**AVALIAÇÃO CLÍNICA E MICROBIOLÓGICA DA
SAÚDE PERIODONTAL DE CRIANÇAS
PORTADORAS DE FISSURA COMPLETA DE
LÁBIO E PALATO UNILATERAL COMPARADA A
DE CRIANÇAS SEM FISSURAS NA MESMA
FAIXA ETÁRIA (5 - 6 ANOS)**

BEATRIZ COSTA

*Tese apresentada à Faculdade de
Odontologia de Bauru, da Universidade de
São Paulo, como parte dos requisitos para
obtenção do título de Doutor em
Odontologia, na Área de Odontopediatria.*

**BAURU
2000**

**AVALIAÇÃO CLÍNICA E MICROBIOLÓGICA DA
SAÚDE PERIODONTAL DE CRIANÇAS
PORTADORAS DE FISSURA COMPLETA DE
LÁBIO E PALATO UNILATERAL COMPARADA A
DE CRIANÇAS SEM FISSURAS NA MESMA
FAIXA ETÁRIA (5 - 6 ANOS)**

BEATRIZ COSTA

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Bauru, da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Odontologia, na Área de Odontopediatria.

(EDIÇÃO REVISTA)

**ORIENTADORA: PROF^A. DR^A. ODILA
PEREIRA DA SILVA ROSA**

**BAURU
2000**

C 823 a Costa, Beatriz
 Avaliação clínica e microbiológica da saúde periodontal
de crianças portadoras de fissura completa de lábio e palato
unilateral comparada a de crianças sem fissura na mesma
faixa etária (5 – 6 anos) / Beatriz Costa. - - Bauru; 2000.
 170p. : il. ; 30 cm.

 Tese. (Doutorado) -- Faculdade de Odontologia de
Bauru, USP.

 Orientadora : Prof^a. Dr^a. Odila Pereira da Silva Rosa

Autorizo, exclusivamente para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese, por processos fotocopiadores e outros meios eletrônicos.

Assinatura do autor:

Bauru, 02 de fevereiro de 2000

DADOS CURRICULARES

09 de outubro de 1959
Campinas, SP

Nascimento

1979 - 1982

Curso de Odontologia - Faculdade
de Odontologia de Bauru - USP

1983 - 1985

Residência Odontológica em
Odontopediatria - HPRLLP - USP -
Bauru

1983 - 1984

Curso de Especialização em
Odontopediatria - FOB - USP.

1984 - 1985

Curso de Atualização em Ortodontia
Preventiva - PROFIS - Bauru.

1986

Odontopediatra do HPRLLP - USP -
Bauru.

1992 - 1995

Curso de Mestrado em
Odontopediatria - pela Faculdade de
Odontologia de Bauru - USP.

1995 - 2000

Curso de Doutorado em
Odontopediatria - pela Faculdade de
Odontologia de Bauru - USP.

Associações

SBPqO - Sociedade Brasileira de
Pesquisas Odontológicas.

" A vida não é uma viagem em si.
Não é uma meta. É um processo.
A gente chega lá passo a passo.
E se cada passo for maravilhoso,
e se cada passo for mágico,
é assim que será a vida..."

(autor desconhecido)

À DEUS,

...pela presença constante em minha vida

...pela força para enfrentar as dificuldades

...pela quietude para alcançar a paz

À minha família,

...essência da minha vida,

pelo amor, paciência e compreensão,

pelos sacrifícios partilhados nos momentos de

ausência, mas sobretudo pela inesgotável

fonte de estímulo para o meu aprimoramento

DEDICO COM AMOR

ESTE TRABALHO

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À Prof^a. Dr^a. Odila Pereira da Silva Rosa

...pela orientação deste trabalho,
pela honestidade profissional, segurança,
incentivo transmitidos no dia a dia e,
acima de tudo, pela amizade que nos une.

Obrigada

...Raras e especiais são as pessoas que
conjugam bondade e firmeza,
dedicação ao trabalho
e amor à todos.

À CRIANÇA,

pelo sorriso, carinho e gestos
retribuídos àqueles que se
dedicam à Odontopediatria

AGRADECIMENTOS

Ao **Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais**

Através de seu Superintendente

Prof. Dr. José Alberto de Souza Freitas,

agradeço a oportunidade de compartilhar
de seu ideal de fazer sorrir, falar, ver, ouvir,
sentir e integrar

Ao **Diretor da Divisão Odontológica,**

Prof. Dr. Heli Benedito Brosco,

pela possibilidade de aprimoramento profissional

Ao **Diretor do Serviço Odontológico,**

Prof. Dr. João Henrique Nogueira Pinto,

pelo apoio e amizade

Ao presidente da **Unidade de Ensino e Pesquisa,**

Prof. Dr. Leopoldino Capelloza Filho, pelo exemplo e
estímulo á pesquisa

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia de Bauru,

através de seu Diretor **Prof. Dr. Aymar Pavarini,**

pelo constante incentivo e amizade

À Comissão dos Cursos de Pós-Graduação, através

de seu Presidente **Prof. Dr. Luiz Fernando Pegoraro,**

pelo apoio no decorrer do curso

Meus agradecimentos

À todos os Professores do Curso de Pós-Graduação, pelos ensinamentos transmitidos

Aos Professores do Departamento de Odontopediatria da FOB:

Dr. Vono, Dr. Aymar, Dr^a. Maria Francisca, Dr. José Eduardo, Dr. Ruy, Dr^a. Salete e Dr^a. Maria Aparecida, pela oportunidade de poder desfrutar de seus conhecimentos, experiências e amizade

Aos Funcionários do Departamento de Odontopediatria da

FOB, D^a Wilma, D^a Lia, Maria Estela, Liliam, Fátima, Sr. Walter e Paulo, pelo convívio, amizade e disposição

Aos amigos do Curso de Pós-Graduação em Odontopediatria:

Cadu, Max, Nildinha e Valéria, por todos os caminhos que juntos andamos

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À Prof.^a. Dr.^a. Marcia Ribeiro Gomide, pelo incentivo e confiança no meu desenvolvimento. Poder desfrutar de sua amizade e apoio no mesmo ambiente de trabalho é motivo de muito orgulho para mim

Às **Odontopediatras do HRAC: Cleide e Lucimara** pelo carinho e amizade que sempre nos uniu

Às demais funcionárias do **Setor de Odontopediatria do HRAC, Claudia e Ana Maria**, companheiras de todas as horas e **Alunos do Curso de Especialização**, minha gratidão pela convivência agradável e apoio indispensáveis no dia a dia de trabalho

Ao Prof. Dr. Sérgio Aparecido Torres e Funcionários do Departamento de Microbiologia da FOB: Dalva, Sr. Osni e André, agradeço por terem participado comigo, como uma família, em todas as etapas da realização deste trabalho, colaborando para meu crescimento pessoal e intelectual.

AGRADECIMENTOS

Aos **Funcionários da Unidade de Ensino e Pesquisa** do Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais, pela amizade, colaboração e disponibilidade constantes

Aos **Funcionários do Serviço de Biblioteca e Documentação** da Faculdade de Odontologia de Bauru, em especial à **Cibele** pela presteza e amizade

Aos Funcionários da Secretaria de Pós-Graduação, da Faculdade de Odontologia de Bauru, pela boa vontade constante

Aos Funcionários do Serviço de Prontuário de Pacientes e da **Central de Agendamento** do HRAC pela valiosa colaboração na realização deste trabalho

Meu profundo agradecimento

Às grandes e eternas amizades: **TERESA, SUELI E MARCINHA**

Ao **José Roberto Pereira Lauris** pela realização da Análise Estatística

À **Dalva**, amiga e sempre disposta a ajudar

À **Gisele**, possuidora de tantos dons, sempre compartilhados

Ao Setor de Fotografia do HRAC, **Toninho, Carlos e Edson**, e à **Teka** pela realização das fotografias

Aos **Pacientes do HRAC**, razão maior do nosso aprimoramento

Enfim, à **todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.**

SUMÁRIO

RESUMO

01	INTRODUÇÃO	02
02	REVISÃO DE LITERATURA	07
	I - Doença periodontal em portadores de fissura	07
	II - Gengivite e microbiota periodontal em crianças	25
03	PROPOSIÇÃO	69
04	MATERIAL E MÉTODOS	71
05	RESULTADOS	86
06	DISCUSSÃO	102
07	CONCLUSÕES	132
	ANEXOS	135
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	147
	ABSTRACT	169

Resumo

RESUMO

Crianças portadoras de fissura de lábio e palato apresentam alterações anatômicas decorrentes da própria anomalia e dos procedimentos terapêuticos para a sua reabilitação, que podem predispô-las a um maior acúmulo de placa bacteriana, principalmente na região anterior da maxila. Com o objetivo de comparar as condições clínicas, através da utilização dos índices de placa (IP) e gengival (IG) de Løe (1967) e a presença das bactérias *P. gingivalis*, *P. nigrescens* e *T. denticola*, através da técnica "Slot Immunoblot", foram avaliadas 57 crianças com dentição decídua e idades entre 5 e 6 anos, sendo 30 portadoras de fissura completa de lábio e palato unilateral (grupo experimental) e 27 crianças sem fissura (grupo controle). O IP médio do grupo experimental ($1,82 \pm 0,38$) foi superior ao do grupo controle ($1,63 \pm 0,38$), embora sem diferença estatisticamente significativa, enquanto o IG médio do grupo experimental ($1,05 \pm 0,22$) foi significativamente superior ao do grupo controle ($0,79 \pm 0,33$) ($p < 0,05$). No grupo experimental a área da fissura (2 sítios), com IP médio de $2,04 \pm 0,58$ e IG médio de $1,11 \pm 0,26$, quando comparada à região posterior (4 sítios), com IP médio de $1,74 \pm 0,37$ e IG médio de $1,04 \pm 0,26$, mostrou diferença estatisticamente significativa somente em relação ao IP. Considerando a severidade, a maioria das crianças dos dois grupos apresentou IP de grau moderado, 73,33% para o grupo experimental e 81,48% para o grupo controle; enquanto, para o IG, a maioria apresentou severidade de grau baixo, sendo de 53,33% para o grupo experimental e de 70,37% para o grupo controle. Quando da

estatisticamente significativa somente em relação ao IP, que foi maior na área da fissura. Na pesquisa dos microrganismos a *P. nigrescens* foi detectada com prevalências de 16,67% no grupo experimental e de 11,11% no grupo controle, enquanto a *P. gingivalis* e o *T. denticola* não foram detectados. As crianças portadoras de fissura completa de lábio palato unilateral apresentaram maior inflamação gengival frente ao mesmo acúmulo de placa e a mesma prevalência dos microrganismos pesquisados, quando comparadas às do grupo controle.

1 Introdução

1 INTRODUÇÃO

As bactérias iniciam a colonização da cavidade bucal desde o nascimento e seguem colonizando os tecidos moles, incluindo a gengiva, bochechas e língua, e os dentes, tanto acima como abaixo da margem gengival, no que se conhece como a microbiota normal ou indígena, até a morte do indivíduo. Calcula-se que entre 300 e 400 espécies são capazes de colonizar a boca e que qualquer indivíduo pode abrigar de 150 a 200 espécies diferentes.

Na década de 60, o estudo clássico de LÖE; THEILADE; JENSEN⁵¹ (1965) demonstrou que o acúmulo de placa precedia diretamente e iniciava a gengivite, mas demorou um tanto para modificar-se o conceito de que a composição da placa era relativamente semelhante de paciente para paciente, de sítio para sítio no mesmo paciente, ou de sítio sadio para sítios com diferentes formas clínicas de doença periodontal. Hoje, o conceito vigente é o de que existem diferenças nítidas na microbiota subgengival na saúde e na doença.

Assim, a periodontite do adulto, por exemplo, pode representar uma série de infecções em que vários patógenos aparecem como candidatos: *P.gingivalis*, *P.intermedia*, *B.forsythus*, *P.micros*, *A.actinomycescomitans*, *W.recta*, *E.timidum*, *F.nucleatum* ou combinações desses microrganismos^{22, 34, 66, 95, 106}. Em formas severas de periodontite, o principal envolvido tem sido a *P.gingivalis*^{85, 94, 95, 117, 122, 126}. Também têm sido associadas com a periodontite progressiva do adulto, outras espécies como, o *T.denticola*, *Selenomonas noxia* e várias espécies de *Eubacterium*⁹⁶.

Os microrganismos a serem pesquisados neste trabalho, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia/nigrescens* e *Treponema denticola* são considerados importantes periodontopatógenos potenciais, tanto quando se utilizam os critérios de SOCRANSKY⁹⁷ de associação, eliminação, resposta do hospedeiro, patogenicidade animal, produção de mediadores potencialmente patogênicos, como quando se pesquisam os atributos sugeridos por SLOTS; GENCO⁹⁵ quais sejam, a capacidade para se implantar no sulco gengival, produzir substâncias direta ou indiretamente envolvidas na destruição periodontal, invadir os tecidos e escapar dos mecanismos de defesa do hospedeiro. Isso significa dizer que a sua presença, agindo sós ou como uma infecção mista com outras bactérias, e possivelmente, em concomitância com a ausência de espécies benéficas e a presença de certas deficiências imunológicas no hospedeiro seja essencial para a atividade da doença^{33, 98}.

No quadro atual, portanto, a placa é considerada como fator determinante para o desenvolvimento da doença periodontal, com alguns microrganismos se destacando como periodontopatógenos potenciais, por preencherem os critérios de Socransky, apesar da dificuldade para determinar qual dos prováveis candidatos é o microrganismo crítico em determinado sítio ou indivíduo. Há muitas questões a serem ainda investigadas, como o momento da colonização pelos periodontopatógenos e a influência de fatores locais e sistêmicos sobre eles; a fonte e os mecanismos de transmissibilidade desses microrganismos; as relações ecológicas entre espécies bacterianas, cuja investigação pode definir as interações bacterianas críticas.

Com o surgimento de novas técnicas e métodos refinados de identificação das espécies de muitos microrganismos, tornou-se necessário reavaliar a frequência de microrganismos específicos em diferentes idades e populações, não só porque isso pode definir a população microbiana essencialmente não patogênica para iniciar a doença periodontal ²⁵, como também o momento de colonização inicial de microrganismos periodontopáticos ¹²⁴.

Em trabalho realizado por ROSA ⁸², em 1995, utilizando a técnica do “slot immunoblot”, foram pesquisadas dez bactérias, entre elas os periodontopatógenos que serão avaliados neste estudo, em amostras de placa subgingivais de 59 crianças brasileiras com idades entre 3 e 6 anos, sendo detectada apenas a *P. intermedia* em 23,7% das mesmas, com baixa intensidade de colonização, enquanto que a *P. gingivalis* e o *T. denticola* não foram encontrados.

O início e a progressão das infecções periodontais são claramente modificados por condições locais e sistêmicas, denominadas fatores de risco. Dentre os principais fatores de risco sistêmicos estão a *diabetes mellitus* não controlada e o fumo, que afetam significativamente o início e a progressão da doença periodontal em adultos e, além disso, as condições sistêmicas associadas com número reduzido de neutrófilos também são importantes em crianças, adolescentes e adultos jovens. Os fatores de risco locais estão relacionados às situações anatômicas individuais que, de alguma maneira, favorecem a deposição de placa bacteriana por propiciarem condições de retenção, como restaurações defeituosas, respiração bucal, mal posicionamento dentário, aparelhos ortodônticos e protéticos ²⁸.

Os pacientes portadores de fissura completa de lábio e palato apresentam vários fatores de risco locais decorrentes dos desvios anatômicos da malformação (mal posicionamentos dos dentes e segmentos maxilares, respiração bucal em decorrência de desvio do septo nasal ou estenose narinária) e das intervenções terapêuticas necessárias para sua reabilitação (fibrose cicatricial labial resultante do seu reparo cirúrgico, utilização de aparelhos ortodônticos e próteses) que podem favorecer o acúmulo de placa bacteriana e serem considerados fatores agravantes para a doença periodontal, principalmente na região anterior da maxila ^{11, 12, 13, 14, 20, 27, 75, 79, 87, 108}.

Considerando o complexo e extenso processo reabilitador a que estes pacientes são submetidos, devem ser empreendidos esforços para que sejam precocemente estabelecidas, estratégias que minimizem os riscos às doenças bucais e, entre estas, estão a melhoria da higiene bucal e o conhecimento da microbiota subgengival de crianças portadoras de fissura.

Uma vez que a literatura nacional inexistente sobre este assunto e a literatura mundial apresenta poucos estudos de avaliação clínica em crianças portadoras de fissura ^{11, 20, 75, 111}, sendo que o único estudo microbiológico sobre placa subgengival foi realizado em adultos ⁶⁴, é preciso verificar se essas crianças, face ao defeito local, podem ser colonizadas mais precocemente por microrganismos periodontopatógenos que poderiam predispor-las, no futuro, às doenças periodontais.

2 Revisão de Literatura

2 REVISÃO DE LITERATURA

I - Doença periodontal em portadores de fissura

Os trabalhos disponíveis sobre o estado da saúde periodontal de portadores de fissura, em alguns casos, analisaram amostras heterogêneas agrupando diferentes tipos de fissura. Tais tipos constituem, de certa forma, patologias individuais, uma vez que envolvem estruturas anatômicas distintas. Portanto, para facilitar o entendimento do significado dos resultados obtidos nessas pesquisas, torna-se necessária uma breve explicação sobre o assunto.

No Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais (HRAC) em Bauru, São Paulo, utiliza-se a classificação de SPINA et al.¹⁰² que se baseia em um ponto de referência anatômico, o forame incisivo, para dividir as fissuras basicamente em 4 grupos:

- Fissuras pré-forame incisivo
- Fissuras pós-forame incisivo
- Fissuras transforame incisivo
- Fissuras raras da face

Esta classificação é de simples entendimento e facilita a comunicação entre os membros da equipe multidisciplinar para o tratamento de fissuras.

Na literatura mundial os tipos de fissura são geralmente descritos de acordo com as estruturas anatômicas envolvidas. Tem-se assim:

- As **fissuras de lábio** e as **fissuras de lábio e alvéolo**, que podem ser unilaterais ou bilaterais, incompletas ou completas. Na fissura labial pode haver envolvimento parcial ou completo do lábio. As fissuras de lábio e alvéolo incompletas podem afetar parcialmente o rebordo alveolar sem contudo, provocar sua ruptura. Quando completas, vêm acompanhadas de fissura do rebordo alveolar, atingindo o forame incisivo e provocando divisão da maxila, em sua porção anterior, em dois segmentos. Neste grupo de fissuras existe envolvimento estético, pois a fissura labial é aparente, mas ausência de problemas funcionais como o de fala, uma vez que não afeta o palato. As fissuras de lábio e as de lábio e alvéolo podem vir acompanhadas, na região do defeito, de alterações dentárias de forma, estrutura, número e posição que podem predispor seus portadores a um maior risco à cárie e à doença periodontal (**FIGURA 1**).

FIGURA 1 - Fissura de lábio incompleta (**A** - unilateral e **B** - bilateral) e Fissura de lábio e alvéolo completa (**C** - unilateral e **D** - bilateral)

- As **fissuras de palato**, que podem ser completas ou incompletas. Neste caso, a integridade do lábio e rebordo alveolar é mantida, acometendo somente o palato em diversos graus de extensão, desde o envolvimento parcial da úvula até a divisão completa do palato (úvula, palato mole e palato duro até atingir o forame incisivo). Não existe comprometimento estético ou alterações alveolares e dentárias decorrentes deste tipo de fissura; no entanto, são comuns problemas funcionais, principalmente fonoaudiológicos, com prejuízo da inteligibilidade de fala (**FIGURA 2**).
- As **fissuras completas de lábio e palato**, que podem ser unilaterais ou bilaterais. Este tipo de fissura é o mais grave, dividindo a maxila totalmente em 2 segmentos, quando unilateral e em 3 segmentos, quando bilateral. Existe ruptura completa, envolvendo desde a úvula, palato mole, palato duro, rebordo alveolar até o lábio, provocando alterações estéticas e funcionais, mesmo após a terapia cirúrgica reparadora. Os problemas dentários, como alterações de forma, estrutura, número e posição, são freqüentes na região da fissura, assim como o colapso dos segmentos maxilares levando a mordidas cruzadas ou mesmo atresias maxilares, decorrentes da própria fissura e das tensões cicatriciais provocadas pelos procedimentos cirúrgicos reparadores. As alterações dentárias somadas às cicatrizes cirúrgicas constituem fatores de risco muito maior à cárie dentária e à doença periodontal (**FIGURA 3**).

