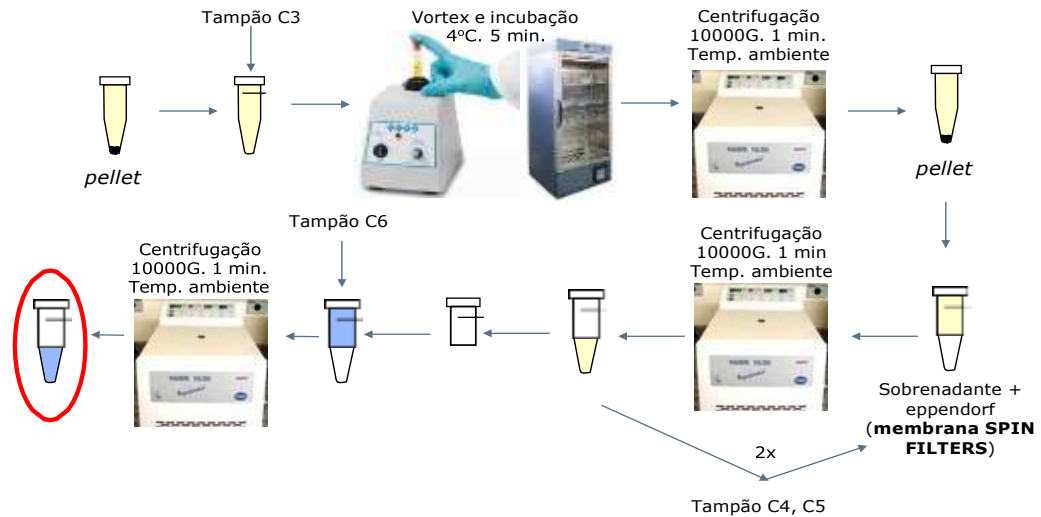
**Figura 1.1** Amostra preservada no gelo.

**Figura 1.2** Amostra estéril para descarte.

### Extração do DNA e detecção de *S. mutans* nos biofilmes

Para constatação de DNA de *S. mutans* nas amostras coletadas foram executadas as extrações de material genético, seguida pela atuação de ensaios de PCR em Tempo Real. As extrações de DNA cromossomal das amostras foram desempenhadas conforme o protocolo do fabricante do kit PowerLyzer® PowerSoil DNA Isolation, (Carlsbad, CA) conforme esquematizado abaixo na Figura 2.





**Figura 2. Representação esquemática do processo de extração do DNA cromossomal.**

Em seguida, foi feita a aferição da quantidade de material genético extraído bem como seu grau de pureza das extrações através do NanoDrop (Thermo Fisher Scientific, Wilmington, DE, EUA). A pureza das extrações das amostras em estudo foi estimada apropriadas, quando as mesmas apresentarem razão A260nm/A280 nm entre 1,8 e 2,0. Para a condução de mensuração, as amostras foram padronizadas, por meio de diluição do DNA em água ultrapura, alcançando no final, uma concentração de 15ng/ul.

Seguidamente, o DNA extraído foi submetido ao PCR em tempo real. Para os experimentos foram utilizados primers de oligonucleotídeos para amplificar pares de base de DNA da sequência listadas na tabela abaixo (Exxtend Biotecnologia Ltda). Os primers foram anteriormente dissolvidos em tampão TE 1X [10 mM tris-Hcl, EDTA 1mM (pH 7,5-8,0)].

**Tabela 2. Primers de oligonucleotídeos**

<b>Primer</b>	<b>Sequência F</b>	<b>Sequência R</b>
<i>Streptococcus mutans</i>	TCGCGAAAAAGATAAACAAACA	CCCCTTCACAGTTGGTTAG

O termociclador utilizado na realização da técnica foi planejado para conseguir uma desnaturação do DNA a uma temperatura de 95°C por um período de

10 minutos, o anelamento a 62°C por 20 segundos e a técnica de extensão a 68°C por 40 segundos. Todo o método de termociclagem se deu em 40 ciclos consecutivos sendo que o ciclo final atingiu em média o intervalo entre 75°C a 85°C. Foram adquiridas curvas de MELT, bem como as concentrações de DNA de bactérias obtidos em cada amostra. Para primeira análise dos dados obtidos por meio dos testes de q-PCR, considerou-se o limiar do Ciclo do threshold (Ct), como sendo o ciclo em que a fluorescência emitida pelo 1X SYBR GREEN foi identificada sobrepondo-se ao *background*.

Os sinais de fluorescências, expressos em Unidades de Fluorescência, emitidos pelo Sybr Green a medida que o produto é amplificado, foram expressos graficamente (sinais de fluorescência versus número de ciclos), possibilitando monitorar em tempo real através do Software StepOne®, a cinética e a amplificação, respaldada na quantidade de material genético detectado de cada amostra.

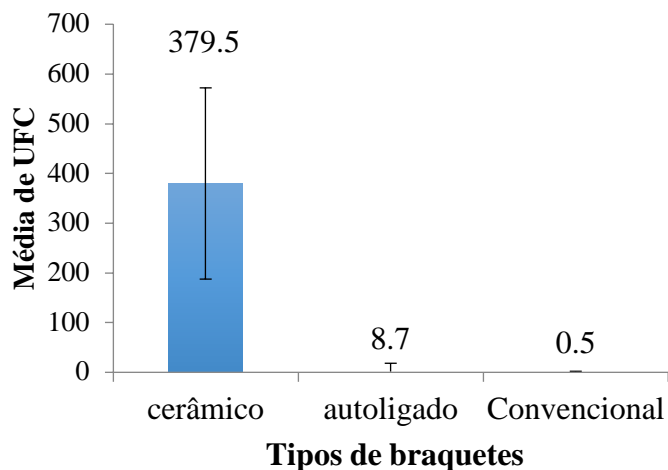
## 6. RESULTADOS

Os resultados do estudo *in vitro* mostraram que houve crescimento de colônias de *S. mutans* em diferentes quantidades de acordo com os tipos de bráquetes (Figura 3).



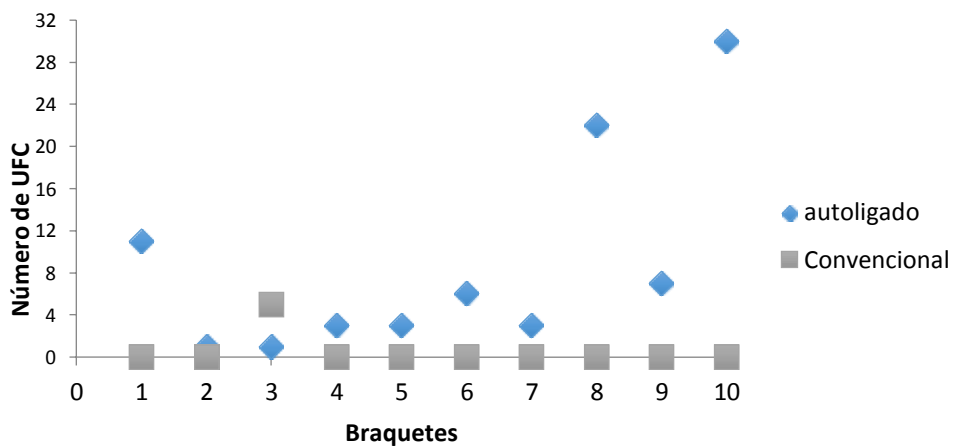
**Figura 3. Culturas representativas das contagens do número de colônias de *S. mutans* observadas nos bráquetes cerâmicos (CER), Autoligado (SLI) e Convencional (MAX).**

Um total médio de UFC  $379,5 \pm 192,41$  para os cerâmicos;  $8,7 \pm 9,3$  para os autoligados metálicos e  $0,5 \pm 1,5$  para os convencionais metálicos (Figura 4). Foram encontradas diferenças significativas na adesão de *S. mutans* nos diferentes tipos de bráquetes (Figura 4), visto que o número de UFC foi estatisticamente maior e significantes nos bráquetes cerâmicos do que nos metálicos ( $p < 0.0001$ ).



**Figura 4, Valores médios de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de *S. mutans* aderidos aos bráquetes cerâmicos, autoligados e convencionais (ANOVA  $p < 0.05$ ).**

Houve também uma diferença estatisticamente significativa entre os bráquetes de aço inoxidável (Figura 5,  $p = 0.016$ ), em que os autoligados aderiram mais micro-organismos que o convencional. Todos os bráquetes autoligados apresentam pelo menos 1 UFC ( $n = 2$ ), enquanto, apenas 1 convencional apresentou 5 UFCs.



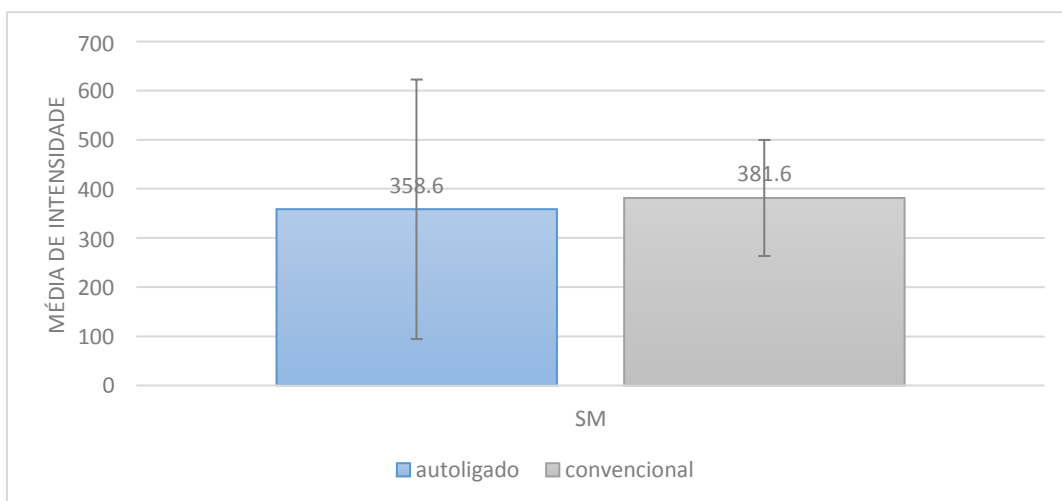
**Figura 4. Número de Unidades Formadoras de Colônias (UFC) de *S. mutans* aderidos aos 10 bráquetes autoligados e convencionais. (ANOVA  $p < 0.05$ ).**

A análise da frequência de detecção de *S. mutans* nos pacientes com diferentes tipos de bráquetes (Tabela 3) mostrou que *S. mutans* foi detectado na maioria dos aparelhos autoligados. Embora os aparelhos autoligados apresentem uma maior detecção bacteriana, não houve diferenças estatisticamente significantes na frequência de detecção dos aparelhos convencionais (Tabela 3,  $p>0.05$ ).