FIGURA 2 - Fissura de palato (**A** - incompleta e **B** - completa).

FIGURA 3 - Fissura completa de lábio e palato (**A** - unilateral e **B** - bilateral).

Em 1985, BRÄGGER et al.¹² investigaram os hábitos de higiene bucal e as condições periodontais de um grupo de 80 pacientes adultos, com idades entre 18-20 anos, portadores de fissura de lábio e/ou palato, ao final de um tratamento longitudinal multidisciplinar de 18 anos na Universidade de Berne, na Suíça. Foram registrados os índices de placa, de cálculo e de sangramento gengival, profundidade de bolsa, perda de inserção, envolvimento da furca e determinada a altura da crista óssea alveolar à junção amelo-cementária. Não houve diferenças estatisticamente significantes entre os vários tipos de fissura para todos parâmetros clínicos avaliados, exceto para as médias de profundidade de bolsa por lingual e vestibular, que foram mais rasas no grupo de fissura isolada de lábio. Nos pacientes portadores de fissura completa de lábio e palato (n=29) a porcentagem de superfícies dentárias cobertas com placa foi alta (69,9%) enquanto que o índice de sangramento gengival ocorreu em 73,5% dos sítios sondados. Quando a profundidade de bolsa e a perda de inserção nos sítios adjacentes à fissura alveolar foram comparadas às dos dois sítios controles não afetados, não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes; todavia, na comparação radiográfica, a altura óssea por eles exibida foi significativamente menor. Estes resultados podem indicar a presença de um tecido conjuntivo de inserção extenso, sem suporte ósseo na região da fissura. Como resultado de uma higiene bucal inadequada, os pacientes com fissura completa de lábio e palato apresentaram periodontite inicial com perda de inserção e início de envolvimento de furca, na maioria dos casos. Os autores sugerem que uma vez que estes pacientes necessitam de uma terapia ortodôntica a longo-prazo, com aparelhos

fixos, devem ser incluídos em programas de profilaxia intensivos, tão precocemente quanto possível.

Um dos poucos trabalhos com crianças fissuradas foi realizado por DAHLLÖF et al.²⁰, em 1989, que avaliaram a saúde bucal de 49 crianças com idades entre 5 e 6 anos portadoras de fissura de lábio e/ou palato e de 49 crianças não fissuradas, pareadas por sexo e idade. Para a avaliação da cárie dentária, os procedimentos experimentais incluíram o exame clínico e radiográfico, coleta de amostra de saliva e entrevista com os pais sobre hábitos de higiene bucal e dieta. A condição gengival foi estimada de acordo com o índice de sangramento gengival. Os resultados mostraram aumento estatisticamente significativo na prevalência e atividade de cárie em crianças com fissura de lábio e/ou palato. O número médio de superfícies cariadas e restauradas no grupo de crianças fissuradas foi de 7,0 comparado com 3,9 no grupo controle ($p < 0,05$). Não houve diferenças significantes na prevalência e atividade de cárie em crianças com fissura que envolvia o alvéolo, comparadas com crianças com fissura isolada de lábio ou palato. As crianças portadoras de fissura de lábio e/ou palato também exibiram um aumento significativo ($p < 0,01$) no número de unidades gengivais com gengivite sendo a diferença ainda maior quando avaliadas somente as unidades da região anterior superior, incluindo a área da fissura. Estes resultados indicam que crianças portadoras de fissura de lábio e/ou palato devem ser consideradas um

grupo com aumento do risco à cárie e gengivite e, portanto, incluídas em programas preventivos adicionais.

Na tentativa de revelar os efeitos da própria fissura ou de seu tratamento sobre as condições periodontais de dentes adjacentes à mesma, RAMSTAD⁷⁹, em 1989, examinou 50 adultos portadores de fissura completa de lábio e palato unilateral, com idades entre 17,8-23,8 anos. Estes indivíduos haviam recebido tratamento especializado do nascimento até a idade adulta, com instalação de prótese fixa na área da fissura. No exame periodontal dos dentes de suporte da prótese e dos outros dentes da maxila avaliou o acúmulo de placa, sangramento gengival e profundidade de sondagem de bolsa, tendo verificado pior condição periodontal nos dentes de suporte das próteses, um dado consistente com as observações na população geral. Para o autor, os efeitos adversos do tratamento protético, mais do que a variação anatômica criada pelo reparo da fissura, foram a causa da saúde periodontal mais precária nesta região.

BRÄGGER et al.¹³, em 1990, examinaram as condições periodontais de pacientes adultos (faixa etária de 26-28 anos), sendo 19 portadores de fissura completa de lábio e palato unilateral e 6 com fissura completa de lábio e palato bilateral, passados oito anos da última avaliação, período durante o qual não foram submetidos a programas de manutenção supervisionados profissionalmente sendo

considerados, portanto, de maior risco à doença periodontal. Foram observados um grande acúmulo de placa (de 62% à 71%) e alta frequência de unidades gengivais com inflamação (entre 62,5% e 73,8%) na maioria dos pacientes, demonstrando padrões inadequados de higiene bucal. Os autores não encontraram maior destruição periodontal nos sítios fissurados, que apresentaram um tecido conjuntivo de inserção extenso, quando comparados aos sítios controles, concluindo que estes sítios, não parecem ser mais predispostos à doença periodontal induzida por infecção bacteriana, do que aqueles com altura normal da inserção fibrosa supra-alveolar e que, portanto, o exame radiográfico tem valor limitado para o diagnóstico do grau de destruição periodontal nos sítios com defeitos alveolares.

Os mesmos autores¹⁴, em 1992, publicaram outro trabalho sobre a taxa de progressão da doença periodontal, durante um período de 8 anos, em um grupo de 52 pacientes adultos (faixa etária de 26-28 anos), portadores de vários tipos de fissura de lábio, alvéolo e palato, que não haviam sido submetidos à terapia de suporte freqüente. De especial interesse foi a avaliação de alterações nos sítios adjacentes à fissura comparadas àsquelas observadas nos sítios controles do mesmo paciente, através da análise de parâmetros clínicos como índice de placa, cálculo, sangramento gengival na sondagem e profundidade de bolsa periodontal. Durante o período avaliado, os pacientes foram tratados com prótese fixa e exibiram higiene bucal deficiente e inflamação gengival, as quais já estavam

presentes no início do estudo, além de perda de inserção e de osso alveolar, com o exame radiográfico mostrando altura óssea significativamente menor nos sítios adjacentes à fissura. O estudo conclui que a abordagem de uma equipe coordenada para o tratamento de todos aspectos das fissuras de lábio e/ou palato deve incluir supervisão freqüente e motivação das medidas de higiene bucal, por toda a vida do paciente.

Frente à dúvida sobre a causa da maior prevalência de doença periodontal em portadores de fissura decorrer de fatores de risco microbiológicos específicos ou de uma higiene bucal deficiente com presença contínua de grande quantidade de placa bacteriana não específica, MOMBELLI; BRÄGGER; LANG⁶⁴, em 1992, procuraram caracterizar a microbiota isolada da fissura residual e de sítios periodontais de dentes adjacentes ao defeito e relacionar a presença de periodontopatógenos presumíveis no defeito da fissura à composição microbiana da placa subgengival do dente adjacente. Investigaram também a influência da manutenção regular nos parâmetros clínicos (índice de placa e índice de sangramento gengival) e microbiológicos da região da fissura. Para isto, avaliaram 20 pacientes, com idades entre 20 e 45 anos, com fissura completa de lábio e palato uni ou bilateral, apresentando fissura residual no rebordo alveolar ou fissuras pronunciadas nos tecidos moles, que haviam sido submetidos a tratamento reabilitador extenso na área da fissura até alguns anos antes. Destes, 10 pacientes receberam profilaxias dentárias a intervalos regulares (em média a cada

seis meses) e os outros 10 não, após a conclusão do tratamento reabilitador. Depois do registro dos índices de placa e gengival, dos sítios escolhidos foram coletadas amostras de placa subgengival para o cultivo, do sulco voltado para o defeito (T1) e da superfície oposta (T2) e da fissura residual ou sulco tecidual (F). Além da cultura para vários microrganismos, foi realizado também o exame por microscopia em campo escuro. Os indivíduos submetidos à manutenção regular apresentaram índices de placa significativamente menores nos sítios dentários adjacentes à fissura. A frequência de sangramento gengival durante a amostragem foi significativamente maior no grupo sem manutenção, nas superfícies dentárias opostas à fissura. Não foram observadas diferenças em relação aos microrganismos anaeróbios Gram negativos entre os dois grupos. Os microrganismos *Fusobacterium* spp., *Prevotella melaninogenica* e *P. intermedia* apareceram com maior frequência no grupo de pacientes que não receberam profilaxia periódica. Os espiroquetas e bacilos móveis raramente foram observados no grupo que realizou profilaxia, sendo comuns no outro grupo. A microbiota encontrada na área da fissura mostrou-se mais simples que a dos sítios subgengivais e lembrava a microbiota subgengival dos dentes de pacientes bem mantidos, independentemente da qualidade da manutenção. A microbiota de T1 e T2 não diferiu significativamente entre si. O *Actinobacillus actinomycetemcomitans* e a *Porphyromonas gingivalis* não foram encontrados em nenhuma das amostras, enquanto a *Prevotella intermedia* foi encontrada nos três sítios em ambos os grupos. Os espiroquetas raramente foram detectados na região das fissuras: apenas em 1 paciente de cada grupo, mas foram comuns no

grupo que não recebeu tratamento de manutenção regular (7/10 em T1 e 3/10 em T2) e praticamente ausentes no outro grupo (0/10 em T1 e 1/10 em T2). Os resultados clínicos e microbiológicos deste estudo enfatizaram a importância de retornos freqüentes para manutenção contínua, após o tratamento dentário extensivo em pacientes com fissura completa de lábio, alvéolo e palato.

Em 1992, TEJA; PERSSON; OMNELL¹⁰⁸ compararam a condição periodontal de dentes adjacentes à fissura com dentes contralaterais em pacientes adultos (faixa etária de 19-45 anos) portadores de fissura completa de lábio e palato unilateral que não haviam sido submetidos a enxerto ósseo. Foram avaliados parâmetros periodontais em 18 indivíduos que apresentavam pelo menos um dente adjacente à fissura. Para cada dente investigado registraram-se o índice de placa, o índice gengival, a profundidade de sondagem, o grau de mobilidade, a largura da gengiva inserida, a extensão da recessão gengival e a altura do nível ósseo. Os resultados indicaram que o grau de higiene bucal foi pior do lado fissurado comparado ao não fissurado. Além disso, nos indivíduos com fissura alveolar que não receberam enxerto ósseo, os dentes adjacentes ao defeito mostraram somente sinais de gengivite, mas não de doença periodontal. Os autores sugeriram que o defeito anatômico, o padrão de erupção, movimentos dentários ortodônticos e a presença de restaurações contribuem para a redução do nível ósseo no incisivo central adjacente à fissura e para a presença de gengivite na faixa etária examinada.

Em estudo comparativo, BOKHOUT et al.¹¹ (1997) determinaram a prevalência de cárie, a condição gengival e a higiene bucal em 81 crianças holandesas portadoras de fissura de lábio e/ou palato e em 77 crianças sem malformação congênita, com idades entre 1,5-4 anos. A maioria das crianças foi examinada aos 2,5 anos e aos 4 anos. Na amostra total 48% das crianças pertenciam a um nível sócio-econômico alto, 51% apresentaram boa higiene bucal e 61% não apresentaram inflamação gengival. As crianças portadoras de fissura apresentaram higiene bucal significativamente mais precária, mais inflamação gengival e pertenciam à classes sócio-econômicas menos favorecidas do que as crianças não fissuradas. A prevalência de cáries em crianças fissuradas foi 3,5 vezes mais alta do que nas crianças sem fissura, sendo predominantemente manifestada nos dentes adjacentes à fissura e em molares decíduos, neste grupo de pacientes. Este estudo mostra que crianças fissuradas são de maior risco à cárie dentária e portanto, seus pais devem ser precocemente submetidos a programas preventivos para a melhora da higiene bucal de seus filhos.

A avaliação do estado de saúde bucal e dentária de 114 crianças inglesas (na faixa etária de 3-18 anos), atendidas em duas clínicas para o tratamento de fissuras lábio-palatais foi realizada por PAUL; BRANDT ⁷⁵, em 1998, utilizando critérios e índices padronizados. Todos pacientes já haviam sido operados e foram

divididos em três grupos, de acordo com as faixas etárias: dos 3 – 5 anos (36%), 6 – 12 anos (43%) e dos 13 – 18 anos (21%). Um total de 51,8% da amostra apresentava fissura completa de lábio e palato sendo 64,3% unilateral e 35,7% bilateral. Independentemente da faixa etária, o índice de placa foi maior no grupo de pacientes com fissura completa de lábio e palato. Combinando os grupos de fissura de lábio e alvéolo e fissura completa de lábio e palato, com base em sua similaridade morfológica, observaram associação estatisticamente significativa entre o índice de higiene bucal médio deste grupo e aquele do grupo de fissura isolada de palato. Além disso, o acúmulo de placa foi significativamente maior no segmento anterior quando comparado ao dos posteriores e também maior no arco superior em relação ao inferior. Quando a média do índice gengival da combinação dos grupos com fissura de lábio e alvéolo e fissura completa de lábio e palato foi comparada com a do grupo com fissura de palato isolada houve diferença estatisticamente significativa entre eles, sendo que as crianças com fissura isolada de palato apresentaram melhor saúde gengival. Houve também diferença significativa quando os índices gengivais das regiões anterior e posterior foram comparados, não sendo notada diferença significativa na comparação dos índices dos arcos superior e inferior. Os autores sugeriram que os estados precários de higiene bucal e saúde gengival encontrados neste grupo de pacientes, principalmente no segmento anterior, deveu-se ao acesso reduzido para limpeza dessa região após o reparo cirúrgico do lábio, sendo necessário, portanto, sua inclusão em programas preventivos.

Com o propósito de verificar a saúde bucal de crianças russas que haviam sido submetidas à palatoplastia primária pela técnica de Frolova, TURNER et al.¹¹¹, em 1998, avaliaram 89 crianças (62 meninos e 27 meninas, com idades entre 5 e 9 anos) portadoras de fissura completa de lábio e palato unilateral, registrando aspectos como estágio da dentição, higiene bucal, cárie, dentes ausentes e restaurados e o tipo de oclusão. Constataram que 30% das crianças apresentavam fístula no palato, sendo a higiene bucal de pacientes sem esta alteração significativamente melhor do que a dos pacientes com fístula ($p < 0,01$), e que 45% exibiam um ou mais dentes cariados. Concluíram que as altas porcentagens de higiene bucal deficiente (66% razoável ou pobre) e de cárie dentária observadas neste grupo de pacientes decorreram provavelmente da indisponibilidade de produtos de higiene dentária e do seu alto custo, quando disponíveis. Além disso, observaram que os pais apresentaram entendimento limitado sobre a importância de procedimentos de higiene e da dieta adequada para a prevenção da cárie dentária.

Uma vez que os objetivos do tratamento de pacientes com fissuras bucofaciais são a saúde do sistema estomatognático a longo prazo, bem como a recuperação estética, SCHULTES; GAGGL; KÄRCHER⁸⁷, em 1999, procuraram comparar a condição periodontal de 30 pacientes portadores de fissura completa de lábio e palato unilateral com a de 30 pacientes portadores de fissura isolada de

palato, com idades entre 17-24 anos, para verificar a influência da fissura na saúde periodontal. As lesões periodontais foram classificadas de acordo com as necessidades de tratamento do Índice Periodontal da Comunidade (CPITN) sendo identificada a mobilidade patológica dos dentes. O estado da higiene bucal foi registrado pelo índice de placa interproximal. De modo geral, todos os pacientes apresentaram higiene bucal deficiente. Os pacientes com fissura completa de lábio e palato tiveram índice de placa com escore 0 em 0% dos casos, escores 1 e 2 em 7%, escore 3 em 43% e 4 em 50% dos casos. Os pacientes portadores de fissura isolada de palato apresentaram escore 0 em 0%, escores 1 e 2 em 30%, escore 3 em 45% e escore 4 em 25% dos casos. A doença periodontal em pacientes portadores de fissura isolada de palato exibiu extensão similar à da população geral, enquanto que nos pacientes com fissuras completas unilaterais observou-se uma predisposição à destruição periodontal profunda no dente adjacente à fissura. O registro da mobilidade patológica do dente e a resultante perda de inserção corresponderam à classificação de doença periodontal de acordo com o CPITN. Os autores concluíram que os pacientes com fissura completa unilateral apresentavam uma situação periodontal crítica, principalmente na região anterior da maxila, o que pode levar a perda prematura de dentes em uma área esteticamente importante. Ao contrário, os pacientes com fissura isolada de palato exibiram situação periodontal similar à encontrada na população geral, com alguns danos que podem ser atribuídos ao tratamento ortodôntico.

Para complementar este estudo GAGGL et al. ²⁷, também em 1999, ao incluir um terceiro tipo de fissura, as fissuras completas de lábio e palato bilaterais, confirmaram que a condição periodontal dos portadores de fissura de palato isolada era semelhante à da população geral, com danos adicionais atribuídos ao tratamento ortodôntico. Demonstraram ainda que os 50 pacientes portadores de fissura completa de lábio e palato, tanto uni (30) como bilaterais (20), com idades entre 17-24 anos, apresentaram maior predisposição à destruição periodontal profunda, principalmente no dente adjacente à fissura.

A **FIGURA 4** retrata um resumo das características das amostras analisadas pelos diferentes pesquisadores, em termos de número de participantes, faixa etária, tipo de fissura e os parâmetros clínicos analisados.

Revisão de literatura

FIGURA 4 – Estudos sobre a saúde bucal de adultos e crianças portadoras de fissura lábio-palatal (Quadro modificado de WONG; KING, 1998¹²⁵)

AUTOR	AMOSTRA			PARÂMETROS AVALIADOS
	Tipo de fissura	N	Idade (anos)	
Brägger et al. ¹² (1985)	Todas	80	18-20	Placa, cálculo, gengivite, profundidade de sondagem, envolvimento de furca
Dahllöf et al. ²⁰ (1989)	Todas	49	5-6	Gengivite, cárie
Ramstad ⁷⁹ (1989)	Uni ou Bilateral de lábio e palato	50	17,8-23,8	Placa, gengivite, profundidade de sondagem
Brägger et al. ¹³ (1990)	Uni ou Bilateral de lábio e palato	25	26-28	Placa, gengivite, profundidade de sondagem, nível de inserção, nível ósseo
Brägger et al. ¹⁴ (1992)	Todas	52	26-28	Placa, cálculo, gengivite, profundidade de sondagem, nível de inserção, nível ósseo
Mombelli; Brägger; Lang ⁶⁴ (1992)	Uni ou Bilateral de lábio e palato (fissura residual)	10	27-30	Placa, cálculo, gengivite, profundidade de sondagem, nível de inserção, amostra microbiológica
Teja; Persson; Omnell ¹⁰⁸ (1992)	Unilateral (sem enxerto)	18	19-45	Placa, gengivite, profundidade de sondagem, mobilidade dentária, nível ósseo
Bokhout et al. ¹¹ (1997)	Todas	81	1,5-4	Placa, gengivite, cárie
Paul; Brandt ⁷⁵ (1988)	Todas	114	3-18	Placa, gengivite, cárie
Turner et al. ¹¹¹ (1998)	Unilateral de lábio e palato	89	5-9	Placa, cárie
Schultes; Gaggl; Kärcher ⁸⁷ (1999)	Unilateral de lábio e palato e isolada de palato	60	17-24	Placa, cálculo, gengivite, profundidade de sondagem, mobilidade dentária
Gaggl et al. ²⁷ (1999)	Uni e bilateral de lábio e palato e isolada de palato	80	17-24	Placa, cálculo, gengivite, profundidade de sondagem, mobilidade dentária

II – Gengivite e microbiota periodontal em crianças

Uma das dificuldades para o estudioso da microbiota bucal acompanhar a literatura específica sobre a mesma é a alteração observada na nomenclatura das bactérias ao longo dos anos. A evolução das técnicas de identificação, que nos seus primórdios baseavam-se quase que exclusivamente na morfologia colonial e modelos de fermentação, sofisticou-se ao ponto da identificação basear-se nas análises dos ácidos nucleicos (conteúdo de bases guanina-citosina, homologia de DNA, e sequências de RNAr 16S), suplementadas com perfís das enzimas e ácidos graxos bacterianos, o que levou, em muitos casos, à novas designações de espécies, abolições de subespécies e até mesmo à novas denominações de gêneros para antigas bactérias. Esse problema é particularmente verdadeiro para os bacilos Gram negativos anaeróbios produtores de colônias negras, entre os quais estão dois dos microrganismos analisados neste trabalho, a *P. gingivalis* e a *P. nigrescens* (*P. intermedia*).