**Tabela 3. Detecção de *S. mutans* em amostras de biofilmes coletadas de pacientes com bráquetes convencionais e autoligados de pacientes. (QUI-QUADRADO,  $p>0.05$ )**

Tipos de bráquetes				
Detecção das bactérias:		Autoligados n=16	Convencional n=10	<i>P</i>
<i>S. mutans</i>				
	Sim	10 (62.5%)	5 (50%)	0.44
	Não	6 (37.5%)	5 (50%)	

As médias de intensidade de fluorescência emitidas pelo PCR, para cada bactéria e tipo de aparelho estão representadas na Figura 6. Não houve diferenças estatisticamente significantes nos níveis fluorescências entre os diferentes tipos de bráquetes (Figura 6,  $p>0.05$ ).



**Figura 5. Médias de intensidade de fluorescência emitidas pela detecção de *S. mutans*, em amostras de biofilmes obtidas de pacientes com aparelhos autoligado (n=16) e convencional (n=10). (ANOVA,  $p>0.05$ )**

Os dados dos exames clínicos intra-orais mostraram que nenhum paciente apresentou lesões de cárie, mas as lesões de manchas brancas foram na interface dente/bráquete foi detectado em 14 pacientes (53,8%), sendo que destes, 11 (78,6%) eram usuários de bráquetes autoligados. Embora não tenha sido diferente estatisticamente dos pacientes com aparelho convencional ( $p=0.05$ ).

**Tabela 4. Frequência de detecção de alterações orais detectadas em exame clínico de pacientes com bráquetes convencionais e autoligados. (QUI-QUADRADO)**

Tipos de bráquetes			
Exame Clínico	Autoligados n=16	Convencional n=10	<i>P</i>
<i>Manchas brancas</i>			
Sim	11 (68.8%)	3 (30%)	0.05
Não	5 (31.2%)	7 (70%)	



## 7. DISCUSSÃO

Perante dos resultados a amostragem foi não probabilística por conveniência, pois os autoligados foram menos aderentes aos cerâmicos, mas os convencionais obtiveram uma menor habilidade de adesão. Há de se considerar que os bráquetes convencionais funcionam com ligaduras elastoméricas que revelaram uma adesão microbiana. Além disto, o controle adequado do biofilme pelo paciente é mais fortemente influenciado pela certa orientação e cooperação dos pacientes do que pela simples escolha de um sistema de bráquete ao invés de outro.

Ademais, um outro princípio significativo é o desenho e tamanho do bráquete, o qual consegue ter interferência na adesão de bactérias, sendo que o desenho do bráquete convencional é mais simples que do autoligados (JUNG *et al.*, 2016). Os bráquetes cerâmicos que são à base de óxido de alumínio ( $Al_2O_3$ ), possui características singulares como, a maior rugosidade e porosidade na sua composição, o que pode facilitar a adesão de micro-organismos (SWARTZ ML *et al.*, 1988).

O presente estudo proporcionou observar a adesão de *S. mutans in vitro* e a presença de *S. mutans* em biofilmes coletados de voluntários de acordo com diferentes tipos de bráquetes. A obtenção da média das contagens do número de colônia nos meios de cultura, permitiu dimensionar a quantidade de bactérias aderidas em biofilmes nos bráquetes. A formação de biofilmes ocasionado pelo próprio ambiente bucal, rico em bactérias e substratos para o seu desenvolvimento, é um processo comum sobre as superfícies dentárias e que deve ser removido com as técnicas de higiene oral.

É esperado que em presença de mais áreas retentivas e não descamativas, ocasionadas pela utilização do aparelho ortodôntico, há uma maior adesão e acúmulo de biofilmes, especialmente em função das dificuldades de se ter medidas eficientes de higiene dental. A permanência e formação de biofilme dentário causa a desmineralização do esmalte dentário. Além das características do desenho dos bráquetes ortodônticos, foi mencionado que há uma irritação química durante a cimentação de bandas, criando espaços subgingivais, o qual facilita o acúmulo biofilme bacteriana (KLOEHN *et al.*, 2014).

Souza *et al.* (2008) contrapôs, através do PCR, que a frequência de bactérias no convencional, usando em um hemiarco a ligadura elástica e em outra ligadura metálica, observou um aumento periodontopatógenos no grupo com ligadura elástica.

Já o bráquete autoligado, que não precisa de ligaduras, contém um complexo recurso de abertura e fechamento mediante a um clipe metálico que segundo Jung *et al.*, (2016) também pode proporcionar o acúmulo de biofilme e a aderência bacteriana.

Garcez, *et al.*, em 2011 relatou que nos bráquetes convencionais há um maior acúmulo de biofilme ao redor da ligadura elástica e na ranhura, enquanto nos bráquetes autoligados o acúmulo é maior essencialmente na ranhura e abaixo do clipe de fechamento.

Embora existam diversas providencias preventivas de controle da formação deste biofilme durante o tratamento ortodôntico, não há ainda um recurso palpável para se impedir o seu desenvolvimento (OAGARD, 2008). Uma destas medidas, está associada ao desenho do bráquete, numa tentativa de se dificultar a ancoragem microbiana. Os nossos achados viabilizaram observar uma pequena diferença no número de colônias obtidas nas culturas provenientes de biofilmes obtidos de bráquetes metálicos convencionais e autoligados. Os autoligados tiveram um maior número de colônias, enquanto apenas uma amostra convencional teve *S. mutans* detectável. A revisão literária de Nascimento e colaboradores (2014), concluiu que não há evidências de uma provável influência do desenho de bráquetes (convencionais ou autoligáveis) sobre a formação de colônias e a adesão de *Streptococcus mutans*.

Nossos resultados foram muito parecidos com os encontrados por FOUMIER *et al.*, (1998); PAPAIOANNOU *et al.*, (2007); CAMEIRO *et al.*, (2018), discordando de AHN *et al.*, (2002) que evidenciou que o aço inoxidável teve a maior adesão microbiana. Por outro lado, a avaliação da adesão do *S. mutans* em amostras de bráquetes estéticos convencionais e autoligados por microscopia eletrônica de varredura não há diferença na adesão do *S. mutans* entre os aparelhos (DO NASCIMENTO *et al.*, 2014).

As incongruências encontradas na literatura, podem ser justificadas pelos diferentes métodos utilizados durante o estudo, como por exemplo Do Nascimento *et al.*, em 2014, usou o microscópio eletrônico de varredura para detecção de bactérias, o qual é um método que propicia a visualização de forma precisa da morfologia e do tamanho das bactérias. (GOLDSTEINS *et al.*, 1992), enquanto Henrique *et al.*, em 2018 fez um estudo apenas observacional. Em vista disso, para o presente estudo foi selecionado o exame PCR (reação em cadeia da polimerase) visto que, é uma análise altamente precisa e específica, usado em todas as áreas da pesquisa científica. O

PCR possibilita a caracterização de micro-organismos causadores de doenças através da amplificação das sequências de DNA que estão presentes em amostras complexas, após a extração e purificação dos ácidos nucleicos. (OLIVEIRA *et al.*, 2007).

A composição molecular e elementar da superfície do biomaterial é considerada como fator determinante da resposta precoce do ambiente biológico. A natureza polar ou não polar, a ligação de hidrogênio capacidade, e do potencial doador ou aceitador de elétrons, parecem controlar o caráter hidrofílico ou hidrofóbico e o estado energético das superfícies (PAPAIOANNOU *et al.*, 2007). Além do que, as propriedades elétricas de superfície, como zeta e potenciais de transmissão e cargas de superfície, também estão envolvidos em interações interfaciais com fluidos biológicos e células vivas.

As coletas de biofilmes foram realizadas em pacientes de um único ortodontista em que os bráquetes foram colados a pelo menos 0,5mm da gengiva livre, na face vestibular dos incisivos inferiores, sem excesso de resina na interface e que recebiam as mesmas instruções de higiene bucal, escova dental e dentifrício. A maioria das amostras de biofilme analisadas apresentaram *S. mutans* em níveis detectáveis ratificando a sua participação na formação de biofilmes dentários. Não foram encontradas divergências na detecção e quantificação de *S. mutans* entre os bráquetes autoligados e convencionais. A literatura é muito controversa sobre as variedades de colonização microbiana nos diversos tipos de bráquetes metálicos disponíveis no mercado. Alguns estudos relatam que os bráquetes autoligados são menos suscetíveis à colonização bacteriana por causa da sua forma, além da falta de ligaduras metálicas ou elastoméricas (PELLEGRINI *et al.*, 2009; PADUANO *et al.*, 2008; YU & QIAN, 2007; FERNANDES & ALMEIDA, 2008, TURKKAHRAMAN *et al.*, 2005). Outros estudos não foram unânimes em relatar uma possível influência do desenho de bráquetes (convencional ou autoligante) sobre a adesão e formação de colônias de *S. mutans* (PHITON *et al.*, 2011; PEDJA *et al.*, 2013, PANDIS *et al.*, 2010). A análise quantitativa de *S. mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Lactobacillus* e *Lactobacillus acidophilus*, através do PCR também não encontrou alterações estatisticamente entre os bráquetes autoligados e convencionais (BAKA *et al.*, 2013). Práticas habituais e apropriados de higiene bucal diminuem o biofilme cariogênico e, conseqüentemente, reduzem a proporção e a frequência da cárie dentária (SOUISSI *et al.*, 2021).