Como o leitor pode não estar familiarizado com os nomes recebidos por esses microrganismos nos diferentes trabalhos, na **FIGURA 5** é apresentada a evolução da taxonomia dos mesmos. O microrganismo descrito inicialmente como *Bacterium melaninogenicus*, na realidade representava um grupo de microrganismos hoje classificados em três gêneros e várias espécies. Mencione-se ainda, que as últimas 5 espécies caninas de *Porphyromonas* foram estabelecidas em 1994; que a *Prevotella nigrescens* foi separada da *P. intermedia* em 1992; que a *Prevotella tanneriae* foi descrita em 1994, e que o *Bacteroides macacae* e

Bacteroides levii provavelmente serão incluídos no gênero *Porphyromonas* num futuro próximo ³⁹.

Particularmente em relação a *P.intermedia*, foi observada heterogeneidade intraespécie em estudos inicialmente feitos por JOHNSON; HOLDEMAN ³⁸ que, com base na homologia do DNA encontraram dois grupos distintos para a bactéria (VPI 4197 e 8944), e por GMÜR; GUGGENHEIM ³⁰, que dividiram a *P.intermedia* em 3 sorogrupos (I, II e III). Em 1992, um estudo abrangente sobre hibridização DNA-DNA propôs sua classificação em duas genoespécies, *P.intermedia* e *P.nigrescens* ⁸⁹. As cepas-tipo para representar a *P.intermedia* e a *P.nigrescens* foram a ATCC 25611 e a ATCC 33563, respectivamente.

A detecção de isolados bacterianos anaeróbios, Gram negativos, pigmentados, moderadamente sacarolíticos, indol-positivos e bioquimicamente mais relacionados à *Prevotella intermedia* e *P.nigrescens*, mas não tipados como nenhuma delas, levou KÖNÖNEN et al. ⁴⁶ a inicialmente sugerir, e depois, a partir de resultados filogenéticos propor uma nova espécie dentro do gênero *Prevotella*, a *P.pallens*, cuja cepa-tipo é a NCTC 13042 (= AHN 10371) ⁴⁷.

FIGURA 5 - Evolução da taxonomia dos bacilos Gram-negativos anaeróbios formadores de colônias negras^{39, 46, 47}.

O outro microrganismo pesquisado neste trabalho foi o *Treponema denticola*, um espiroqueta. Os espiroquetas também representam um obstáculo na avaliação do seu significado para a doença periodontal, pela dificuldade em se distinguir espécies individuais. Pelo menos 15 espécies de espiroquetas subgengivais já foram descritas mas, na maioria dos estudos de amostras de placa, esses microrganismos são incluídos em um único grupo ou em grupos baseados no tamanho celular: pequeno, médio ou grande, o que obscurece o papel patogênico das diferentes espécies. O não isolamento em meios de cultura de um grande número de espiroquetas, explica sua pesquisa através de exames a fresco, por alguns dos investigadores.

O primeiro estudo digno de nota sobre a microbiota da placa subgengival da dentição decídua foi feito em 1964 por ARAUJO; MACDONALD ³, que investigaram amostras de crianças com idades entre 3 e 7 anos, sem gengivite e sem cárie. Nas amostras de 5 crianças, observaram que a proporção dos grupos cultiváveis predominantes (bacilos e cocos Gram positivos facultativos, cocos e bacilos Gram negativos anaeróbios e cocos Gram positivos anaeróbios) não diferiu daquela encontrada em adultos. Contudo, a pesquisa que fizeram em amostras de 15 crianças, através de cultura e da microscopia em campo escuro, para o *B. melaninogenicus* e para os espiroquetas revelou resultados diferentes dos encontrados em adultos: o primeiro foi detectado em 4, e os últimos, em 10

crianças. Embora o número de indivíduos examinados tenha sido pequeno, os resultados sugeriram diferenças na microbiota subgengival de crianças com dentição decídua, quando comparada à dos adultos, uma vez que estudos anteriores demonstraram que estes microrganismos estavam regularmente presentes na boca e sulco gengival de adultos.

Para definir a idade de estabelecimento do *B. melaninogenicus*, considerado então o principal agente etiológico da doença periodontal, na microbiota subgengival durante a infância, BAILIT; BALDWIN; HUNT ⁶, em 1964, pesquisaram-no em amostras raspadas do sulco gengival de dentes aleatoriamente selecionados, de 320 crianças com idades entre 5 e 15 anos, através do método de cultivo. Verificaram que o número de culturas positivas desse microrganismo aumentava com a idade, particularmente entre 7 e 9 anos. Na idade de 13 anos aproximadamente 100% das culturas foram positivas, enquanto, na faixa etária de 5-7 anos somente 40% das crianças foram positivas. Não observaram diferenças em relação ao sexo. Para os autores, a prevalência crescente desse microrganismo poderia estar relacionada com possíveis exigências nutricionais do mesmo.

Em 1966, KELSTRUP ⁴⁰ examinou 35 crianças com idades entre 4 e 15 anos, detectando o *B. melaninogenicus* em 13% das amostras de crianças de 13

a 15 anos de idade, mas em nenhuma criança entre 4 e 8 anos. A frequência de isolamento do sulco gengival de periodonto normal e da gengivite foi a mesma.

Considerando que as pesquisas feitas até então baseavam-se em amostras pequenas e heterogêneas, MORHART et al.⁷⁰ (1970) procuraram estudar o que ocorreria com a microbiota bucal de uma população homogênea, com os mesmos hábitos estabelecidos há centenas de anos, os índios maias da Guatemala. Foram avaliados 75 índios dos seguintes grupos etários: 4-6 anos, 7-9 anos e segunda, terceira, quarta, quinta e sexta décadas de vida, que tiveram as placas subgengivais de todos os dentes presentes, colhidas e semeadas para cultivo. No diagnóstico da saúde periodontal verificaram que a partir dos 4-6 anos já havia manifestação de gengivite marginal, ocorrendo um aumento progressivo da severidade da doença com a idade, sendo observada formação de bolsa periodontal verdadeira no grupo de 10-14 anos e perdas dentárias por volta dos 40 anos, pela progressão das alterações periodontais patológicas. As contagens bacterianas foram gerais: total de microrganismos, bacilos Gram negativos e bacilos Gram positivos, não sendo encontradas correlações entre a microbiota e os grupos etários ou a severidade da doença periodontal. Segundo os autores, a detecção de *B. melaninogenicus* na faixa etária dos 4-6 anos poderia ser consequência da grande quantidade de placa presente, que criaria condições para o fornecimento de nutrientes essenciais para esse microrganismo.

Em pesquisa de gengivite experimental MACKLER; CRAWFORD⁵³, em 1973, procuraram observar mudanças bacteriológicas no desenvolvimento da placa dentária de crianças em idade pré-escolar e explorar possíveis relações entre o desenvolvimento da placa e a gengivite, após um período de 26 dias sem escovação. Foram selecionadas 13 crianças caucasianas com idades entre 3 e 5,5 anos e seguidos dois protocolos: no primeiro, o estudo piloto, as amostras de placa foram analisadas apenas por exame de contraste de fase; no segundo, o estudo principal, além do contraste de fase foi feita a cultura para o *B. melaninogenicus*. Verificaram que o desenvolvimento morfológico da placa em crianças pré-escolares era similar ao observado em adultos; que os dentes inferiores acumularam mais placa do que os dentes superiores; que não houve diferença entre os dentes anteriores e posteriores em relação a quantidade total de placa acumulada e que, com a exceção de duas crianças que apresentaram gengivite marginal localizada, não ocorreu manifestação de gengivite marginal generalizada nas crianças. Qualitativamente, nas áreas inflamadas verificou-se uma placa complexa composta de filamentos, fusobactérias, vibriões e espirilos. Os espiroquetas foram observados na placa supragengival em 4 das 13 crianças avaliadas, na terceira semana após a suspensão da higiene bucal, enquanto que o *B. melaninogenicus* foi isolado de todas as crianças do estudo principal, pelo menos uma vez durante o experimento.

Como estudos anteriores sugerissem que crianças e adultos diferiam na propensão para o desenvolvimento de gengivite quando da interrupção da higiene bucal, MATSSON ⁵⁶, em 1978, realizou um estudo comparativo entre 6 crianças pré-escolares (idades entre 4 e 5 anos) e 6 estudantes de Odontologia (idades entre 23 e 29 anos), sem cáries ou desordens sistêmicas, para confirmar a existência de tal diferença. Após um período de higiene bucal intensivo, a limpeza dos dentes foi interrompida por 21 dias. O grau de inflamação gengival foi determinado através da avaliação das quantidades de placa bacteriana, exsudato gengival, leucócitos do sulco gengival e tendência ao sangramento gengival, que foram registrados nos dias 0, 7, 14 e 21. Durante o experimento a quantidade de placa bacteriana aumentou continuamente em ambos os grupos. A quantidade de exsudato gengival e a tendência ao sangramento gengival aumentaram marcadamente nos adultos e pouco nas crianças. A quantidade de leucócitos nos sulcos gengivais aumentou nos dois grupos, mas foi maior nos adultos. Para comparação da inflamação gengival foram consideradas as unidades dentárias que mostraram desenvolvimento de placa similares no último dia do experimento, sendo constatada maior tendência para o desenvolvimento de inflamação gengival nos adultos do que nas crianças, sob quantidades comparáveis de placa.

A prevalência e a distribuição intra-bucal dos *Bacteroides* negros bem como a correlação entre os achados microbiológicos e o estado clínico dos tecidos periodontais foram analisadas por ZAMBON; REYNOLDS; SLOTS ¹²⁶, em 1981,

que avaliaram 5 crianças com idades entre 3 e 5 anos com dentição decídua completa, 5 adultos com mínima inflamação gengival e 10 adultos com perda óssea alveolar moderada e severa. Para tanto, foram colhidas amostras de placa supra e subgengivais, superfície oclusal, língua, mucosa bucal, amígdalas e saliva. Os *Bacteroides* negros foram encontrados em 90% dos pacientes adultos com doença periodontal, em 60% dos adultos saudáveis e não foram detectados nas crianças. Em adultos periodontalmente sadios os *Bacteroides* negros foram isolados em apenas 1/40 amostras de placa, contra 32/80 amostras de placa no grupo com doença periodontal. As maiores proporções de microrganismos foram isoladas da placa dentária, principalmente subgengival e da amígdala, indicando que estes sítios constituem o nicho primário dessas bactérias na cavidade bucal. As espécies predominantemente isoladas foram o *B. intermedius* seguido dos *B. gingivalis* e *B. melaninogenicus*. Observaram correlação positiva estatisticamente significativa entre a proporção de *B. melaninogenicus* e *B. intermedius* cultiváveis e as variáveis clínicas analisadas como a profundidade de bolsa e o índice de inflamação gengival, sugerindo que esses microrganismos podem contribuir para a patogênese de certas formas de doença periodontal.

Através do teste ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) a presença de anticorpos anti-*B. gingivalis* foi investigada por MOUTON et al ⁷¹. (1981), em 140 amostras de soro obtidas do cordão umbilical (9), de bebês desdentados com menos de 6 meses de idade (12), de crianças com dentes decíduos e idades entre

6 meses e 6 anos (30), de crianças com dentadura mista na faixa etária de 6-12 anos (24), de adultos periodontalmente saudáveis (56) e de desdentados (9). As crianças com menos de 6 meses de idade não apresentaram anticorpos IgG e poucas crianças entre 6 meses e 6 anos demonstraram anticorpos IgG para o *B. gingivalis*. A proporção de crianças positivas no grupo de 6-12 anos de idade foi maior que o dobro, com um aumento de três vezes no título de anticorpos comparativamente ao grupo anterior. Com base nessas observações, sugeriram que a síntese ativa de IgG para o *B. gingivalis* iniciava-se precocemente na infância e apresentava um aumento expressivo quando irrompiam os dentes permanentes. Não foi detectada resposta na classe IgM nas amostras do cordão umbilical, todavia nos primeiros 6 meses de vida do bebê, 25% de amostras de soro apresentaram níveis detectáveis deste anticorpo, que em unidades ELISA foram cerca de metade daquele do grupo adulto (1,9 e 3,4 UE respectivamente). Nos outros grupos etários não se observaram mudanças na prevalência ou níveis de atividade desses anticorpos, mas por volta dos 12 anos de idade, 50% da população tinha atingido os níveis dos adultos periodontalmente saudáveis. Os baixos índices de anticorpos nos desdentados reforçou a idéia de que o nicho primário do *B. gingivalis* seja o sulco gengival. Os resultados mostraram correlação positiva entre o aumento da idade e o aumento na prevalência e níveis de anticorpos específicos nas classes IgG, IgA e IgM.

Um estudo epidemiológico realizado na Suécia por HUGOSON; KOCH; RYLANDER ³⁵, em 1981, avaliou a prevalência e a distribuição de gengivite em 500 indivíduos, sendo 100 para cada um dos seguintes grupos etários: 3 e 5 anos (dentição decídua) e 10, 15 e 20 anos (dentição permanente). Considerando apenas os escores 2 e 3 dos índices de placa (Silness e Løe, 1964) e gengival (Løe e Silness, 1963), verificaram que, aos 3 anos, 52% das crianças apresentaram placa visível, subindo para 80% aos 5 anos. Observaram gengivite em 36% e 64% das crianças nas faixas etárias de 3 e 5 anos, respectivamente; no entanto, a maioria apresentou baixa severidade da doença. A distribuição da gengivite nas idades de 3 e 5 anos foi a mesma, com maior prevalência na superfície lingual dos segundos molares inferiores e superfície vestibular dos segundos molares superiores.

A prevalência e severidade da gengivite também foram determinadas em uma amostra de 128 crianças suecas com idades entre 5 e 6 anos por SPENCER; BEIGHTON; HIGGINS ¹⁰¹, em 1983. Verificaram o estado de higiene bucal através do índice de placa (IP) e do índice de cálculo, e o estado periodontal, através do índice gengival (IG) e registro da profundidade do sulco gengival. Os pacientes foram divididos em dois grupos: um que apresentava somente dentes decíduos, e outro que já apresentava alguns dentes decíduos substituídos por permanentes. No grupo total o índice de placa médio±desvio padrão (dp) foi de 1,09±0,39 e o índice gengival médio±dp foi de 0,60±0,24. Para as crianças com dentição decídua

a média $\pm$ dp do índice de placa foi 0,66 $\pm$ 0,24 e a do índice gengival, de 0,66 $\pm$ 0,29. Foi observada baixa correlação entre os escores dos IP e IG, embora estatisticamente significativa. Mesmo tendo os resultados indicado alta prevalência de doença periodontal na amostra, a severidade foi baixa. A relação entre o acúmulo de placa e a inflamação gengival observada neste estudo foi mais fraca do que a encontrada em adultos, indicando que na dentição decídua não se pode esperar que a redução do acúmulo de placa seja recompensada pela redução da inflamação gengival.

Para determinar as possíveis diferenças na microbiota periodontal de crianças que as tornariam mais resistentes à gengivite do que os adultos, MOORE et al.⁶⁸, em 1984, conduziram um estudo de gengivite experimental em 4 crianças com idades entre 4 e 6 anos comparando seus resultados aos de um estudo anterior, de metodologia semelhante, realizado em adultos⁶⁷. Nas crianças, a incidência de sítios que desenvolveram escore 2 no índice gengival foi menor que 1/3 da observada em adultos. A composição da microbiota do grupo total de crianças diferiu estatisticamente da dos adultos. No total de 160 espécies isoladas, aquelas cuja proporção aumentou na microbiota com o aumento do escore do índice gengival foram *Actinomyces* spp., *Capnocytophaga* spp., *E. saburreum*, *F. nucleatum*, *Selenomonas* spp. (entre as quais a *S. sputigena*) e *T. socranskii*. As espécies predominantes que correlacionaram-se aos escores gengivais, tanto nos adultos como nas crianças, foram o *F. nucleatum*, *Actinomyces* WVa963,

Selenomonas DO4 e *T. socranskii*. Em relação aos adultos, as crianças apresentaram proporção 1,5 vez maior de *Bacteroides* spp. e não apresentaram o *T. denticola*. Se a microbiota de crianças não tivesse sido significativamente diferente da dos adultos, deduziriam que a maior resistência das crianças à gengivite experimental refletia somente a resistência do hospedeiro. Como a incidência de algumas espécies predominantes correlacionou-se ao aumento dos escores do índice gengival, tanto em crianças como em adultos, concluíram que a resistência do hospedeiro poderia desempenhar o principal papel, mas os agentes etiológicos poderiam ser diferentes nas duas populações.

Procurando estabelecer a correlação entre a composição da placa subgengival e a severidade de gengivite na infância, MUKHEERJEE et al.⁷² (1985) analisaram amostras de 41 crianças com idades entre 3 e 8 anos, através do exame das porcentagens de detecção de morfotipos bacterianos, por microscopia de campo escuro. Encontraram correlação positiva entre o índice gengival e a porcentagem de espiroquetas e de bacilos móveis e negativa entre o índice gengival e formas cocóides. A porcentagem de espiroquetas também mostrou correlação estatisticamente significativa com o índice de placa, profundidade de sondagem e sangramento à sondagem.

Com o objetivo de comparar a reação gengival à placa dentária em crianças de diferentes idades e em adultos, MATSSON; GOLDBERG ⁵⁸, em 1985, avaliaram três grupos de crianças (com idades entre 4-6, 7-9 e 14-16 anos) e um grupo de adultos (com 20-22 anos de idade). Foram determinados o grau de gengivite e o índice de placa, verificando que para determinado escore de placa, a porcentagem de escores elevados de gengivite eram menores nas crianças de 4-6 anos, do que em crianças maiores ou adultos. Em todos níveis de acúmulo de placa, o grau mais elevado de inflamação gengival foi observado nas crianças de 14-16 anos de idade e nos adultos. Os resultados indicaram que a reatividade gengival aumenta gradualmente da infância à idade adulta.

SAWYER et al. ⁸⁶, em 1986, avaliaram a microbiota bucal de um grupo de 22 crianças nigerianas, com 1 a 5 anos de idade, bem nutridas e mal nutridas. As amostras de placa foram colhidas da margem dento-gengival e semeadas para cultivo. A presença de espiroquetas foi determinada através da observação microscópica de esfregaços do material amostrado. A porcentagem de isolamento das microbiotas aeróbia e anaeróbia facultativa foi igual para o grupo de crianças bem nutridas e mal nutridas; contudo, a porcentagem de isolamento da microbiota anaeróbia estrita foi significativamente maior nos pacientes mal nutridos. Os espiroquetas foram encontrados somente nas crianças mal nutridas (88%). De 3 pacientes mal nutridos que receberam dieta hiperprotéica balanceada durante 6 meses e que foram novamente avaliados, 2 apresentaram alteração de uma

microbiota predominantemente anaeróbia para uma na qual os anaeróbios não foram isolados. A exceção foi um dos pacientes no qual o *Bacteroides oralis* ainda foi isolado, embora todas as outras espécies de *Bacteroides* tivessem desaparecido. Estes dados demonstraram que as crianças mal nutridas apresentaram microbiota fortemente indicativa de deterioração da saúde bucal ou existência de doença bucal.