## 8. CONCLUSAO

Diante dos resultados podemos concluir que:

- Os bráquetes cerâmicos possibilitaram uma maior adesão de *S. mutans*, seguido pelos bráquetes metálicos autoligados;
- *S. mutans* foi constantemente detectado nas amostras de biofilme;
- Não houve distinções na presença e quantidade de bactérias testadas e presença de manchas brancas entre pacientes usuários de bráquetes autoligados e convencionais metálicos.

## REFERÊNCIAS

ABRANCHES J., *et al.* Biology of Oral Streptococci. **Microbiol Spectr.** 2018

AHN, S. J. *et al.*, Prevalence of cariogenic streptococci on incisor brackets detected by polymerase chain reaction. **American Journal Orthodontics Dentofacial Orthopedics**, v. 131, n. 6, p. 736-41, Jun 2007.

BAKA, Z.M. *et al.*, Effects of 2 bracket and ligation types on plaque retention: A quantitative microbiologic analysis with real-time polymerase chain reaction. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, St. Louis, v.144, n. 2, p. 260-267, ago. 2013.

CACCIAFESTA, V. *et al.*, Evaluation of friction of stainless steel and esthetic self-ligating brackets in various bracket-archwire combinations. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, v. 124, n. 4, p. 395-402, Oct 2003.

CHAPMANET, J. A. *et al.*, Risk factors for incidence and severity of white spot lesions during treatment with fixed orthodontic appliances. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, v. 138, n. 2, p. 188-94, Aug 2010.

DO NASCIMENTO, L. E. *et al.*, Are self-ligating brackets related to less formation of *Streptococcus mutans* colonies? A systematic review. **Dental Press Journal Orthodontics**, v. 19, n. 1, p. 60-8, Jan-Feb 2014.

DONLAN, R. M. *et al.*, Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. **Clinical Microbiology Reviews** [S.I.], v. 15, n. 2, p. 167- 93, Apr 2002.

FALTERMEIER, A. *et al.*, Bacterial adhesion of *Streptococcus mutans* to esthetic bracket materials. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, v. 133, n. 4 Suppl, p. S99-103, Apr 2008.

FERNANDES C, *et al.*, Self-ligating appliances: evolution or revolution?, **Journal Australian Orthodontic**, v. 24,n.1, p. 97-106, 2008.

FERNANDES, D. *et al.*, A estética no sistema de braquetes autoligáveis, **Revista Dental Press Ortodontics Orthopedics Facial** vol.13 no.3 Maringá May/June 2008.

FORSBERG, C. M. *et al.*, Ligature wires and elastomeric rings: two methods of ligation, and their association with microbial colonization of *Streptococcus mutans* and *Lactobacilli*. **Europe Journal Orthodontics**, v. 13, n. 5, p. 416-20, Oct 1991.

FOURNIER, A. *et al.*, Adherence of *Streptococcus mutans* to orthodontic brackets. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, v.114,p.414-417, 1998.

GARCEZ, A.S. *et al.*, Biofilm retention by 3 methods of ligation on orthodontic brackets: a microbiologic and optical coherence tomography analysis. **American journal of orthodontics and dentofacial orthopedics**, St. Louis, v. 140, n. 4, p. 193-198, out. 2011

GOLDSTEIN A.N *et al.*, Melting in Semiconductor Nanocrystals. **Revista Science** ,v. 256, p. 1425-1427, jun 1992.

HENRIQUE R.S., *et al.*, Influence of conventional or self-ligated brackets on periodontal parameters- literature review. **Journal of periodontal**, v.28,n.1, marc 2018.

HUANG R, LI, M. & GREGORY, RL *et al.*, Bacterial interactions in dental biofilm. **Virulence**. 2011.

JAROSZ, L. M. *et al.*, *Streptococcus mutans* competence-stimulating peptide inhibits *Candida albicans* hypha formation. **Eukaryotic Cell** [S.l.], v. 8, n. 11, p. 1658-64, Nov 2009.

JUNG W, *et al.*, Adhesion of periodontal pathogens to self-ligating orthodontic brackets: An in-vivo prospective study. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, v. 150, p. 467-75, 2016.

KIM, S. H. *et al.*, Microbiologic changes in subgingival plaque before and during the early period of orthodontic treatment. **Angle Orthodontics**, v. 82, n. 2, p. 254-60, Mar 2012.

KLEIN MI. *et al.*, Streptococcus mutans-derived extracellular matrix in cariogenic oral biofilms. **Front Cell Infect Microbiol**. 2015 Feb.

KOO H. *et al.*, Extracellular polysaccharides matrix--an often forgotten virulence factor in oral biofilm research. **Int J Oral Sci**. 2009 Dec.

KRZYŚCIAK W. *et al.*, The virulence of Streptococcus mutans and the ability to form biofilms. **Eur J Clin Microbiol Infect Dis**. 2014.

LAMONT, R.J. *et al.*, Dental caries. In **Molecular Medical Microbiology**, 2nd ed.; Tang, Y.W., Sussman, M., Liu, D., Poxton, I., Schwartzman, J., Eds.; Elsevier Ltd.: Amsterdam, The Netherlands, 2015; pp. 945-955.

LIM B.S. *et al.*, Quantitative analysis of adhesion of cariogenic streptococci to orthodontic raw materials. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, v.133,p.882-888, 2008.

MEI, L. *et al.*, Factors affecting dental biofilm in patients wearing fixed orthodontic appliances. **Prog. Orthod**. 2017, 18, 1-6.

OAAGARD B. White spot lesions during orthodontic treatment: mechanisms and fluoride preventive aspects. **Semin Orthodontics**, v.14,p.183-193, 2008.

OLIVEIRA M. *et al.*, Fundamentos teóricos-práticos e protocolos de extração e de amplificação de dna por meio da técnica de reação em cadeia da polymerase. Embrapa Pecuária de São Paulo, 2007.

PADUANO S, *et al.*, Time efficiency of self-ligating vs conventional brackets in orthodontics: effect of appliances and ligating systems. **Progama Orthodontics**, v.9, n.2, p.74-80, 2008.

PANDIS N, *et al.*, Salivary *Streptococcus mutans* levels in patients with conventional and self-ligating brackets. **Europe Journal Orthodontics**. v.32,p.94-916, 2010.

PAPAIOANNOU, W. *et al*, Salivary ***Streptococcus mutans*** levels in patients with conventional and self-ligating brackets, *European Journal of Orthodontics*, v. 32, Issue 1, p. 94-99, Feb 2007.

PEJDA, S. *et al.*, Clinical and microbiological parameters in patients with self-ligating and conventional brackets during early phase of orthodontic treatment. **Angle Orthodontics**, v. 83, n. 1, p. 133-9, Jan 2013.

PELLEGRINI P. *et al.*, Plaque retention by self-ligation vs elastomeric orthodontic brackets: quantitative comparison or oral bacteria detection with adenosine triphosphate-driven bioluminescence. **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**; v.135, n. 4, p.426.e1-9, 2009.

PHITON MM, *et al.*, Do self-ligating brackets favor greater bacterial aggregation? **Brazil Journal Oral Science**. v.10, n.3, p.208-12, 2011.

RATHEE M. *et al.*, Dental Caries. In: **StatPearls. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020.**

SIFAKAKIS, I. *et al.*, Salivary levels of cariogenic bacterial species during orthodontic treatment with thermoplastic aligners or fixed appliances: a prospective cohort study.**Progress in Orthodontics**, v.19. Augst 2018.

SHIRTLIFF, M. E. *et al.*, Cross-kingdom interactions: *Candida albicans* and bacteria. **Microbiology Letters** [S.I.], v. 299, n. 1, p. 1-8, Oct 2009.



SOUISSI, M. *et al.*, Effect of a Berry Polyphenolic Fraction on Biofilm Formation, Adherence Properties and Gene Expression of *Streptococcus mutans* and Its Biocompatibility with Oral Epithelial Cells. **Antibiotics** 2021, 10, 46.

SOUZA RA. *et al.*, Periodontal and microbiologic evaluation of 2 methods of archwire ligation: Ligature wires and elastomeric rings **American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics**, v.134,p.506-512, Orthop 2008.

SWARTZ ML, *et al.*, Ceramic Brackets. **Journal of Clinical Orthodontics**, v. 28, n.01, Marc 1988.

TAKAHASHI, N. *et al.*, The role of bacteria in the caries process: Ecological perspectives. **J. Dent. Res.** 2011, 90, 294-303.

THEIN, Z. M. *et al.*, Community lifestyle of *Candida* in mixed biofilms: a mini review. **Mycoses** [S.I.], v. 52, n. 6, p. 467-75, Nov 2009.

TUFEKCI, E. *et al.*, Prevalence of white spot lesions during orthodontic treatment with fixed appliances. **Angle Orthodontics**, v. 81, n. 2, p. 206-10, Mar 2011.

TÜRKKAHRAMAN H, *et al.*, Archwire ligation techniques, microbial colonization, and periodontal status in orthodontically treated patients. **Angle Orthodontics**, v.75(2) p.231-6,2005.

VAN DER VEEN, M. H. *et al.*, Caries outcomes after orthodontic treatment with fixed appliances: do lingual brackets make a difference? **European Journal Oral Science**, v. 118, n. 3, p. 298-303, Jun 2010.

VANISHREE, T. *et al.*, Changes in the Oral Environment after Placement of Fixed Orthodontic Appliance for the Treatment of Malocclusion - a Descriptive Longitudinal Study. **Oral Health Dent**, v. 15, n. 5, p. 453-459, 2017.

XIONG K. *et al.*, Antimicrobial Effect of a Peptide Containing Novel Oral Spray on *Streptococcus mutans*. **Biomed Res Int.** 2020 Mar.

SUN Y. *et al.*, "The Inhibitory Effects of Ficin on *Streptococcus mutans* Biofilm Formation", **BioMed Research International**, vol. 2021.

YU YL, Qian YF. The clinical implication of self-ligating brackets. **Shanghai Kou Qiang Yi Xue**, v.16 (4), p.431-5, 2007.

Zhang, Q., Ma, Q., Wang, Y. *et al.* Molecular mechanisms of inhibiting glucosyltransferases for biofilm formation in *Streptococcus mutans*. *Int J Oral Sci* **13**, 30 (2021).