Através da microscopia de campo escuro MIKX; MATEE; SCHAEKEN ⁶² (1986) analisaram a microbiota subgengival de 71 crianças tanzanianas das zonas rural e urbana, com idades entre 7-9 anos e 77 crianças holandesas com 6-12 anos de idade, para verificar a ocorrência de espiroquetas na fase pré-pubertária e a relação de sua presença com o estado periodontal. Os espiroquetas foram detectados em quase todas as crianças tanzanianas (93%) e em 66% das crianças holandesas. Os espiroquetas predominantes apresentaram tamanho pequeno e médio enquanto os espiroquetas grandes não foram observados com frequência nas crianças tanzanianas da zona rural e nos sítios com sangramento das crianças holandesas. As porcentagens de cocos, bacilos e fusiformes indicaram que a microbiota subgengival de crianças tanzanianas difere da das holandesas. Os espiroquetas foram detectados mais frequentemente nos sítios com sangramento do que nos sítios não sangrantes, em ambas populações. Porém, nos sítios não sangrantes das crianças tanzanianas houve maior prevalência de espiroquetas do que os sítios com sangramento das crianças

holandesas. Concluíram que os espiroquetas são membros da microbiota normal de crianças em idade pré-pubertária, que a gengivite está associada ao aumento na proporção de espiroquetas e que sua presença no sulco gengival não é dependente da inflamação gengival.

Uma vez já investigada a bacteriologia da gengivite experimental em crianças ⁶⁸, MOORE et al. ⁶⁵ (1987) determinaram a microbiota total cultivável associada com a gengivite de ocorrência natural em adultos e crianças, comparando-a com aquelas encontradas naquele estudo, bem como na saúde, na periodontite juvenil e na periodontite moderada ou severa. Participaram do estudo 10 crianças, com idades entre 4 e 6 anos, e 11 adultos, com 24-34 anos, com gengivite e um grupo controle, com 16 adultos periodontalmente sadios. Foram encontradas diferenças significantes entre os três grupos para o índice gengival ($p < 0,0001$). O teste de Tukey mostrou que o índice gengival era significantemente maior nos adultos com gengivite que nas crianças com gengivite, e maior nestas que nos adultos sadios. O índice de placa também diferiu significantemente entre os três grupos, mas foram as crianças que exibiram os maiores escores. As microbiotas das crianças e adultos com gengivite não diferiram entre si, mas foram distintas daquelas associadas com a saúde ou a periodontite. Não houve diferença na microbiota, também entre áreas com diferentes índices gengivais. O *T.*

denticola e o *B. gingivalis* não foram isolados de amostras de pessoas sadias ou crianças com gengivite.

A presença e os principais nichos de alguns periodontopatógenos foram investigados por FRISKEN et al.²⁵ (1987) em crianças com idades entre 5 e 7 anos, utilizando dois métodos de isolamento. Das 67 crianças, 38,8% apresentavam dentição decídua completa enquanto 61,2% apresentavam dentadura mista. Os autores não observaram qualquer situação na qual uma espécie bacteriana em particular fosse detectada na placa ou na saliva das crianças com ou sem dentes permanentes irrompidos. Utilizando o método de diluição e plaqueamento espiral isolaram os *Bacteroides* negros em 31,1% das crianças, com a espécie *B. intermedius* sendo a mais freqüentemente detectada (21%). O *B. gingivalis* foi isolado em apenas uma de 61 crianças (1,6%) e o *A. a.* de 1/30 indivíduos, enquanto o *F. nucleatum*, *Capnocytophaga* spp. e *Eikenella corrodens* foram observados em mais de 60% das crianças. Quando utilizaram uma técnica de plaqueamento direto a freqüência de detecção das bactérias foi significativamente maior, sendo que o número de *Bacteroides* negros dobrou (61,3%) e o de *A.a.* aumentou dez vezes (33,3%). Para a *Capnocytophaga* spp. e o *F. nucleatum* não houve diferenças evidentes. Os *Bacteroides* negros foram isolados menos comumente de amostras de placa do que de amostras de saliva, língua ou amígdalas, mas o *B. intermedius* foi mais isolado em amostras de placa

(44,4%). Concluíram os autores, que alguns microrganismos periodontopáticos encontram-se freqüentemente presentes em idades precoces, tanto na placa como em outros sítios bucais.

LOESCHE ⁵², em 1988, detectou espiroquetas através de exame por microscopia em campo escuro, na placa dentária de aproximadamente 40% de crianças com idades entre 3 e 5 anos e em aproximadamente 50% das crianças de 6-12 anos que haviam sido examinadas, correspondendo, porém a menos de 0,5% da microbiota total, não sendo cultiváveis.

Em estudo longitudinal de 4 anos envolvendo 31 crianças na fase pré-pubertária (idade de $11,4 \pm 0,4$ anos), VAN OOSTEN et al.¹¹³ (1988), através dos métodos de cultura e microscopia de campo escuro, observaram *Bacteroides* negros ($>10^4$ UFC) em 75% dos indivíduos, sendo que o *B. intermedius* foi o mais comumente isolado e o *B. gingivalis* não foi detectado. O *B. intermedius* e o *B. melaninogenicus* foram freqüentemente detectados na placa subgengival e estavam associados com sinais clínicos de inflamação gengival. Da mesma forma os espiroquetas foram isolados com freqüência na presença de gengivite. As meninas apresentaram maiores escores de gengivite do que os meninos do mesmo grupo etário. Os *Bacteroides* negros apresentaram maior prevalência nas meninas em idade pré-pubertária do que nos meninos, indicando que estes microrganismos

devem estar associados com fatores do hospedeiro ou substratos específicos utilizados para seu crescimento. Não observaram diferenças na prevalência ou proporção de espiroquetas entre os sexos. Confirmaram que os *Bacteroides* negros e os espiroquetas são freqüentemente encontrados em crianças na pré-puberdade e que estão correlacionados com a presença de placa subgengival e com o grau de gengivite.

MARTINS; VIGGIANO; HALLA ⁵⁵, em 1988, avaliaram a prevalência e severidade da doença periodontal em crianças brasileiras na faixa etária de 3 a 6 anos, residentes na zona urbana da cidade de Florianópolis. Foram examinadas 243 crianças de ambos os sexos em relação a inflamação gengival, utilizando-se o índice periodontal de Russel. Os resultados mostraram prevalência de 99,60% e apenas uma criança não apresentou comprometimento periodontal. Quanto à severidade, 105 crianças (43,21%) apresentaram gengivite leve (0,1-1,0), 134 crianças (55,14%) apresentaram gengivite moderada (1,1-2,0) e somente 3 crianças (1,24%) apresentaram gengivite severa (>2,0).

Para determinar se o *B.gingivalis* e outros *Bacteroides* negros poderiam ser detectados em crianças, ROBERT; MOUTON ⁸¹ (1989) avaliaram amostras de placa subgengival colhidas dos incisivos inferiores de 41 crianças de 6-15 anos de idade. Através da cultura isolaram o *B. gingivalis* e o *B. intermedius* de 6 crianças

e outros *Bacteroides* negros de 4. Seis *Bacteroides* negros isolados foram perdidos antes da identificação. Vinte e duas crianças apresentaram culturas negativas para os *Bacteroides* negros. A imunofluorescência indireta revelou a presença de *B. gingivalis* em 28 crianças. Estes resultados indicaram que as espécies de *Bacteroides* negros colonizam a boca na infância e que o *B. gingivalis* seria mais prevalente (acima de 68% das crianças) do que normalmente se aceita.

Ainda em 1989, KISBY et al.⁴¹ realizaram o primeiro estudo com a tecnologia das sondas de DNA para pesquisar a presença de *A.a.*, *B. gingivalis* e *B. intermedius* em amostras de placa subgengival de crianças americanas. Essa análise utiliza fragmentos espécie-específicos do DNA, que se hibridizam com o DNA pertencente ao patógeno em questão dentro de uma amostra de placa desconhecida. Uma vez que os códigos de DNA são únicos entre diferentes espécies, as sondas são sensíveis e específicas. Na investigação compararam os níveis dos três microrganismos na placa subgengival de 60 crianças na pré-puberdade, com idades entre 8 e 11 anos divididas em dois grupos: sem e com evidência de gengivite e sinais clínicos de doença periodontal. Os dois grupos exibiram uma semelhança notável na incidência das 3 bactérias, sendo o percentual de indivíduos positivos respectivamente para o *A.a.*, 20% e 23%; para o *B. intermedius*, 57% e 70% e para o *B. gingivalis*, 37% e 50%. Em ambos os grupos, 98% dos sítios positivos continham menos de 10^4 células de *A.a.* ou *B.*

gingivalis, indicando baixas proporções dessas espécies. Por outro lado, foi elevada a porcentagem de sítios com níveis ++ (10^4) ou +++ ($>10^5$ células) para o *B. intermedius*.

Considerando a ocorrência relativamente comum de microrganismos periodontopatógenos em crianças maiores, FRISKEN; HIGGINS; PALMER ²⁴ (1990) investigaram se estes microrganismos poderiam ser detectados em 36 crianças a partir da primeira semana de vida até os 2,5 anos de idade, divididas em quatro faixas etárias: 0-1 semana, 1-6 meses, 1-2 anos, 2-2,5 anos. Através da cultura, não conseguiram isolar nenhuma das bactérias pesquisadas na primeira semana de vida. O *B. intermedius* e o *B. melaninogenicus* foram detectados a partir do primeiro mês de vida, em freqüências que variaram de 16 a 37%, nos diferentes grupos etários. O *B. gingivalis*, *B. loescheii* e o *A.a.* não foram isolados. Estes resultados sugeriram que a colonização por *Bacteroides* negros, particularmente o *B. intermedius* e o *B. melaninogenicus* pode ocorrer nos primeiros meses de vida. No entanto, comparativamente ao estudo que fizeram com crianças de 5 a 7 anos ²⁵, as proporções de todas as bactérias foram menores nestas crianças, indicando que embora a incidência permaneça estável, as proporções dos microrganismos podem aumentar com o tempo.

FONSECA ²³, em 1990, investigou a relação da presença de espiroquetas na placa subgengival com os níveis de inflamação gengival em 66 crianças brasileiras, com idades entre 5 a 10 anos, através do método enzimático BANA (Benzoil-DL-arginine-2-naphthylamide). O teste mostrou-se fortemente positivo em 34,8% das crianças e em 45% dos sítios examinados. Foram detectados espiroquetas em 65,15% das crianças, em pelo menos um dos quatro sítios examinados. A positividade da reação BANA e a presença de espiroquetas tendeu a aumentar com o aumento da idade. Quando os sítios sangrantes ou não sangrantes foram correlacionados com a presença ou ausência de espiroquetas não houve associação significativa.

Utilizando a metodologia da sonda de DNA, com nível de detecção de 10^3 bactérias, ABRAHAM et al.¹, em 1990, avaliaram 50 crianças americanas com idades entre 6 e 14 anos em relação à presença de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides gingivalis* e *Bacteroides intermedius*, em 4 sítios subgengivais dos primeiros molares permanentes superiores e inferiores. A amostra total foi dividida em dois grupos, segundo o índice de placa. Do número total de sítios da amostra (n=200), 59 sítios (30%) apresentavam índice de placa = 0 e 141 sítios (70%) índice de placa ≥ 1 . As porcentagens de detecção microbiana observadas nos grupos de sítios com índice de placa = 0 e índice de placa ≥ 1 foram respectivamente: 6,8 e 29,8% para o *A.a.*, 44 e 61,7% para o *B. intermedius* e 20,4 e 41,8% para o *B. gingivalis*. O *B. gingivalis* não foi detectado

sozinho em nenhum sítio amostrado, somente em combinação com o *B. intermedius*, sugerindo uma relação de sinergismo entre eles. O *B. intermedius* foi o microrganismo mais predominante, tanto no grupo de sítios com índice de placa = 0 como no grupo com índice de placa ≥ 1 .

WATSON et al.¹²¹, em 1991, pesquisaram através dos testes BANA e ELISA para o *T. denticola* e *P. gingivalis*, se esses microrganismos poderiam ser encontrados na placa subgengival de 157 crianças com idades entre 2 e 18 anos. No grupo total, o teste BANA foi positivo em 56% das crianças. Quando analisadas separadamente, considerando os estágios da dentição foram observados 42,8% de positividade em 63 crianças com dentadura decídua, 50% em 74 crianças com dentadura mista e 30% em 20 crianças com dentadura permanente. O teste ELISA para o grupo total revelou 79% das crianças positivas para o *T. denticola* e 80% para a *P. gingivalis*. O teste BANA revelou grande especificidade, mostrando-se negativo quando as bactérias não estavam presentes, mas baixa sensibilidade, sendo negativo quando o teste ELISA detectava *B. gingivalis* e *T. denticola*. Este estudo mostrou que crianças abrigam periodontopatógenos e que esta presença pode ser relacionada com a história de doença periodontal na família.

Devido a dificuldade de se identificar espiroquetas na placa dentária, BARRON et al.⁷ (1991) utilizaram anticorpos monoclonais e uma técnica

imunoenzimática para avaliar o número relativo de espiroquetas de modo geral e, particularmente, do *T. denticola*. Foram coletadas amostras de placa de 40 indivíduos com idades entre 2 e 25 anos separados em 4 grupos de dez: grupo com dentadura decídua (2-4 anos), com dentadura mista (5-11 anos), com dentadura permanente (12-15 anos) e adultos jovens (16-25 anos). A prevalência dos espiroquetas totais nos quatro grupos foi respectivamente de: 50%, 70%, 70% e 90%, com aumento marcante nas contagens relativas por volta dos 9-14 anos, tendo os indivíduos mais velhos maior probabilidade de apresentar espiroquetas, em maior número e diferentes espécies do que os indivíduos mais jovens. As prevalências dos dois sorotipos de *T. denticola* para as quatro faixas etárias foram respectivamente de: 50% e 40%; 70% e 60%, 70% e 60% e de 90% e 90%. Esses resultados levaram a sugestão de que o *T. denticola* possa ser o primeiro treponema a colonizar a dentadura decídua; que o *T. denticola* parece compreender a principal proporção dos espiroquetas em todas as idades e que dois sorotipos distintos de *T. denticola* coexistem na placa dentária da maioria das crianças. O uso de anticorpos monoclonais para o *B. gingivalis* revelou que a prevalência e o número relativo desse microrganismo foram muito baixos nas quatro faixas etárias, não indicando relação aparente com a idade. O indivíduo mais jovem a apresentá-lo tinha 9 anos.

Para caracterizar o perfil microbiológico do sulco gengival de crianças, NAKAGAWA et al.⁷³, em 1991, examinaram amostras colhidas de dois sítios de 18

pacientes com gengivite e de dois sítios de 18 indivíduos sadios, divididos em três estágios de maturação fisiológica: crianças em idade pré-escolar, crianças em idade escolar e crianças na circumpuberdade. Através dos métodos de cultura e microscopia de campo escuro verificaram que as mudanças nas proporções e freqüência das bactérias periodontopáticas foram distintas nos diferentes estágios de maturação fisiológica. Os *Bacteroides* negros foram comumente encontrados nas lesões de gengivite. O *B. intermedius* apresentou-se em níveis mais elevados no estágio circumpubertário. O *A.a.* foi detectado em 4 dos 12 sítios das crianças em idade escolar e em 6 dos 12 sítios do estágio circumpubertário nos portadores de gengivite. Nessa fase, a proporção de *A.a.* nos grupos com gengivite foi significativamente maior do que no grupo de indivíduos sadios e esses índices correlacionaram-se com o índice gengival e o índice de placa. O exame microscópico mostrou que a proporção de espiroquetas nos grupos com gengivite foi significativamente maior do que nos grupos de indivíduos sadios. Os espiroquetas exibiram estreita correlação com os índices gengival e de placa nos três estágios avaliados.

A ocorrência de bactérias bucais anaeróbias Gram negativas mesmo antes da irrupção dos dentes foi examinada por KÖNÖNEN; ASIKAINEN; JOUSIMIES-SOMER ⁴³ (1992) em 30 bebês com idades entre 1 e 7 meses. As amostras foram colhidas das superfícies mucosas, bochecha, palato, língua e saliva de cada bebê e cultivadas aerobica e anaerobicamente em meios seletivos e não seletivos.

Noventa por cento dos bebês apresentaram bactérias anaeróbias nos primeiros 3 meses de idade, sendo detectadas 11 espécies diferentes. A *Prevotella melaninogenica* foi a isolada com maior frequência (70%). A *Prevotella intermedia* foi encontrada em 7% dos bebês e a *Porphyromonas gingivalis* não foi detectada em nenhum dos bebês. Estes resultados sugerem que várias espécies de bactérias anaeróbias colonizam facilmente a boca edêntula de bebês, mas um ambiente especial, tal como o sulco gengival, pode ser pré-requisito para a colonização da *P. gingivalis* na cavidade bucal.

A detecção de várias espécies bacterianas anaeróbias Gram negativas na microbiota bucal de bebês edêntulos levou KÖNÖNEN; JOUSIMIES-SOMER; ASIKAINEN ⁴⁴ (1992) a questionarem a sua fonte de infecção inicial. Para investigar a possível similaridade dessas bactérias na saliva estimulada das mães (idades entre 21-41 anos) e na mucosa e saliva dos bebês do estudo anterior (idades entre 1-7 meses) as amostras foram analisadas com a mesma metodologia microbiológica utilizada. Todas as mães abrigaram *F. nucleatum* e 29 delas abrigaram *P. melaninogenica* em sua saliva. Em aproximadamente metade das mães os níveis salivares de *P. melaninogenica*, *F. nucleatum*, *Prevotella* spp. não pigmentada, *P. intermedia* e *P. loescheii* excederam 10^4 unidades formadoras de colônias (CFU). Observaram correlação positiva somente entre a concentração salivar materna de *P. melaninogenica* e a colonização dos bebês. Não

encontraram associação positiva para *Prevotella* spp., *P. intermedia* e *P. loescheii*. Nenhuma das mães ou bebês apresentou *P. gingivalis* ou *A. actinomycetemcomitans*. Especularam que a saliva materna pode agir como fonte de alguns anaeróbios Gram negativos para a microbiota bucal de bebês edêntulos.

Com o objetivo de verificar se os periodontopatógenos *T. denticola*, *P. gingivalis* e *B. forsythus* poderiam ser simultaneamente detectados em 22 pares de mães e primeiro filho e 6 pares de mães e segundo filho, BRETZ et al.¹⁵ (1993) pesquisaram esses microrganismos através da técnica de "Slot immunoblot" em amostras de placa subgengivais de mães e crianças situadas na faixa de 6 a 11 anos de idade, com média de 8,6 anos. Foi observada concordância moderada (no mínimo 25% e no máximo 75%) para a presença do *T. denticola* nos diferentes pares e concordância quase perfeita (90%) para a presença simultânea do *B. forsythus* em membros da mesma família. Não foi observada concordância para a *P. gingivalis*. Os autores concluíram que a presença intrafamiliar de determinadas espécies periodontopatogênicas, se deve primordialmente à pais portadores de doença periodontal.