ZHANG, Q. *et al.*, Molecular mechanisms of inhibiting glucosyltransferases for biofilm formation in *Streptococcus mutans*. *Int J Oral Sci* **13**, 30 (2021).

ZIJNGE, V. *et al.*, Oral biofilm architecture on natural teeth. **Plos One**, v.15, n. 1, Feb 2010.

UNIVERSIDADE DE UBERABA -  
UNIUBE



## PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Avaliação das alterações do ambiente bucal após colocação de aparelho ortodôntico fixo para o tratamento da má oclusão

**Pesquisador:** Ruchele Dias Nogueira

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 16594919.2.0000.5145

**Instituição Proponente:** SOCIEDADE EDUCACIONAL UBERABENSE

**Patrocinador Principal:** SOCIEDADE EDUCACIONAL UBERABENSE

### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 3.526.349

#### Apresentação do Projeto:

Retira-se da proposta a seguinte apresentação: "Aparelhos ortodônticos podem estar associados a efeitos adversos intra-orais sobre os dentes e o periodonto, pois fornecem um ambiente adequado para que microorganismos se acumulem em biofilmes e estimulem uma resposta imune do hospedeiro. O acúmulo de biofilmes sobre as superfícies dentais pode levar a processos de desmineralização dentária, bem como o surgimento de doenças periodontais, por meio da formação de biofilmes subgengivais. Se por um lado, o tratamento ortodôntico pode contribuir para a ancoragem microbiana, por outro, o alinhamento dentário pode ajudar na higiene, restaurar a estética, a função mastigatória e a boa oclusão. Vários modelos de aparelhos ortodônticos vem sendo indicados pelos profissionais, a fim de reduzir o acúmulo microbiano ocasionados pelos aparelhos convencionais, como por exemplo os sistemas auto-ligados e os alinhadores termoplásticos. Há controvérsias e pouca informação sobre a diversidade microbiana dos biofilmes formados durante o tratamento ortodôntico, especialmente sobre o envolvimento dos micro-organismos recentemente associados a cárie precoce. Diante disto, são objetivos do estudo avaliar a presença de micro-organismos orais em biofilmes supra e subgengivais, quantificar mediadores inflamatórios e componentes salivares e comparar dados clínicos, como presença de manchas brancas e doenças periodontais em pacientes tratados ortodonticamente com aparelhos convencionais, auto-ligados e alinhadores termoplásticos. Para isto, serão avaliados 100pacientes, sendo 50 entre 12 a 45 anos com indicação para tratamento ortodôntico (G1) e 50 pacientes com

**Endereço:** Av.Nene Sabino, 1801

**Bairro:** Universitário

**CEP:** 38.055-500

**UF:** MG

**Município:** UBERABA

**Telefone:** (34)3319-8816

**Fax:** (34)3314-8910

**E-mail:** cep@uniube.br

Continuação do Parecer: 3.526.349

tratamento já iniciado por 6 meses (G2). Serão examinados clinicamente e divididos em grupos, de acordo com as condições periodontais, presença de lesões de cáries e tipo de aparelho ortodôntico indicado para correção da má oclusão. Serão coletadas amostras de fluido crevicular gengival da região dos incisivos inferiores, amostras salivares não estimuladas e biofilmes nos molares. Estas amostras serão encaminhadas para análise dos níveis de mediadores pro-inflamatórias através de Ensaio Elisa e a diversidade microbiana por ensaios de PCR quantitativo. Os resultados elucidarão os efeitos dos diversos tipos de aparelhos ortodônticos na colonização oral, na resposta do hospedeiro e evolução clínica".

#### **Objetivo da Pesquisa:**

A proposta descreve os seguintes objetivos primários: "O objetivo geral do estudo é o de avaliar as modificações microbiológicas, bioquímicas e imunológicas do ambiente oral em decorrência do tratamento ortodôntico de diferentes tipos de brackets. Os objetivos específicos incluem analisar a presença de micro-organismos orais em biofilmes supra e subgengivais e mediadores inflamatórios em pacientes com doença periodontal e lesões cariosas incipientes tratados ortodonticamente com aparelhos convencionais, auto-ligados e alinhadores termoplásticos e observar os efeitos clínicos do tratamento ortodôntico no restabelecimento das doenças associadas. Além de divulgar e publicar os resultados encontrados em revistas de bom impacto, formar alunos de mestrado e doutorado em várias áreas de conhecimento

#### **Avaliação dos Riscos e Benefícios:**

A proposta descreve os seguintes riscos e benefícios:

"Riscos: O presente projeto não apresenta riscos aos participantes por se tratar de coletas seguras, não invasivas e indolores".

"Benefícios: Os benefícios aos participantes concentrar-se-ão nas instruções individuais realizadas pelos pesquisadores sobre a prevenção de doença oral (cárie e doenças periodontais) durante o tratamento ortodôntico. Após a realização das coletas será realizado profilaxia e adequação do meio bucal, com auxílio de taças de borracha e pasta dentária fluoretada. Os pacientes que apresentarem cárie ou doença periodontal durante o exame clínico serão encaminhados para tratamento na Clínica Integrada da Universidade de Uberaba".

Foi solicitado no último parecer que os autores se atentassem para complementar as informações dos riscos e dos benefícios com dados sobre o risco da perda de confidencialidade e sobre o benefício indireto da proposta.

**Endereço:** Av.Nene Sabino, 1801

**Bairro:** Universitário

**CEP:** 38.055-500

**UF:** MG

**Município:** UBERABA

**Telefone:** (34)3319-8816

**Fax:** (34)3314-8910

**E-mail:** cep@uniube.br

UNIVERSIDADE DE UBERABA -  
UNIUBE



Continuação do Parecer: 3.526.349

Nessa última versão do PB\_INFORMAÇÕES\_BÁSICAS\_DO\_PROJETO\_1389701, estas informações continuam ausentes. Tais informações foram corrigidas/adicionadas apenas nos seguintes documentos: 1- TCLE(TERMO\_DE\_CONSENTIMENTO\_ORTOCORRIGIDO), 2- Projeto completo (Projeto\_ORTO\_corrigido) e 3- Carta de resposta ao CEP-UNIUBE (carta\_resposta\_CEP\_UNIUBE\_2019\_ORTO);

**Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:**

No presente projeto, os autores visam a realização de um estudo laboratorial, do tipo experimental, de natureza qualitativa, com finalidade aplicada, e com temporalidade transversal. Afim de avaliar a presença de micro-organismos orais em biofilmes supra e subgingivais, quantificar mediadores inflamatórios e componentes salivares e comparar dados clínicos, como presença de manchas brancas e doenças periodontais em pacientes tratados ortodonticamente com aparelhos convencionais, auto-ligados e alinhadores termoplásticos.

Após análise dos documentos enviados, constata-se que o presente projeto de pesquisa apresenta todos os componentes necessários, tendo objetivos, metodologia, hipóteses e justificativas pertinentes a pergunta/problema de pesquisa. Dessa forma, o presente projeto está de acordo com todos os quesitos legislados pela Resolução 466/12.

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

Os autores apresentam os seguintes documentos:

- 1- Projeto preenchido na Plataforma Brasil (PB\_INFORMAÇÕES\_BÁSICAS\_DO\_PROJETO\_1389701);
- 2- Projeto Detalhado / Brochura Investigador (Projeto\_ORTO\_corrigido.doc);
- 3 - TCLE/Termos de Assentimento/Justificativa de Ausência(Projeto\_ORTO\_corrigido.doc) ;
- 4- Carta de autorização assinada pelos Coordenadores Clínicos da Policlínica Getúlio Vargas(cart\_a\_utorizacao\_orto.pdf);
- 5- Declaração do conhecimento e anuência a Resolução 466/12(DECLARAcAoOORTO.pdf);
- 6- Folha de rosto - Plataforma Brasil assinada pelo Pro-Reitor de Pesquisa e Pós-Graduação da UNIUBE (pagina\_rosto.jpeg);
- 7- Carta de Resposta ao CEP-UNIUBE (carta\_resposta\_CEP\_UNIUBE\_2019\_ORTO.pdf).

**Recomendações:**

Nada digno de nota.

Endereço: Av.Nene Sabino, 1801

Bairro: Universitário

CEP: 38.055-500

UF: MG

Município: UBERABA

Telefone: (34)3319-8816

Fax: (34)3314-8910

E-mail: cep@uniube.br

**UNIVERSIDADE DE UBERABA -  
UNIUBE**



Continuação do Parecer: 3.526.349

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

Salvo melhor entendimento dos componentes desta Plenária, o presente projeto pode ser aprovado em razão que nesta versão foi apresentada todas as correções sugeridas anteriormente. Nesta versão, o presente projeto está de acordo com todos os quesitos legislados pela Resolução 466/12.

**Considerações Finais a critério do CEP:**

Em 22/08/2019, a plenária votou de acordo com o relator, pela aprovação da proposta. O CEP-UNIUBE lembra o pesquisador responsável pelo projeto do seu compromisso com a Resolução 466/12, especialmente no tocante à proteção do participante da pesquisa e da entrega do relatório parcial/final através de Emenda, na Plataforma Brasil

**Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:**

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1389701.pdf	30/07/2019 14:30:21		Aceito
Outros	carta_resposta_CEP_UNIUBE_2019_ORTO.pdf	30/07/2019 14:29:53	Ruchele Dias Nogueira	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_ORTO_corrigido.docx	30/07/2019 14:29:34	Ruchele Dias Nogueira	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TERMO_DE_CONSENTIMENTO_ORTOCORRIGIDO.doc	30/07/2019 14:28:06	Ruchele Dias Nogueira	Aceito
Declaração de Pesquisadores	DECLARACAOOORTO.pdf	01/07/2019 11:54:54	Ruchele Dias Nogueira	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	carta_autorizacao_orto.jpeg	01/07/2019 11:49:39	Ruchele Dias Nogueira	Aceito
Folha de Rosto	pagina_rosto.pdf	01/07/2019 11:48:04	Ruchele Dias Nogueira	Aceito

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Endereço:** Av.Nene Sabino, 1801

**Bairro:** Universitário

**CEP:** 38.055-500

**UF:** MG

**Município:** UBERABA

**Telefone:** (34)3319-8816

**Fax:** (34)3314-8910

**E-mail:** cep@uniube.br