Partindo do pressuposto de que a ocorrência de doença periodontal severa na família poderia aumentar o risco de colonização de suas crianças PETIT et al.⁷⁸

(1994) , examinaram 49 crianças na faixa etária de 3 meses até 15 anos (total de 12 entre os 3-6 anos) quanto à presença de *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, espiroquetas e microrganismos móveis, altamente prevalentes em um dos pais com periodontite severa. Realizaram avaliação clínica da condição periodontal e avaliação microbiológica utilizando os métodos de imunofluorescência indireta com anticorpos policlonais e cultivo para a análise das amostras da mucosa bucal, dorso da língua, amígdalas, saliva e placa subgengival de 4 sítios. Nenhuma das crianças com idade inferior a 5 anos foi afetada periodontalmente, enquanto que entre os 5-15 anos, 26,5% apresentaram um ou mais sítios com leve perda de inserção. No total de 49 crianças, a *P. gingivalis* só foi isolada de uma criança de 5 anos, da mucosa bucal, amígdala e saliva, mas não do sulco gengival, o *A.a.* foi detectado em 5 crianças das quais a mais nova tinha 3 anos de idade e a *P. intermedia* em 34, sendo que sua ocorrência correlacionou-se com a idade, tendo 3 anos a criança mais nova que a apresentou. Formas móveis de bactérias foram vistas em 4/8 crianças na faixa etária de 0-2 anos e em 11/12 na faixa de 3-6 anos, sendo sua presença na língua três vezes maior do que no sulco gengival. A criança mais nova a apresentar espiroquetas tinha 3 anos e, na faixa dos 3-6 anos, 4/12 crianças foram positivas. Ao contrário do observado em adultos, os espiroquetas foram tão comuns na língua quanto no sulco gengival. A presença de um dos periodontopatógenos na criança sempre esteve associada à sua presença em pelo menos um dos pais.

Com o emprego de outros métodos, WATSON; BRETZ; LOESCHE¹²⁰ (1994) avaliaram a relação entre a presença de *T. denticola* e *P. gingivalis* ou periodontite nos pais e a presença de espécies BANA-positivas nas crianças. Foram examinadas 34 mães ou pais (faixa etária dos 26-41 anos) e 34 crianças (faixa etária dos 6-11 anos) em relação ao índice de placa, índice de sangramento gengival e presença de *T. denticola* e *P. gingivalis* em 4 amostras de placa subgengival, testadas pelo método de BANA ou pelo teste de ELISA, através de anticorpos policlonais específicos. As crianças cujos pais estavam colonizados por bactérias BANA-positivas foram 9,8 vezes mais predispostas a serem colonizadas por estas bactérias, enquanto que aquelas cujos pais apresentavam evidência clínica de periodontite apresentaram probabilidade 12 vezes maior de serem colonizadas. Os resultados corroboraram a hipótese de que as crianças possam adquirir espécies BANA-positivas de seus pais, principalmente quando estes são portadores de periodontite.

Uma vez que a irrupção dos dentes decíduos proporciona nichos adequados para a colonização bacteriana, KÖNÖNEN et al.⁴⁵, em 1994, avaliaram a composição da microbiota bucal Gram negativa de uma amostra de 21 crianças na faixa etária de 24-41 meses e dentição decídua, que já haviam sido avaliadas em sua fase edêntula. Foram colhidas duas amostras de cada criança, uma amostra de placa subgengival colhida com fio dental e uma de saliva estimulada com parafina associada com material colhido com “swab” de todo revestimento

mucoso. Realizaram o cultivo em aero e anaerobiose das amostras utilizando meios seletivos e não seletivos. Nenhuma das crianças abrigou o *A.a.* ou a *P. gingivalis*. Houve um aumento das taxas de ocorrência para a maioria dos anaeróbios orais Gram negativos em crianças com dentes quando comparadas ao seu período edêntulo. A detecção de *P. intermedia* aumentou de 10% para 67% e somente as prevalências de *B. gracilis* e *Veillonella* spp. permaneceram no mesmo nível. Detectaram também algumas espécies que não haviam sido isoladas dos bebês edêntulos tais como: *P. denticola* (71%), outras espécies de *Fusobacterium* spp. (71%) que não o *F. nucleatum* e *Selenomonas* spp. (43%). Com a irrupção dos dentes decíduos, novas espécies colonizaram as superfícies bucais e criaram uma microbiota anaeróbia Gram negativa multiforme.

Em 1994, NAKAGAWA et al.⁷⁴ examinaram a resposta imune contra a *P. gingivalis* e três sorotipos de *A.a.*, correlacionando-a com a idade e a infecção homóloga. Foram avaliados 90 indivíduos, divididos em três grupos: 40 com gengivite, 40 com periodonto sadio e 10 com periodontite. Os dois primeiros grupos foram divididos em quatro faixas, de acordo com a idade (pré-escolar, escolar, puberdade e adulto). A *P. gingivalis* não foi detectada no grupo periodontalmente sadio, nem em crianças na faixa pré-escolar com gengivite. O *A.a.* não foi cultivado de crianças pré-escolares sadias, mas o sorotipo c foi cultivado nessa faixa, das crianças com gengivite. Em relação aos anticorpos, no

grupo com gengivite houve correlação positiva entre o aumento da idade e aumento dos níveis séricos de anticorpos IgG contra a *P. gingivalis* até a puberdade. No entanto, não foram observadas diferenças estatisticamente significantes nas faixas da puberdade e do adulto. O nível de anticorpos IgG contra o A.a. no grupo com gengivite em idade escolar foi significativamente maior que o do grupo com gengivite em idade pré-escolar, para todos os sorotipos. Foi observada correlação positiva entre o nível elevado de IgG anti-A.a. e anti-*P. gingivalis* e a presença desses microrganismos na placa, tanto do grupo de indivíduos na puberdade com gengivite como no grupo de adultos com periodontite.

Utilizando a técnica do “slot immunoblot” ROSA ⁸², em 1995, avaliou amostras de placa subgengival de 59 crianças saudáveis, com idades entre 3 e 6 anos, quanto a presença, distribuição e intensidade de colonização de dez bactérias: *A. viscosus*, *S. sanguis*, *S. mutans*, *P. gingivalis*, *P. nigrescens*, *A. actinomycetemcomitans* (A.a.), *F. nucleatum*, *S. sputigena*, *T. denticola* e *T. vincentii*. O *A. viscosus* foi detectado em 100% das crianças, o *S. sanguis* em 72,9%, o *S. mutans* em 22,0%, a *P. nigrescens* em 23,7%, o A.a. em 52,5%, o *F. nucleatum* em 57,6%, a *S. sputigena* em 17,0% e o *T. vincentii* em 27,1%. A *P. gingivalis* e o *T. denticola* não foram detectados. A distribuição dos microrganismos não foi homogênea, ocorrendo colonização em 1, 2, 3 ou 4 sítios. Os maiores escores médios de detecção foram observados para o *A. viscosus*

(0,5 – 3,0). Em geral, para os demais, os escores médios evidenciaram a baixa intensidade de colonização. Não foram observadas diferenças na detecção que pudessem ser atribuídas ao sexo (exceto para o *S. mutans* nos meninos), a idade (3 – 4, > 4 – 5, > 5 - 6 anos) ou a origem das amostras (mandibular ou maxilar). O estudo das correlações evidenciou correlações significantes entre a idade e a detecção de *P. nigrescens*; o índice de placa e o índice gengival, *A. viscosus*, *S. sanguis*, *A.a.* e *F. nucleatum*, o índice gengival e o *A. viscosus*, *S. sanguis*, *P. nigrescens*, *A. a.* e *T. vincentii* e entre todas as bactérias, exceto entre a *P. nigrescens* e o *A. viscosus*, *S. sanguis*, *S. mutans*, *F. nucleatum*, e entre *S. sputigena* e o *A. viscosus*, *P. nigrescens* e *T. vincentii*. Concluiu que a microbiota do sulco gengival na dentição decídua é constituída predominantemente por bactérias Gram positivas da placa básica, podendo abrigar alguns, mas não todos os organismos considerados periodontopatógenos potenciais.

Também em 1995, SIXOU; BONNAURE-MALLET; MOUTON ⁹³ avaliaram, através do teste ELISA, a presença de anticorpos contra a cepa de *Porphyromonas gingivalis* ATCC 33277 em amostras de soro de 41 crianças com periodonto sadio e idades entre 1 e 16 anos, utilizando dois diferentes antígenos: pérolas de vidro revestidas com extrato de superfície celular (GBE) ou lipopolissacarídeo (LPS). Os pacientes foram divididos em 4 grupos sendo 10 com dentição decídua, 16 com dentadura mista (5-8 anos de idade), 10 com dentadura mista (9-11 anos de idade) e 5 com dentição permanente (12-16 anos de idade).

No grupo total também se pesquisou o microrganismo, o qual foi detectado por imunofluorescência, utilizando anticorpos monoclonais espécie-específicos, em 41% (17/41) das crianças e isolado de um único indivíduo com 15 anos de idade (2,4%). A presença de anticorpos IgM, IgG e IgA detectados nos soros contra GBE foram respectivamente 95%, 100% e 66% e contra o LPS, 100%, 95% e 61%, indicando que anticorpos contra a *P. gingivalis* são altamente prevalentes no soro de crianças e sugerindo que tanto uma resposta imune primária quanto uma resposta imune secundária estejam em andamento. Os dados obtidos também suportaram a hipótese de que a *P. gingivalis* seja membro endógeno da microbiota bucal em humanos.

Com a finalidade de estudar a distribuição e possíveis vias de transmissão dos periodontopatógenos *P. intermedia* e *P. nigrescens*, VAN STEENBERGEN et al.¹¹⁵, em 1995, investigaram clínica e microbiologicamente 5 pacientes com doença periodontal, seus esposos e 7 de seus filhos. As presenças de *P. intermedia* e *P. nigrescens* foram determinadas por técnicas de cultura em amostras de placa subgengival, saliva, língua, amígdalas e mucosa bucal. De todos 5 pacientes com doença periodontal, 3 esposos e 3 crianças a *P. intermedia* foi isolada de um ou mais sítios bucais. Os sítios bucais foram significativamente mais positivos para a *P. intermedia* nos pacientes com doença periodontal do que nos esposos ou filhos. A ribotipagem de um total de 44 isolados de *P. intermedia* permitiu identificar nas pessoas o que existia em comum. Uma criança apresentou

o ribotipo de *P. intermedia* que estava presente também em sua mãe; em outra criança foram detectados dois ribotipos, dos quais um foi encontrado em um dos pais e uma terceira criança foi colonizada com um ribotipo de *P. intermedia* não encontrado nos membros da família. Concluíram que os indivíduos podem abrigar vários tipos clonais diferentes de *P. intermedia*. Foram encontrados tipos indistinguíveis tanto entre pares casados como entre pais e filhos, indicando que a transmissão dessa espécie pode ser possível tanto em idades menores como na idade adulta. Nada foi dito sobre a *P. nigrescens*.

Em 1996, ASIKAINEN; CHEN; SLOTS ⁵, examinaram a probabilidade de transmissão entre casais e entre pais e filhos dos periodontopatógenos *A.a.* (124 indivíduos em 47 famílias) e *P. gingivalis* (78 indivíduos em 31 famílias). Os dois microrganismos foram isolados de amostras de placa subgengival e da superfície da língua e caracterizados geneticamente através do método PCR (polymerase chain reaction). Com um dos pares positivos para a bactéria, o *A.a.* revelou transmissão inter-pares em 4/11 (36%) dos casais e a *P. gingivalis* em 2/10 (20%) dos casais. A transmissão pais-filhos do *A.a.* ocorreu em 6/19 (32%) das famílias. A *P. gingivalis* não foi transmitida entre pais e filhos em nenhuma das famílias estudadas. Segundo os autores, a transmissão intra-familiar do *A.a.* e *P. gingivalis* pode, em parte, explicar o padrão familiar da periodontite e ter importantes implicações no tratamento e profilaxia desta doença.

Para determinar a idade de aquisição da *P. gingivalis*, MCCLELLAN; GRIFFEN; LEYS ⁶¹ (1996) examinaram a prevalência deste periodontopatógeno em estudo transversal. De 198 crianças, com idades entre 0 e 18 anos (pelo menos 10 indivíduos em cada ano), foram colhidas amostras da língua, mucosa vestibular e sulco mesial de cada dente presente, para análise através do método PCR. A *P. gingivalis* foi detectada em 37% dos indivíduos examinados, em frequências similares para cada grupo etário, mesmo entre indivíduos com menos de um ano de idade. Nas crianças de 5 e 6 anos de idade as frequências de detecção da *P. gingivalis* foram respectivamente de 50 e 30%. O indivíduo mais jovem no qual foi a bactéria detectada tinha 20 dias de idade. Não houve associação entre idade e colonização sugerindo que a *P. gingivalis* pode ser adquirida nos primeiros dias de vida, mesmo na ausência de dentes, uma vez que o sulco gengival era considerado seu nicho ecológico primário.

A prevalência de 8 periodontopatógenos, entre eles a *P. gingivalis*, a *P. intermedia* e o *T. denticola* foi determinada por ASHIMOTO et al.⁴, em 1996, utilizando o método de detecção de PCR baseado no RNAr 16S, em 50 pacientes com periodontite avançada, 50 adultos com gengivite leve e 50 crianças (com idades entre 2-11 anos) com gengivite leve. Compararam também a efetividade dos métodos PCR, cultura e sonda de DNA, para a identificação das espécies.

Nas crianças, a prevalência de *P. gingivalis* foi de 14%, da *P. intermedia* 18% e do *T. denticola* 16%, sendo significativamente maior no grupo com periodontite avançada do que nos outros dois grupos, sugerindo que esses microrganismos não sejam os principais componentes da placa subgengival em pacientes sem periodontite. A igualdade dos resultados na detecção da *P. gingivalis* entre os métodos PCR e sonda de DNA foi observada em 70% dos casos, enquanto que entre os métodos PCR e cultura foi de 49% dos casos. Este estudo demonstrou a utilidade do método PCR baseado no RNAr 16S, para identificar importantes microrganismos subgengivais. Os resultados indicaram uma forte associação entre as espécies estudadas e a periodontite. Várias relações simbióticas ainda não publicadas foram observadas entre as 8 espécies testadas, entre elas o *A.a.* / *B. forsythus* e *E. corrodens* / *P. gingivalis* que foram previamente citadas como associações negativas.

MÄTTÖ et al.⁵⁹, em 1996, avaliaram a distribuição da *P. intermedia* e *P. nigrescens* na cavidade bucal de 53 adultos (27-70 anos), sendo 10 com periodonto sadio, 23 com periodontite inicial e 20 com periodontite avançada e de 6 crianças (2-3 anos). As amostras de placa subgengival e de saliva estimulada foram cultivadas em ágar Brucella e o DNA cromossômico das *P. intermedia* e *P. nigrescens* cultivadas foi extraído e utilizado para hibridização com sondas de oligonucleotídeos espécie-específicas não radioativas e para ribotipagem.

Somente a *P.nigrescens* foi detectada em 4/6 crianças e nos 10/10 adultos periodontalmente sadios. A *P.nigrescens* predominou em 21/23 adultos com periodontite inicial, sendo que 6/23 abrigaram simultaneamente as duas cepas. Nos pacientes com periodontite avançada, as *P.intermedia/P.nigrescens* foram detectadas em 7/20, e a *P.intermedia* e a *P.nigrescens* foram encontradas isoladamente em 7/20 e 6/20, respectivamente. Concluíram que a *P.intermedia* e a *P.nigrescens* podem colonizar simultaneamente a cavidade bucal e que a *P.intermedia* parece estar associada à doença periodontal, devido sua ausência em adultos periodontalmente sadios e em crianças. A análise genética das cepas de *P.intermedia* e *P.nigrescens* sugeriu a transmissão dessas bactérias entre casais.

A distribuição de vários periodontopatógenos potenciais, entre os quais, a *P. intermedia*, a *P. nigrescens* e a *P. gingivalis*, foi pesquisada em amostras de placa gengival de indivíduos periodontalmente sadios, nas faixas de 3-5 anos, 9-10 anos, 24-27 anos, por CONRADS et al.¹⁶ (1996), utilizando uma técnica recém-desenvolvida de PCR e um ensaio de hibridização “dot-blot”. Das três bactérias mencionadas, somente a *P. nigrescens* foi detectada em todas as faixas etárias.

As relações entre a composição microbiana da placa subgengival e a perda de contato entre os dentes causada por cáries ou perda óssea alveolar em molares decíduos, foram avaliadas por BIMSTEIN et al.⁹, em 1996. Através de exame radiográfico interproximal, selecionaram 20 crianças na faixa etária de 6-10 anos, sendo 10 com perda de contato devido à cárie proximal entre os dois molares decíduos com pelo menos um sítio com perda óssea alveolar e um sítio sem (grupo A) e 10 crianças sem perda óssea alveolar, mas com sítios exibindo ou não perda de contato, devido à cárie proximal (grupo B). A composição microbiana da placa subgengival foi examinada através da microscopia de campo escuro e por cultura para o total de bactérias anaeróbias, o *A.a.* e a *P. gingivalis*. A microscopia de campo escuro confirmou que os espiroquetas e bacilos móveis devem ser parte da microbiota indígena da cavidade bucal em crianças. No entanto, suas proporções foram significativamente maiores na placa subgengival dos sítios de crianças com perda óssea alveolar do que nas demais. O *A.a.* e a *P.gingivalis* foram detectados nos dois grupos de pacientes; a *P. gingivalis* em 10/10 crianças do grupo A e em 7/10 crianças do grupo B, e o *A. a.* em 4/10 crianças do grupo A e 2/10 do grupo B. Nos sítios com o *A.a.* foram evidentes maiores proporções de espiroquetas, menores quantidades de cocos e mais colônias de *P.gingivalis*. Não foram evidenciadas diferenças significantes nas bactérias anaeróbias entre os sítios com ou sem perda de contato e com ou sem perda óssea alveolar. Concluíram que a composição microbiana da placa dentária está relacionada à perda óssea alveolar na dentição decídua, mas não com a perda de contato por si só.

Em um estudo longitudinal de 3 anos PERETZ; MACHTEI; BIMSTEIN ⁷⁷, em 1996, examinaram a relação entre placa dentária, inflamação gengival e profundidade do sulco gengival em 78 crianças (41 meninos e 37 meninas com idades entre 1 e 12 anos no exame inicial) que residiam em uma comunidade rural em Israel, rotineiramente atendidas em uma clínica odontológica a cada 6 meses. Os parâmetros clínicos utilizados nessa avaliação foram o índice de placa, índice gengival e profundidade do sulco gengival, aferidos no início da investigação e após 12, 24 e 36 meses. O índice de placa permaneceu essencialmente o mesmo durante o período do estudo, tanto para os dentes decíduos como para os permanentes, enquanto que o índice gengival e a profundidade do sulco aumentaram. A profundidade do sulco gengival foi significativamente maior nas crianças mais velhas a cada exame anual ($p < 0,001$). Houve uma forte correlação entre a idade e a profundidade de sulco a cada exame anual. A comparação do índice de placa e índice gengival com a profundidade do sulco gengival não mostrou diferenças estatísticas. Os resultados desta pesquisa fortalecem a hipótese de que o aumento da profundidade do sulco gengival em crianças e adolescentes jovens esteja principalmente associado à idade e em um grau muito menor à resposta inflamatória.

Uma investigação pioneira da transmissão do periodontopatógeno *P. gingivalis* entre várias gerações familiares foi realizada por TUIE-MCDONNELL et al.¹¹⁰ (1997), que pesquisaram 564 membros de 104 famílias contendo, em sua maioria, os pais, uma criança e pelo menos um dos avós, residentes em Columbus, Ohio, aleatoriamente selecionados. O estado de colonização da *P. gingivalis* nesses indivíduos foi determinado através do método PCR, com prevalência de 37% na amostra total. Entre as 4 gerações examinadas, a prevalência variou de 27,1% nas crianças a 50% nos bisavós. As crianças foram significativamente menos freqüentemente colonizadas do que seus avós, mas não foram observadas diferenças estatisticamente significantes entre as crianças e seus pais ou entre seus pais e avós. A concordância de colonização entre crianças e suas mães mostrou que uma mãe colonizada dá a criança um risco 4,65 vezes maior de ser colonizada do que as mães que não são colonizadas. Similarmente, um pai colonizado dá a criança um risco 2,98 vezes maior para a colonização. Os riscos para a colonização foram ainda maiores para as crianças que tinham os dois pais colonizados. Os resultados mostraram que o contato com um membro familiar infectado aumenta substancialmente o risco relativo de colonização nos pares intra-familiares, indicando que a *P. gingivalis* é comumente transmitida pelo contato com um membro familiar infectado.

Visando pesquisar a distribuição e vias de transmissão da *P. intermedia* e *P. nigrescens* entre membros da mesma família, VAN STEENBERGEN et al.¹¹⁶

(1997) selecionaram sete pacientes com periodontite moderada a severa, suas esposas e 14 filhos, com idades entre 0 e 10 anos, para estudar suas amostras de placa subgengival, saliva, língua, amígdalas e mucosa bucal através da cultura, diferenciar as duas bactérias através da eletroforese de enzimas e caracterizar os isolados através da ribotipagem. De todos os 7 pacientes, 4 esposos e 3/6 filhos, entre 5-10 anos de idade, foram isoladas *P. intermedia*, enquanto a *P. nigrescens* foi detectada em 2 dos 7 pacientes, 5 esposos e 5/6 filhos, entre 5-10 anos de idade e 1/8 filhos na faixa de 0-4 anos. Foram detectados ribotipos indistinguíveis de *P. intermedia* e *P. nigrescens* tanto entre casais como entre pais e filhos, indicando que a transmissão intrafamiliar desses microrganismos é possível tanto entre adultos como entre pais e filhos.

As condições de higiene bucal e o grau de inflamação gengival foram verificadas por JAHN; JAHN ³⁶, em 1997, em 83 crianças brasileiras na faixa etária de 1 a 5 anos, de classe social baixa, pertencentes a uma creche na cidade de São Paulo. Para o diagnóstico de gengivite foi utilizado o índice gengival (IG) de Loe e Silness e a quantidade de placa dentária foi estimada através do índice de higiene oral simplificado (IHO-S). Os autores verificaram que apenas 13 crianças (15,66%) apresentaram IG=0, 70 (84,34%) apresentaram IG≥1 e destas, 44 crianças (53,01%) apresentaram IG≥2 e 4 crianças (4,82%) IG=3. A média do IHO-S do grupo total foi de 2,3, enquanto que a média total do IG foi de 0,84. A alta prevalência de gengivite (84,34%) observada neste estudo está relacionada ao

grande acúmulo de placa dentária, demonstrando a necessidade do diagnóstico precoce da doença periodontal na infância e a importância da motivação e instrução de higiene bucal, principalmente aos pais das crianças na faixa etária avaliada.

Em um estudo realizado por KÖNÖNEN et al.⁴⁸ (1999), foram avaliados longitudinalmente a época e a sucessão de colonização de anaeróbios bucais em 44 bebês caucasianos saudáveis com 2, 6 e 12 meses de idade. Amostras de saliva não estimulada foram quantitativamente cultivadas em ágar Brucella sangue e em vários meios seletivos para o isolamento dos microrganismos anaeróbios. O anaeróbio mais frequentemente isolado em bebês com 2 meses de idade foi a *Veillonella* spp. A *P. melaninogênica* também representou espécies de colonização precoce, com a frequência de colonização aumentando marcadamente durante o primeiro ano de vida, enquanto que a *Prevotella intermedia* mostrou-se um colonizador tardio. O *F. nucleatum* foi a espécie anaeróbia isolada com maior frequência nos bebês com 1 ano de idade, sendo ocasionalmente encontradas outras fusobactérias. Com exceção da presença comum dos microaerófilos/facultativos *Actinomyces* spp., outras espécies anaeróbias Gram-positivas estiveram presentes em apenas alguns bebês. Uma vez estabelecidas, as espécies colonizadoras pioneiras tenderam a persistir na boca. O estudo demonstrou o estabelecimento de várias espécies anaeróbias, com constantes aumentos de frequência, durante o primeiro ano de vida.

Estabelecendo um sistema de tipagem, que usa uma combinação de PCR-ribotipagem e PCR arbitrariamente iniciada (AP-PCR), para *P. intermedia* e *P. nigrescens*, FUKUI et al.²⁶ (1999) aplicaram-nas ao estudo da presença intrafamiliar dessas espécies na cavidade bucal de 18 famílias, envolvendo o pai, a mãe e um filho. Em seis famílias, cujos filhos tinham idades entre 4 e 15 anos, os três membros apresentavam a *P. intermedia*, em “sensu lato”. A *P. intermedia* foi detectada em 3/6 crianças e a *P. nigrescens* em 5/6 crianças. Cepas do mesmo subtipo eram compartilhadas por membros de uma mesma família, mas não por membros de outras famílias. O estudo demonstrou que tanto a *P. intermedia* como a *P. nigrescens* eram predominantes em adultos e crianças; que o(s) mesmo(s) genotipo(s) de ambas as espécies podiam colonizar esposos ou pais e filhos e que cada família parece carregar subtipo(s) distinto(s) dessas espécies.

3 Proposição

3 PROPOSIÇÃO

Em crianças portadoras de fissura completa de lábio e palato unilateral, já operadas, e crianças não fissuradas, com dentadura decídua e idades entre 5 e 6 anos, propomo-nos comparar:

- as condições clínicas, levando em conta o índice de placa e o índice gengival;
- os graus de severidade dos índices de placa e gengival;
- os parâmetros clínicos da região bucal anterior com os da posterior, no grupo de portadores de fissura;
- a prevalência de *P.gingivalis*, *P.nigrescens* e *T. denticola* em amostras de placa subgengival, empregando-se o método de detecção bacteriana “slot immunoblot” (SIB).

4 Material e Métodos

4 MATERIAL E MÉTODOS

Seleção da amostra

Fizeram parte do estudo 57 crianças com idades entre 5 e 6 anos e dentição decídua completa, sendo 30 crianças portadoras de fissura completa de lábio e palato unilateral, já operadas e regularmente matriculadas no Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais (HRAC), da Universidade de São Paulo, em Bauru (grupo experimental) e 27 crianças não fissuradas, moradoras de um núcleo habitacional da periferia da cidade de Bauru, Estado de São Paulo (grupo controle). Como pré-requisito para participação no estudo, estas crianças deveriam apresentar boa saúde e não ter recebido antibioticoterapia nos três meses que antecederam a colheita das amostras. Todos os pacientes da amostra foram convidados a participar da referida pesquisa tendo recebido, após exame e colheita das amostras, um tratamento preventivo que constou de profilaxia da boca toda e aplicação tópica de flúor. Os pais das crianças dos dois grupos assinaram uma autorização prévia para esta participação (**ANEXOS A e B**) e o trabalho foi devidamente aprovado pelo Comitê de Ética (**ANEXO C**).

A avaliação, do que se considerou boa saúde geral das crianças portadoras de fissura, foi realizada com base no prontuário do Hospital que é bastante completo e contém informações sobre a história clínica do paciente em diversas especialidades (pediatria, otorrinolaringologia, cirurgia plástica, anestesiologia, cardiologia, neurologia etc.). Informações adicionais foram

fornechas pelas mães, das ocorrências observadas após a última visita, como manifestações de qualquer ordem (infecções, acidentes, alergias, etc.) e medicamentos utilizados nos últimos meses. Em casos de dúvida os pacientes foram encaminhados para serem reavaliados pela área médica específica. Cabe aqui salientar que todos os pacientes portadores de cardiopatias com risco à endocardite bacteriana, assim como outras doenças sistêmicas graves, já estão destacados através de anotações na primeira página deste prontuário, que obrigatoriamente é consultada antes de qualquer procedimento odontológico.

MATERIAL**SALINA TAMPÃO FOSFATO (PBS - 0,05M, pH 7,4)**

NaCl (Fisher)	8,0 g
Na ₂ HPO ₄ (Mallinckrodt)	1,2 g
KCl (Fisher)	0,2 g
KH ₂ PO ₄ (Fisher)	0,2 g
Água destilada q.s.p	1000 ml

SOLUÇÃO DE TRANSPORTE E MANUTENÇÃO (contém inibidores de proteases, para preservação das amostras de placa):

PBS contendo por litro :

EDTA (Sigma)	2,0 mM
Fluoreto de fenilmetilsulfonil (Sigma)	1,0 mM
Pepstatin A (Sigma)	10 ⁻⁷ M
Formaldeído (Mallinckrodt)	0,5 mg/litro

Solução distribuída em criotubos (Vanguard) em porções de 0,5 ml e armazenada a -20°C até o uso.

SALINA TAMPÃO TRIS (TBS) 0,05M, pH 7,5

Tris Base (Sigma)	2,42 g
NaCl (Mallinckrodt)	29,24 g
Água destilada q.s.p.	1000,00 ml

SALINA TAMPÃO TRIS-TWEEN (TBS-T) 0,05M, pH 7,5

Tris Base (Sigma)	1,20 g
Tris HCl (Sigma)	1,59 g
NaCl (Mallinckrodt)	29,22 g
Tween 20 (Intermatt)	0,50 ml
Água destilada q.s.p.	1000,00 ml

LEITE EM PÓ DESNATADO (BLOTTO - Bovine Lacto Transfer Technique Optimizer) (Molico)

TBS-Tween 2: é a TBS mais 2% de Tween 20

TBS-BLOTTO: é a TBS mais 0,5% de BLOTTO

TBS-T-BLOTTO: é a TBS-T mais 0,5% de BLOTTO

CONCANAVALINA A BIOTINILADA (Vector Laboratories) - lote n.81209

STREPTAVIDIN-FOSFATASE ALCALINA (Zimed Laboratories) - lote n.80642188

SORO DE CABRA ANTI-IgG DE COELHO (H+L) CONJUGADO À FOSTAFASE ALCALINA (Zimed Laboratories) - lote n. 80642143

SUBSTRATO PARA A FOSFATASE : BCIP/NBT (5-bromo-4-cloro-3-indolil-fosfato 0,21 g/l e nitroblue tetrazolium 0,42 g/l) (Kirkegaard & Perry) - lote TF 018

MEMBRANAS DE NITROCELULOSE (BA85-SP 0,45 µm - Schleicher & Schuell)

Usadas após umedecimento. Proteínas e ácidos nucléicos não se aderem à membrana seca. Sua manipulação é feita sempre com luvas sem talco para evitar qualquer ligação inespecífica.

PAPEL DE FILTRO E SUPORTE (GB002-SB - Schleicher & Schuell)

ANTÍGENOS BACTERIANOS SONICADOS - Usados como padrões em concentrações variando de 100,0 a 1,0 µg/ml em água destilada estéril :

Porphyromonas gingivalis ATCC 33277

Prevotella nigrescens ATCC 33563

Treponema denticola ATCC 35405

SOROS DE COELHO ESPECÍFICOS PARA OS MICRORGANISMOS CITADOS

Anti-soros policlonais altamente específicos desenvolvidos no Laboratório de Microbiologia da Faculdade de Odontologia da Universidade de Michigan, EUA e testados frente a um painel dos microrganismos mais comumente isolados da cavidade bucal, para determinar a ausência de reações cruzadas.

APARELHO DE ULTRA-SOM (Vibra Cell – modelo VC 50T – Sonics & Materials)

APARELHO OSCILADOR (Red Rocker modelo PR50 - Hoefer Scientific Instruments)

SISTEMA MINIFOLD II SLOT BLOT (Schleicher & Schuell)

Trata-se de dispositivo contendo três partes com uma área de filtração de 6,0 mm². Há um total de 72 fendas distribuídas em 3 fileiras, com 24 ranhuras cada.

A primeira parte é a base, que juntamente com a segunda parte formam uma câmara onde o vácuo é aplicado. Entre a segunda e a terceira partes são colocadas duas fitas de papel de filtro. A membrana de nitrocelulose é colocada nas costas da parte superior. Todo o conjunto é fechado com duas presilhas, do que resulta uma distribuição homogênea de forças dos dois lados, de modo a haver homogeneidade na filtração das amostras (**FIGURA 6**).

FIGURA 6 - Sistema Minifold II Slot Blot (Schleicher & Schuell).

MÉTODOS

1- Exame Clínico das Crianças

O exame clínico das crianças portadoras de fissura foi realizado no consultório odontológico do Setor de Odontopediatria do HRAC-USP, utilizando o aparelho de iluminação do equipo, espelho e sonda exploradora número 5 esterilizados e materiais descartáveis. As crianças do grupo controle foram examinadas no consultório odontológico da Escola Prof. Isaac Portal Roldan, sob as mesmas condições do grupo experimental.

Foram determinados os índices de placa (IP) e gengival (IG), segundo LÖE ⁵⁰ (1967), para todas as crianças os quais foram anotados em ficha, conforme modelo anexo (**ANEXO D**).

Escore para o índice de placa:

grau 0 - ausência de placa na área gengival;

grau 1 - há uma película de placa que se adere à margem gengival livre e área adjacente do dente, podendo ser reconhecida apenas pela passagem de uma sonda pela superfície do dente;

grau 2 - acúmulo moderado de depósitos moles no sulco gengival, na margem gengival e/ou superfície dental adjacente, que pode ser visto a olho nu;

grau 3 - acúmulo abundante de material mole no sulco gengival e/ou na margem gengival e superfície dental adjacente.

Escores para o índice gengival:

grau 0 - gengiva normal;

grau 1 - inflamação leve - ligeira modificação na cor, ligeiro edema. Nenhum sangramento à sondagem;

grau 2 - inflamação moderada - gengiva edemaciada, brilhante e avermelhada ou vermelho azulada. Sangramento à sondagem;

grau 3 - inflamação severa - gengiva marcadamente vermelha ou vermelho azulada e edemaciada. Ulceração. Tendência ao sangramento espontâneo.

A severidade da inflamação gengival é definida segundo faixas que utilizam esses escores como referência: inflamação de grau baixo (escores de 0,1 – 1,0), moderado (1,1 – 2,0) e alto (2,1 – 3,0). O autor não menciona graus de severidade para o índice de placa, mas por analogia foram considerados: baixo (0,1 – 1,0), moderado (1,1 – 2,0) e alto (2,1 – 3,0).

2 - Colheita das amostras de placa subgengival

Do grupo experimental foram colhidas seis amostras por criança, sendo duas da região lingual dos segundos molares decíduos inferiores, duas da região vestibular dos segundos molares decíduos superiores e duas dos dentes adjacentes à fissura sendo um do segmento maior (F) e outro do segmento menor (f), das faces adjacentes à fissura (**FIGURA 7**). Do grupo controle foram colhidas quatro amostras por criança, duas da região lingual dos segundos molares decíduos inferiores e duas da região vestibular dos segundos molares decíduos

superiores. Inicialmente, os locais foram isolados com rolos de algodão e a placa supragengival foi cuidadosamente raspada com cureta, e depois com algodão, para evitar a contaminação da amostra subgengival. Em seguida, com cureta estéril, a placa subgengival de cada região foi raspada e colocada em criotubos contendo 0,5 ml da solução de transporte e manutenção. Após a identificação dos frascos, as amostras foram estocadas a -20°C até o momento do processamento. Todos os procedimentos clínicos foram realizados pelo mesmo investigador.

FIGURA 7 – Local da colheita da amostra nos dentes adjacentes à fissura (grupo experimental).

3 - Sonicação das amostras

Após a calibração do aparelho “Vibra cell”, as amostras foram submetidas à ultrasonicação durante 6 segundos, com a saída de energia em 60%, para dispersar os agregados de placa. Entre a sonicação de uma e outra amostra, o aparelho foi acionado em álcool 70% p/v, para desinfecção e eliminação de qualquer partícula aderida.

4 - Avaliação da quantidade de placa através da determinação do conteúdo de carboidrato ¹¹⁴.

Para esta avaliação foi utilizado como controle positivo o leite em pó desnatado “Molico”, o BLOTTO em quatro concentrações diferentes (50µg/ml, 10µg/ml, 5µg/ml e 1µg/ml em água destilada), definidas a partir de testes para padronização.

- **Preparo do Dispositivo**

A membrana de nitrocelulose foi embebida em TBS 0,05M, pH 7,5, por 30 minutos. A seguir, duas folhas de papel de filtro previamente umedecidas em TBS foram colocadas sobre o suporte de filtração do Minifold II e a membrana de nitrocelulose aplicada contra a placa que contém as fendas para colocação das amostras. Qualquer bolha existente sob a membrana era eliminada através de compressão com os dedos enluvados. A parte do dispositivo com a membrana foi colocada então sobre aquela contendo o papel de filtro, para minimizar o

aprisionamento de bolhas, que pode levar à dispersão da amostra, e o conjunto foi mantido firmemente preso através de duas presilhas de plástico laterais. Montado o Minifold II e mantido em posição vertical, foi feito o vácuo de baixa intensidade (cerca de 1 ml/min), com bomba de vácuo “Brasil” durante 1-2 minutos, para remover o excesso de líquido.

- Colocação das amostras

Com micropipeta, foram aplicados 10 µl das diluições do padrão BLOTTO e das amostras das crianças nas fendas, deixando duas fendas vazias, como controles negativos. Terminada a aplicação, foi feito o vácuo novamente e removida cuidadosamente a membrana de nitrocelulose do Minifold II colocando-a em 100 ml de TBS-Tween 2, por 60 minutos, para bloquear os sítios não ocupados.

- Emprego da Lectina

Após lavagem de 5 minutos em TBS-T, a membrana foi colocada em 100 ml de concanavalina A biotinizada diluída a 1:1000 em TBS-T, e incubada por 1 hora.

- Uso da streptavidin-fosfatase alcalina

Depois de três lavagens de 5 minutos cada uma com TBS-T, a membrana foi incubada em 100 ml de solução de streptavidin-fosfatase alcalina diluída a 1:1000 em TBS-T por 1 hora, seguida de outras 2 lavagens com TBS-T e uma com TBS, todas com duração de 5 minutos.

- Revelação da reação

A revelação da reação foi feita com a adição de 10 ml/tira de BCIP/NBT à membrana de nitrocelulose, sendo esse contato mantido por 6 minutos, sob agitação manual. Para suspender a ação do revelador, foram feitas três lavagens de 1 minuto cada em água destilada, sendo então a membrana secada ao ar. Tanto a embebição como as lavagens e as incubações foram feitas sob agitação no aparelho oscilador, em temperatura ambiente.

5 - Detecção das bactérias nas amostras de placa ¹¹⁴

O procedimento foi o mesmo descrito para o carboidrato, apenas utilizando reagentes diferentes.

- Colocação das amostras

Após o vácuo, os controles, previamente padronizados, formados pelas culturas bacterianas puras, diluídas em água destilada, nas concentrações de 10µg/ml, 5µg/ml, 1µg/ml e 0,5µg/ml e sonicadas, foram colocados em duplicata nas últimas fendas do Minifold II, deixando-se ainda duas fendas vazias, como controles negativos. As amostras de placa sem diluir foram distribuídas em porções de 10 µl nas demais fendas. Feito o vácuo, a membrana de celulose foi removida do Minifold II e incubada em 100 ml de TBS-BLOTTO por 1 hora, para bloquear os sítios não ocupados da nitrocelulose, evitando futuras ligações

inespecíficas.

- Uso do Anticorpo Específico de Coelho

Terminado o bloqueio, a membrana foi lavada durante 5 minutos com TBS-T e incubada durante uma hora em 100 ml da diluição do soro de coelho (para a *P.gingivalis* e *P.nigrescens*, 1:5000 e para o *T. denticola*, 1:15000) em TBS-T-BLOTTO. A isso se seguiram três lavagens com TBS-T de 5 minutos de duração cada.

- Emprego do Soro de Cabra Anti-IgG de Coelho

A membrana foi incubada durante 1 hora com soro de cabra anti-IgG de coelho conjugado à fosfatase alcalina, diluído a 1:1000 em TBS-T-BLOTTO, seguindo-se as lavagens e revelação de forma idêntica à do ensaio anterior.

- Leitura

A leitura nos dois procedimentos foi visual e semiquantitativa, através da observação da intensidade de cor desenvolvida em cada fenda. As fendas receberam escores de 0 a 3, onde 0 significa a ausência de cor; 1 - cor roxa mal detectável; 2 - intensidade intermediária e 3 - cor roxa de máxima intensidade. No que diz respeito às bactérias, o escore 1 representa uma concentração de pelo menos 2×10^4 UFC (unidades formadoras de colônias); o escore 2: de 2×10^4 a 3×10^5 UFC e o escore 3: $> 3 \times 10^5$ UFC.

5 Resultados

5 RESULTADOS

Nas **TABELAS 1 e 2** são apresentados os dados que caracterizam os grupos experimental e controle quanto a sexo e idade. As médias $\pm$ desvios-padrão e medianas das idades (em meses) para os dois grupos foram respectivamente $66,67 \pm 3,74$, 68 e $65,33 \pm 4,41$, 66, sendo as porcentagens de meninos e meninas para os grupos experimental e controle, respectivamente de 70% e 30% e 44,44% e 55,56%.

Os resultados relativos ao índice de placa e índice gengival dos grupos experimental e controle estão dispostos nas **TABELAS 3 e 4**, sendo que, no grupo experimental (**TABELA 3**) foram considerados os 6 sítios (total) e realizada uma subdivisão para os 4 sítios posteriores e os 2 sítios anteriores, adjacentes à fissura.

Os valores médios, desvios-padrão e medianas das variáveis clínicas estudadas dos grupos experimental e controle encontram-se descritos na **TABELA 5**, ilustrando a **FIGURA 8**, os valores médios do IP e IG, para ambos os grupos.

A comparação das variáveis clínicas entre os grupos experimental e controle foi realizada através do Teste de Mann-Whitney, com nível de significância de 5%. Foram comparados o IP e IG total (6 sítios) e de 4 sítios do grupo experimental com o IP e IG do grupo controle, verificando-se diferença estatisticamente significativa entre o IG total e o IG de 4 sítios do grupo

experimental e o IG do grupo controle ($p<0,05$). Para os índices de placa não houve diferenças estatisticamente significantes entre os dois grupos (**TABELA 6**).

Utilizando-se o teste de Wilcoxon, foi realizado também, dentro do grupo experimental, a comparação entre o IP e IG separadamente dos sítios normais (4 sítios) e da área da fissura (2 sítios), evidenciando-se diferença estatisticamente significativa ($p<0,05$) entre os IP de 4 e 2 sítios (**TABELA 7**).

As **TABELAS 8 e 9** mostram o número e a porcentagem de crianças distribuídas de acordo com os graus de severidade do IP e IG. Para o grupo experimental verificou-se que, nas análises do IP total e IP de 4 sítios, a maioria apresentou índice de placa de grau moderado (escores entre 1,1 e 2,0). Em relação ao IP de 2 sítios, houve igualdade entre as porcentagens de graus moderados (1,1 – 2,0) e altos (2,1 – 3,0). Quanto ao IG, as análises de 2, 4 e 6 sítios mostraram apenas graus de severidade baixo e moderado, com pequena superioridade do grau baixo para o IG de 2 e 6 sítios e do grau moderado para o IG de 4 sítios. No grupo controle, a maioria das crianças apresentou índice de placa moderado e índice gengival de baixa severidade. As **FIGURAS 9 e 10** representam a porcentagem de crianças de acordo com o grau de severidade do IP e do IG dos grupos experimental e controle.

Quando se comparou, através do teste do Qui-quadrado, a severidade do IP e IG entre os grupos experimental e controle e entre as áreas do grupo experimental (2, 4 e 6 sítios) não se constatou nenhuma diferença estatisticamente significativa ($p<0,05$) (**TABELA 10**).

Os escores médios dos sítios subgengivais relativos ao conteúdo de carboidrato e das três bactérias selecionadas dos grupos experimental e controle encontram-se nas **TABELAS 11 e 12**, respectivamente. Para a obtenção desses escores médios, foram utilizados os resultados constantes dos **ANEXOS E e F**, nos quais os sítios 1 e 2 correspondem aos dentes superiores (55 e 65), os sítios 3 e 4 aos dentes inferiores (75 e 85) e, para o grupo experimental, os sítios 5 e 6 aos dentes adjacentes à fissura do rebordo alveolar.

As quantidades médias $\pm$ desvios-padrão de carboidrato para os grupos experimental e controle foram respectivamente, $2,19 \pm 0,58$ e $2,55 \pm 0,40$.

A frequência de detecção para a *P. nigrescens* foi de 16,67% e 11,11%, respectivamente para o grupo experimental e o grupo controle. Foi aplicado o Teste de Fisher para comparação, dando como resultado $p=0,709$, indicando, portanto, que não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos. A *P. gingivalis* e o *T. denticola* não foram detectados.

Dos sítios positivos para a *P. nigrescens* no grupo experimental, três apresentaram escore 1 e dois o escore 2, enquanto no grupo controle, dois apresentaram o escore 1 e um o escore 3, evidenciando predomínio de baixa concentração do microrganismo.

O número de sítios positivos, nas crianças que exibiram *P. nigrescens* pode ser visto na **TABELA 13**, mostrando o predomínio de infecção em sítios isolados.

TABELA 1 - Características do grupo experimental quanto a sexo e idade.

AMOSTRA #	Iniciais	Sexo	Idade (meses)
1	W.S.B.	M	60
2	C.M.B.M.	M	60
3	L.S.F.	M	62
4	M.N.S.S.	F	62
5	L.J.O.	F	62
6	M.N.S.M.	M	62
7	R.S.	M	63
8	R.M.L.D.	F	63
9	B.V.O.	M	63
10	P.H.O.	M	63
11	A.J.B.	M	64
12	R.A.S.	F	67
13	F.A.M.	M	67
14	F.H.C.L.	M	67
15	D.F.P.	F	68
16	I.S.S.	M	68
17	M.V.A.P.	M	69
18	L.P.S.	M	69
19	I.B.M.	F	69
20	M.W.R.S.	M	69
21	R.A.P.	M	69
22	G.S.G.	M	69
23	A.D.S.	M	70
24	T.P.S.	F	70
25	J.A.O.S.	M	70
26	C.F.S.	F	70
27	M.C.A.S.	F	70
28	A.J.F.	M	71
29	Y.S.F.A.	M	72
30	M.M.D.C.	M	72

TABELA 2 - Características do grupo controle quanto a sexo e idade.

AMOSTRA #	Iniciais	Sexo	Idade (meses)
1	M.C.S.	F	60
2	J.A.F.	F	60
3	M.V.M.	M	60
4	C.V.M.O.	M	60
5	B.P.C.	F	60
6	K.C.L.	F	60
7	F.C.	F	60
8	W.P.S.	M	62
9	M.C.O.	F	62
10	M.T.O.	M	63
11	W.S.	M	63
12	D.F.	F	63
13	E.S.O.	F	64
14	A.G.C.	M	66
15	D.M.F.	F	66
16	M.D.S.C.	M	67
17	G.L.A.	M	67
18	N.B.M.	F	67
19	L.G.G.C.	F	68
20	A. M.	F	69
21	D.C.B.	F	69
22	R.M.M.	F	69
23	B.H.G.	M	71
24	M.F.S.C.	M	72
25	L.C.B.L.	M	72
26	J.P.S.	M	72
27	A.C.R.	F	72

TABELA 3 - Dados clínicos (índice de placa e índice gengival) do grupo experimental.

AMOSTRA	IP			IG		
	total	4 sítios	2 sítios	total	4 sítios	2 sítios
1	2,3	2,1	2,8	1,1	1,2	1,0
2	1,5	1,5	1,6	1,2	1,1	1,4
3	2,0	1,8	2,6	1,0	1,1	1,0
4	2,4	2,4	2,4	1,0	1,0	1,1
5	1,5	1,5	1,5	1,1	1,1	1,0
6	1,5	1,5	1,5	1,0	1,0	1,0
7	1,1	1,0	1,3	1,0	1,0	1,0
8	2,7	2,6	3,0	1,6	1,7	1,5
9	2,0	2,1	1,8	1,0	1,0	1,0
10	2,3	2,1	2,9	1,4	1,1	2,0
11	1,4	1,4	1,3	1,2	1,2	1,1
12	1,6	1,4	2,1	0,6	0,4	1,0
13	2,0	1,7	2,5	0,9	0,9	1,0
14	1,6	1,6	1,5	1,3	1,4	1,1
15	2,2	1,9	2,8	1,0	1,0	1,1
16	1,9	1,7	2,3	1,2	1,3	1,0
17	2,1	2,0	2,6	1,0	0,9	1,0
18	1,5	1,6	1,4	1,1	1,1	1,0
19	2,0	1,7	2,8	0,7	0,6	1,0
20	2,1	2,1	2,3	1,5	1,5	1,4
21	2,1	1,9	2,5	1,1	1,1	1,1
22	1,9	1,6	2,4	0,9	0,9	1,0
23	1,5	1,5	1,4	0,9	1,1	0,5
24	2,0	1,9	2,0	0,9	0,9	1,0
25	1,7	1,4	2,3	1,1	1,0	1,4
26	1,5	1,6	1,4	1,0	1,1	1,0
27	1,2	1,1	1,4	0,7	0,5	1,0
28	1,8	2,1	1,4	1,1	1,1	1,3
29	1,8	2,1	1,4	0,8	0,9	0,8
30	1,4	1,2	1,9	1,2	1,1	1,4

TABELA 4 - Dados clínicos (índice de placa e índice gengival) do grupo controle.

AMOSTRA	IP	IG
1	1,7	0,1
2	1,9	1,1
3	1,9	1,0
4	0,9	0,2
5	1,1	0,6
6	1,2	0,4
7	0,8	1,1
8	2,3	1,0
9	1,8	1,1
10	2,3	1,2
11	2,1	1,3
12	1,8	1,4
13	1,9	1,1
14	1,8	1,1
15	1,6	0,6
16	1,6	0,9
17	1,4	0,6
18	1,8	0,8
19	1,5	0,5
20	1,4	0,7
21	1,2	0,7
22	1,5	0,8
23	1,9	0,7
24	1,9	0,8
25	1,6	0,4
26	1,3	0,6
27	1,8	0,5

TABELA 5 - Valores médios, desvios-padrão e medianas do IP e IG dos grupos experimental e controle.

variáveis clínicas	média	dp	mediana
grupo experimental			
IP total	1,82	0,38	1,85
IP 4 sítios	1,74	0,37	1,70
IP 2 sítios	2,04	0,58	2,05
IG total	1,05	0,22	1,00
IG 4 sítios	1,04	0,26	1,10
IG 2 sítios	1,11	0,26	1,00
grupo controle			
IP total	1,63	0,38	1,70
IG total	0,79	0,33	0,80

FIGURA 8 - Valores médios do IP e IG dos grupos experimental e controle.

TABELA 6 - Comparação das variáveis clínicas entre os grupos experimental e controle (Teste de Mann-Whitney).

variável	grupo experimental posto médio	grupo controle posto médio	U	valor de p
IP 6 sítios X IP	32,6	25,1	298,5	0,09
IP 4 sítios X IP	30,8	27,0	352,0	0,40
IG 6 sítios X IG	35,1	22,2	221,5	0,003*
IG 4 sítios X IG	34,7	22,6	233,5	0,006*

*diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$)

TABELA 7 - Comparação das variáveis clínicas (IP e IG) entre sítios normais (4 sítios posteriores) e área da fissura (2 sítios anteriores) no grupo experimental (Teste de Wilcoxon).

variável	T	valor de p
IP 4 sítios X IP 2 sítios	68,0	0,004*
IG 4 sítios X IG 2 sítios	138,5	0,35

* diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$)

TABELA 8 - Distribuição das crianças (%) com escores de índices de placa baixos, moderados e altos.

escores	grupo experimental			grupo controle
	IP 6 sítios	IP 4 sítios	IP 2 sítios	IP total
	0	1	0	2
0,1 – 1,0	(0)	(3,33)	(0)	(7,41)
	22	21	15	22
1,1 – 2,0	(73,33)	(70,00)	(50,00)	(81,48)
	8	8	15	3
2,1 – 3,0	(26,67)	(26,67)	(50,00)	(11,11)
	30	30	30	27
TOTAL	(100)	(100)	(100)	(100)

TABELA 9 - Distribuição das crianças (%) com escores de índices gengivais baixos, moderados e altos.

Escore	grupo experimental			grupo controle
	IG 6 sítios	IG 4 sítios	IG 2 sítios	IG total
	16	14	18	19
0,1 – 1,0	(53,33)	(46,67)	(60,00)	(70,37)
	14	16	12	8
1,1 – 2,0	(46,67)	(53,33)	(40,00)	(29,63)
	0	0	0	0
2,1 – 3,0	(0)	(0)	(0)	(0)
	30	30	30	27
TOTAL	(100)	(100)	(100)	(100)

FIGURA 9 - Distribuição em porcentagem das crianças de acordo com os graus de severidade do índice de placa.

FIGURA 10 - Distribuição em porcentagem das crianças de acordo com os graus de severidade do índice gengival.

TABELA 10 - Comparação dos graus de severidade do IP e IG entre os grupos experimental e controle e entre as áreas do grupo experimental (2, 4 e 6 sítios) (Teste do Qui-quadrado)*.

	IP		IG	
	x ²	p	x ²	p
6 sítios X controle	4,13	0,127	1,74	0,187
4 sítios X controle	4,13	0,127	3,28	0,070
6 sítios X 4 sítios	0	1	0,27	0,606
6 sítios X 2 sítios	3,46	0,063	0,27	0,602
4 sítios X 2 sítios	3,46	0,063	1,07	0,301

* diferença estatisticamente significativa (p<0,05)

TABELA 11 - Escores médios dos sítios subgengivais para o carboidrato e as três bactérias do grupo experimental.

Amostra #	Carboidrato	<i>P. gingivalis</i>	<i>P. nigrescens</i>	<i>T. denticola</i>
1	2,33	0	0	0
2	2,50	0	0,17	0
3	2,50	0	0,17	0
4	2,83	0	0	0
5	2,50	0	0	0
6	2,33	0	0	0
7	2,83	0	0	0
8	3,00	0	0,17	0
9	2,17	0	0	0
10	2,00	0	0	0
11	1,83	0	0	0
12	2,50	0	0,33	0
13	1,33	0	0	0
14	2,50	0	0,33	0
15	2,83	0	0	0
16	1,67	0	0	0
17	2,83	0	0	0
18	1,00	0	0	0
19	1,83	0	0	0
20	2,83	0	0	0
21	2,33	0	0	0
22	2,17	0	0	0
23	2,50	0	0	0
24	3,00	0	0	0
25	1,50	0	0	0
26	1,50	0	0	0
27	1,00	0	0	0
28	2,17	0	0	0
29	2,00	0	0	0
30	1,50	0	0	0

TABELA 12 - Escores médios dos sítios subgengivais para o carboidrato e as três bactérias do grupo controle.

Amostra #	Carboidrato	<i>P. gingivalis</i>	<i>P.nigrescens</i>	<i>T.denticola</i>
1	3,00	0	0	0
2	2,50	0	0	0
3	2,50	0	0	0
4	2,50	0	0	0
5	2,75	0	0	0
6	2,25	0	0	0
7	3,00	0	0	0
8	2,75	0	0,75	0
9	1,50	0	0	0
10	3,00	0	0	0
11	3,00	0	0,25	0
12	3,00	0	0	0
13	2,50	0	0	0
14	2,50	0	0,25	0
15	2,75	0	0	0
16	2,00	0	0	0
17	2,50	0	0	0
18	2,75	0	0	0
19	2,00	0	0	0
20	2,50	0	0	0
21	2,00	0	0	0
22	3,00	0	0	0
23	2,75	0	0	0
24	2,50	0	0	0
25	1,75	0	0	0
26	2,75	0	0	0
27	2,75	0	0	0

TABELA 13 - Número de crianças positivas em 1, 2, 3, 4, 5 ou 6 sítios subgengivais para a *P. nigrescens* nos grupos experimental e controle.

grupo número de sítios	experimental n=30	controle n=27
1	3	2
2	2	0
3	0	1
4	0	0
5	0	-
6	0	-
TOTAL	5	3

6 Discussão

6 DISCUSSÃO

A fissura lábio-palatal é uma malformação congênita que acomete 1 a cada 650 nascimentos e acarreta aos seus portadores distúrbios estéticos, funcionais e emocionais. Sua reabilitação é longa e demanda o atendimento por várias especialidades durante muitos anos, com a preocupação maior de restabelecer a função e a estética prejudicadas, devolvendo-lhes condições para uma vida física e emocionalmente saudável.

Os esforços da equipe de reabilitação são imensos, mas muito gratificantes, pois proporcionam aos portadores de fissura os meios necessários para sua recuperação. No entanto, a participação e o incentivo da família são imprescindíveis para que todas as etapas do tratamento possam ser adequadamente ultrapassadas, com o objetivo comum de reabilitar.

Quando presentes, a deformidade na região da fissura alveolar e a cicatriz cirúrgica do lábio operado constituem fatores de risco para as doenças bucais, uma vez que dificultam o controle adequado da placa dentária, somando-se ainda o receio dos pais e dos pacientes para a higienização correta dessa área

11, 20, 75.

O manejo odontológico de pacientes com fissura alveolar envolve também outros desafios. Os distúrbios no desenvolvimento dentário resultam em variações no número, morfologia, estrutura e irrupção dentária na área da fissura, sendo o incisivo lateral o dente mais comumente afetado⁸⁰. Além disso, têm sido documentadas altas prevalência e severidade de má oclusão entre esses

indivíduos, cujas manifestações podem iniciar-se na dentição decídua e exacerbar-se com o aumento da idade ^{8, 60, 84, 104}. As irregularidades dentárias e dos segmentos maxilares, decorrentes da fissura, podem resultar em maior acúmulo de placa dentária com conseqüente aumento da freqüência de cárie e alterações periodontais nessa região, quando comparadas com pacientes não fissurados ⁹⁰.

É de fundamental importância a atuação do cirurgião-dentista em várias fases do tratamento, com o objetivo de prevenir as doenças bucais nestes indivíduos. Isso lhes dará condição, através da preservação de uma dentição hígida, para que as cirurgias sejam realizadas em épocas oportunas; o desenvolvimento da fala não seja prejudicado por extrações dentárias precoces; a presença de dentes hígidos adjacentes à fissura ajude a manter tecido ósseo nessa região, favorecendo conseqüentemente o posicionamento dos segmentos maxilares e os dentes decíduos possam funcionar como suporte para os aparelhos ortodônticos utilizados na fase da dentadura mista. Ressalta-se ainda que a presença de dentes decíduos sadios é imprescindível para o desenvolvimento adequado do sistema estomatognático e manutenção de espaço para os dentes permanentes.

Portanto, neste estudo, procurou-se verificar se a saúde periodontal de crianças portadoras de fissura completa de lábio e palato, analisada sob os pontos de vista clínico e microbiológico, diferia da de crianças não fissuradas, devido aos fatores de risco que apresentam.

Na seleção da amostra optou-se pela escolha de apenas um tipo de fissura, a completa de lábio e palato unilateral, por entender-se que constitui a

fissura mais abrangente anatômicamente e desta forma, com maiores conseqüências sobre os dentes e estruturas de suporte, além de ser, epidemiologicamente, a mais prevalente ².

Um outro detalhe em relação à amostra deve ser mencionado, uma vez que o número de indivíduos do sexo feminino e masculino diferiu nos grupos experimental e controle. No grupo controle foi possível um equilíbrio na distribuição dos sexos (44,44% meninos e 55,56% meninas); no entanto, no grupo experimental a porcentagem de meninos (70%) foi maior do que a de meninas (30%) (**TABELAS 1 e 2**).

Embora a literatura demonstre a ausência de diferenças em relação ao sexo para as variáveis clínicas e microbiológicas estudadas ⁸², cabe aqui justificar que a colheita dos dados do grupo controle foi realizada em 3 dias em uma escola municipal de um núcleo habitacional e portanto, pôde ser adequadamente selecionada, enquanto a amostra do grupo experimental demorou aproximadamente 6 meses para ser colhida, sendo restrita a possibilidade de seleção equilibrada. Inicialmente foram convidados a participar, de forma voluntária, todos os pacientes portadores da fissura específica, na faixa etária analisada, residentes no estado de São Paulo e que preenchessem os pré-requisitos para a seleção da amostra. As crianças deveriam apresentar apenas dentes decíduos e não terem tomado antibiótico nos últimos três meses, o que consistiu um fator de exclusão de várias delas, uma vez que apresentam maior predisposição à infecções do trato respiratório e auditivo do que aquelas sem fissuras, sendo freqüentemente submetidas às terapias com estes medicamentos.

Além disso, existe também epidemiologicamente uma prevalência maior da fissura completa de lábio e palato no sexo masculino ², razão pela qual a amostra apresentou estas características, podendo o mesmo ser observado em outros estudos que avaliaram este tipo de fissura e que tiveram distribuições em relação aos sexos semelhantes às deste trabalho ^{75, 111}.

Para a avaliação do grau de higiene bucal e do estado de saúde gengival foram utilizados os índices de placa e gengival de LÖE ⁵⁰ (1967) (**TABELAS 3 e 4**).

No grupo experimental os índices de placa para 6 sítios e 4 sítios apresentaram média $\pm$ desvio padrão (dp) de $1,82 \pm 0,38$ e $1,74 \pm 0,37$, respectivamente, sendo que a maioria das crianças mostrou intensidade moderada de placa, para ambos os grupos (73,33%). Na análise de 2 sítios verificou-se IP médio $\pm$ dp igual a $2,04 \pm 0,58$, sendo que o grau de intensidade dividiu-se igualmente entre moderado (50%) e alto (50%). Para o grupo controle, o IP médio $\pm$ dp foi de $1,63 \pm 0,38$ com a maioria apresentando quantidade moderada de placa (81,48%) (**TABELAS 5 e 8 e FIGURAS 8 e 9**).

Os índices gengivais (IG) obtidos nos grupos experimental e controle demonstraram prevalência de sinais de inflamação gengival em 100% dos casos (IG>0) (**TABELAS 3 e 4**). Para o grupo experimental, o IG médio $\pm$ dp de 6 sítios foi de $1,05 \pm 0,22$, de 4 sítios, $1,04 \pm 0,26$ e de 2 sítios $1,11 \pm 0,26$ (**TABELA 5 e FIGURA 8**). Quando se considerou a intensidade dos sinais verificou-se que, no grupo experimental, na avaliação de 6 ou 2 sítios, a maioria dos pacientes

apresentou inflamação gengival de severidade baixa (53,33% e 60%, respectivamente), enquanto que, na análise de 4 sítios, houve superioridade do grau moderado (53,33%) **(TABELA 9 e FIGURA 10)**. No grupo controle, porém, observou-se que 70,37% das crianças apresentaram inflamação gengival de baixa severidade, com valor do IG médio $\pm$ dp igual a $0,79 \pm 0,33$ **(TABELAS 5 e 9 e FIGURAS 8 e 10)**.

A literatura demonstra que a prevalência de gengivite em crianças, em diferentes faixas etárias, classes sociais e etnias, principalmente em brasileiros, é considerada alta, variando de 84,3% a 100%^{17, 18, 36, 55, 101, 109, 118}, embora a maioria dos trabalhos tenha encontrado manifestação de severidade baixa^{17, 1, 101, 118} à moderada^{18, 55}; assim como ocorreu neste estudo.

Os índices de placa e gengivite relatados pelos diferentes autores em crianças não fissuradas dessa faixa etária são variados, desde índices médios de placa de $0,66 \pm 0,24$ ou gengival de $0,66 \pm 0,29$, em crianças australianas¹⁰¹, ou IP médio de $1,02 \pm 0,48$ e IG médio de $0,36 \pm 0,39$ na consulta inicial de uma avaliação longitudinal de 3 anos em crianças israelenses⁷⁷, até médias de IP de $1,6 \pm 0,4$ e IG de $1,0 \pm 0,3$ em crianças japonesas com gengivite⁷⁴. Estes últimos resultados foram mais próximos ao deste trabalho.

Frise-se que, neste estudo, para a obtenção dos índices de placa e gengival foram avaliadas somente as unidades dentárias a serem amostradas microbiologicamente, o que é comum neste tipo de pesquisa^{64, 74, 82, 113}, enquanto os trabalhos de cunho epidemiológico relacionados, em sua maioria fazem a análise da boca toda^{17, 18, 35, 109, 118}. HUGOSON; KOCH; RYLANDER³⁵, em estudo de prevalência de gengivite observaram maiores escores de placa e

inflamação gengival nas faces vestibulares dos segundos molares superiores e lingual dos segundos molares inferiores, justamente as áreas amostradas para exame microbiológico neste trabalho. Dessa forma, os índices médios de placa e de inflamação gengival observados, tanto na região anterior como na região posterior, podem refletir as piores condições para ambas regiões avaliadas (área da fissura e região posterior).

Além das limitações técnicas, deve-se acentuar que a análise comparativa dos índices de placa e gengival em diferentes populações, com diferentes hábitos e diferentes classes sociais é difícil de ser estabelecida, conhecendo-se a influência de todos estes aspectos na qualidade do controle de placa e conseqüentemente na saúde gengival. Portanto, neste estudo optou-se pela utilização de um grupo controle de crianças não fissuradas para comparação, que apresentassem características sócio-econômicas semelhantes às do grupo experimental, ou seja, de crianças pertencentes às classes sociais baixas ou médias inferiores.

Os resultados do presente estudo demonstraram índices de inflamação gengival significativamente maiores nas crianças portadoras de fissura completa de lábio e palato unilateral em comparação às crianças não fissuradas ($p < 0,05$), mas ausência de diferença estatística nos índices de placa entre esses dois grupos (**TABELA 6**). Este resultado demonstra que o controle de placa dentária é um aspecto crítico em crianças desta faixa etária, portadoras de fissura ou não, pois, quando se analisa o grau de severidade dos escores do IP observa-se que a maioria das crianças apresenta severidade moderada e alta, com apenas poucas crianças do grupo controle apresentando grau baixo (**TABELA 8 e FIGURA 9**). No

entanto, a análise dos graus de severidade da inflamação gengival demonstrou apenas manifestações de grau leve e moderado, para ambos os grupos (**TABELA 9 e FIGURA 10**).

Na análise das regiões bucais do grupo experimental verificou-se maior acúmulo de placa na região anterior superior (IP de 2 sítios) em comparação com a região posterior (IP de 4 sítios), com diferenças estatisticamente significantes entre eles ($p < 0,05$) (**TABELA 7**). Estas observações foram comprovadas em outros estudos que verificaram, em crianças portadoras de fissura, maior acúmulo de placa nesta região como consequência de anomalias dentárias, colapso dos segmentos maxilares e fibrose cicatricial resultante do reparo cirúrgico do lábio, que limitam ou dificultam o acesso para uma higiene bucal satisfatória^{11, 20, 75}. Todavia, no presente estudo, o maior acúmulo de placa não se traduziu em maior inflamação gengival na região anterior superior de portadores de fissura, conforme demonstrado pela ausência de diferença estatisticamente significativa entre o IG de 2 sítios e o IG de 4 sítios, o que contradiz os resultados de outros autores^{20, 75}.

A diferença observada quando utilizadas as médias dos IP (**TABELA 7**) quase se confirmou estatisticamente, quando empregadas as faixas indicadoras do grau de severidade, com $p = 0,06$ (**TABELA 10**).

As investigações disponíveis na literatura sobre a saúde bucal de crianças portadoras de fissura lábio palatal, de modo geral, avaliaram a presença de cárie dentária, presença de placa/nível de higiene bucal e grau de inflamação gengival^{11, 20, 75, 111} (vide **FIGURA 1**). No entanto, existe uma grande variedade metodológica nessas pesquisas nas quais, por vezes, todos os tipos de fissuras

são agrupados e considerados entidades patológicas similares, sem levar em consideração os aspectos mais contundentes das fissuras completas de lábio e palato, que podem influir significativamente nos resultados.

Embora não fosse objetivo deste estudo a avaliação da cárie dentária, alguns comentários sobre esse assunto merecem ser tecidos, uma vez que os trabalhos citados apresentaram diversas formas de análises, ora comparando portadores de vários tipos de fissuras com indivíduos não fissurados ^{11, 20}, constatando maior prevalência de cárie em portadores de fissura; ora comparando diferentes tipos de fissura entre si ^{20, 75}, verificando não haver diferenças significantes nos índices de cárie entre eles; ora realizando apenas um levantamento da presença ou ausência de cárie em indivíduos com fissura completa de lábio e palato unilateral e encontrando uma porcentagem de 45% de crianças com cárie neste grupo de pacientes ¹¹¹.

Quanto à higiene bucal, as investigações também apresentaram várias metodologias para a avaliação da presença de placa bacteriana. Dois estudos foram realizados sem a utilização de índices de placa, sendo a análise de sua presença feita de forma subjetiva. O primeiro comparou crianças portadoras de diferentes tipos de fissura com crianças não fissuradas, na faixa etária de 5-6 anos de idade, e encontrou higiene bucal mais precária nos portadores de fissura²⁰, e o outro apenas constatou que 66% de um grupo de crianças portadoras de fissura completa de lábio e palato unilateral (idades entre 5 e 9 anos) apresentaram higiene bucal precária ¹¹¹.

Somente um terceiro estudo, realizado por PAUL; BRANDT ⁷⁵ analisou objetivamente a presença de placa, através da utilização de índice. No entanto, os

autores avaliaram somente pacientes portadores de fissura, de vários tipos, comparando as regiões da boca e os tipos de fissura entre si. Verificaram que o IP médio foi maior no grupo com fissura completa de lábio e palato quando comparado aos índices das fissuras isoladas de lábio ou palato, maior no segmento anterior do que no segmento posterior e maior no arco superior do que no inferior. Os índices médios de placa e gengival foram de $1,1 \pm 0,8$ e de $0,4 \pm 0,05$, respectivamente, e inferiores aos do presente estudo. Entretanto, a comparação com esses resultados deve ser feita com ressalvas uma vez que os índices médios por eles referidos englobaram inclusive fissuras isoladas de lábio ou palato, que apresentam menor predisposição ao acúmulo de placa do que as fissuras completas de lábio e palato. Além disso, na pesquisa foi avaliada uma larga faixa etária (dos 3 aos 18 anos) e, embora a amostra tenha sido dividida em 3 grupos etários (3-5, 6-12 e 13-18 anos), não foram mencionados resultados específicos do IP e do IG para a dentição decídua.

Os estudos sobre a saúde gengival de crianças portadoras de fissura, com ou sem a utilização de índices, são também unânimes em afirmar que as mesmas apresentam maior ocorrência de inflamação gengival do que os indivíduos não fissurados ^{11, 20}, principalmente na região anterior superior. A pesquisa de PAUL; BRANDT ⁷⁵, que avaliou diferentes regiões bucais de portadores de vários tipos de fissura, evidenciou pior saúde gengival para o grupo de fissura de lábio e palato, comparada a do grupo de fissura de palato isolada, sendo que nas fissuras uni e bilaterais (sem mencionar se completas ou incompletas) o segmento anterior apresentou pior condição gengival do que os posteriores.

Como visto, são poucos os estudos que avaliaram a higiene bucal e a saúde gengival de crianças portadoras de fissura, provavelmente porque crianças situadas nas faixas etárias mais baixas, portadoras de fissuras ou não, são consideradas de menor risco às alterações dos tecidos gengivais.

A literatura também relata que, em pacientes adultos jovens portadores de fissura de lábio e palato, os dentes adjacentes à fissura parecem ser de maior risco à gengivite, mas não à doença periodontal, quando comparados com dentes controles do lado não fissurado ¹⁰⁸.

A comparação de dados entre sítios fissurados e não fissurados em pacientes adultos portadores de fissura completa de lábio e palato uni ou bilateral indicou que as características anatômicas da fissura não foram os únicos fatores decisivos ao desenvolvimento de problemas periodontais, mas constatou a participação de fatores adicionais como próteses ou aparelhos ortodônticos utilizados por longo período de tempo ^{12, 13, 14, 79}.

A presença de sinais clínicos de doença periodontal nos dentes adjacentes à fissura manifestou-se através da presença de um tecido conjuntivo de inserção mais extenso, sugerindo perda de inserção e de menor altura da crista óssea alveolar, observada radiograficamente ^{12,13}. Todavia, as características clínicas do tecido periodontal não predisuseram os pacientes à maior destruição periodontal, induzida por infecção bacteriana, quando comparados com sítios que apresentam inserção fibrosa supra-alveolar com altura normal ¹³.

Dois estudos recentes realizados por um mesmo grupo de autores com pacientes adultos portadores de fissura de lábio e palato unilateral e bilateral confirmaram que estes indivíduos apresentavam higiene bucal mais precária e maior prevalência de gengivite quando comparados com portadores de fissura isolada de palato (grupo controle). Contradizendo os resultados de estudos anteriores relataram também maior predisposição à doença periodontal profunda no dente adjacente à fissura, o que não ocorreu com os pacientes com fissura isolada de palato, que exibiram condições periodontais similares às observadas na população em geral ^{27, 87}.

Estudos epidemiológicos, clínicos e histológicos indicam que existe uma relação entre a idade e a tendência ao desenvolvimento da gengivite, mostrando que, sob condições comparáveis de placa, a severidade da gengivite é mais intensa em adultos do que em crianças.

Alguns estudos clínicos aplicaram o mesmo modelo de gengivite experimental de LÖE; THEILADE; JENSEN ⁵¹, em crianças com idade pré-escolar e observaram somente sinais insignificantes de gengivite durante o período experimental, apesar do aumento progressivo da placa ^{53, 56, 68}, demonstrando que o risco de desenvolver formas severas de gengivite é baixo em pré-escolares saudáveis. Quando da avaliação da gengivite de ocorrência natural também se constatou que, para acúmulos de placa equivalentes, a gengivite é mais intensa em adultos que em crianças ^{58, 65}.

Segundo MATSSON ⁵⁷, as razões para as diferenças relacionadas à idade na suscetibilidade à gengivite ainda não são completamente conhecidas. As diferenças no sistema de defesa imune ou aquelas morfológicas ou qualitativas na composição da placa bacteriana, poderiam explicar a variação na propensão do tecido gengival reagir com inflamação nas diferentes idades. Acrescenta-se ainda a maturação psicológica e o desenvolvimento da habilidade motora durante o crescimento da criança, fatores estes que têm um grande impacto na sua motivação e habilidade para o domínio de técnicas de higiene bucal.

Durante a infância, o sistema imune ainda está imaturo e conseqüentemente, a intensidade ou qualidade da resposta não é a mesma do adulto. Estudo imunohistológico identificou diferença qualitativa na resposta celular inflamatória relacionada à idade, constatando que a lesão de gengivite em crianças é dominada por linfócitos T e a lesão em adultos por linfócitos B ¹¹⁹.

Dentre as diferenças morfológicas citadas entre os tecidos gengivais dos dentes decíduos e permanentes, uma é a localização do infiltrado inflamatório que, na dentição permanente, localiza-se na porção coronária da gengiva livre, enquanto que na dentição decídua ocupa uma porção mais estreita ao longo do epitélio gengival. Outra é que, o epitélio juncional da gengiva do dente decíduo é mais espesso do que o do dente permanente, podendo apresentar uma permeabilidade reduzida às toxinas bacterianas ¹⁰, e uma terceira é a grande vascularização no tecido conjuntivo de crianças, que pode favorecer a resistência contra infecções bacterianas ⁵⁷.

Em relação à microbiota, são evidentes e significantes diferenças na presença e proporção de microrganismos na placa dentária de crianças,

adolescentes e adultos ^{21, 65, 66, 68, 74}, uma vez que sua composição depende de um complexo de princípios ecológicos (características do hospedeiro, dieta, adesão bacteriana, transmissibilidade bacteriana etc...) que mudam com o crescimento e amadurecimento do indivíduo ⁹⁹.

Existe também a sugestão que fatores genéticos e/ou ambientais, como a qualidade da água de abastecimento e o número de indivíduos infectados na comunidade, estresse psicológico e doenças infecciosas predisponham os indivíduos à colonização bucal por patógenos periodontais ¹¹².

Uma vez que a prevalência e a severidade da doença periodontal têm uma grande variação entre os indivíduos, um importante aspecto para sua prevenção é a identificação dos indivíduos de risco, sendo um dos indicadores de risco a presença subgingival de patógenos periodontais ¹¹².

Como a doença periodontal em crianças normalmente se restringe à gengivite, o estudo de sua microbiota, até bem pouco tempo, mereceu pouca atenção dos pesquisadores, preocupados mais em descobrir a constituição de sítios sadios e sítios periodontalmente doentes em adultos. À medida, porém, que algumas espécies foram sendo apontadas como periodontopáticas, surgiram outras indagações, como o momento de aquisição desses microrganismos e, indo além, as fontes de infecção e transmissão, cujas respostas dependem da análise dos indivíduos mais jovens ⁸².

A colonização bacteriana pode ocorrer facilmente num ecossistema bucal imaturo como o das crianças, pelo fato de não estarem totalmente desenvolvidos os processos reguladores. Por outro lado, a colonização não ocorre se não houver um ecossistema adequado para a aderência e

sobrevivência das bactérias que dependem das características ecológicas dos dentes ou tecidos periodontais ⁹⁹.

Este trabalho, dentro da linha de pesquisa que procura demonstrar o momento de aquisição dos periodontopatógenos potenciais em condições normais e em situações de risco, contribui para ampliar o conhecimento sobre as relações entre eles, o que é útil para a compreensão da biologia da placa subgengival e planejamento de estratégias para o seu controle.

Desde a observação inicial da microbiota subgengival por Leeuwenhoek em 1683, as investigações sobre esse ecossistema demonstram que as placas subgengivais são compreendidas por uma complexa mistura de espécies bacterianas, tendo-se estimado que 400 ou mais espécies residem nessa área. Mesmo que o exame pareça não demonstrar qualquer ordem nessa composição, avaliações culturais, imunológicas ou por sondas de DNA demonstram que certas espécies freqüentemente ocorrem juntas nas amostras. É o caso da *P.gingivalis* e o *B.forsythus*, a *P.gingivalis* e o *T.denticola* e a *P.intermedia* e o *Fusobacterium nucleatum*.

A ordenação da comunidade é um procedimento que tenta indicar espécies intimamente relacionadas dentro de uma comunidade e depois demonstrar a afinidade entre diferentes comunidades dentro do ecossistema de interesse. Em trabalho de SOCRANSKY et al. ¹⁰⁰, os autores tentaram fazer a ordenação de comunidades para examinar as relações entre espécies bacterianas em amostras de placa subgengival e relacionar os complexos à parâmetros clínicos de doença

periodontal. Ao conseguir estabelecer uma relação notável de um grupo de 3 bactérias (*B.forsythus*, *P.gingivalis* e *T.denticola*) com parâmetros clínicos, bem como a íntima associação daquele grupo com um segundo complexo formado por subspécies de *F.nucleatum/periodonticum*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens* e *Peptostreptococcus micros*, os autores sugerem que o conhecimento das associações entre as espécies subgengivais pode ser usado para guiar a terapia periodontal. O reconhecimento de que um complexo de espécies inter-relacionadas, como o formado pelas três bactérias, sugere que os tratamentos que afetem uma dessas espécies podem influenciar a colonização das outras espécies do grupo. Além disso, pode-se especular que ao se alterar o segundo grupo, poderia ser evitada a subsequente colonização das bactérias do primeiro grupo, o que dá ao profissional uma segunda escolha para o controle desses microrganismos.

Essa relação notável entre a *P.gingivalis* e o *T.denticola*, não foi detectada apenas por SOCRANSKY et al.¹⁰⁰. Parece que o *T.denticola* precisa da presença da *P.gingivalis*. Fortes associações entre ambos foram detectadas também por SIMONSON et al.⁹¹; SIMONSON et al.⁹²; PEDERSON et al.⁷⁶. Coincidentemente, ambas as bactérias não foram detectadas no presente trabalho.

Até a década de 70, bacilos negros, relatados como *B.melaninogenicus*, na faixa dos 3 aos 8 anos, ou não foram detectados⁴⁰, ou estiveram presentes, em porcentagens de até 40,0%^{3, 6, 70}, sendo que, em índios guatemaltecos, a prevalência foi semelhante a de outras idades⁷⁰.

Quando usadas técnicas que já propiciavam uma diferenciação das subspécies ou espécies desses microrganismos, ficou claro que a taxa de detecção das espécies pesquisadas não era a mesma.

Através da cultura microbiológica, a *Porphyromonas gingivalis* não foi vista em bebês^{24, 43, 48, 78}, nem na dentição decídua^{24, 43, 45, 65, 68 74, 78, 93, 126}, ou estava apenas minimamente presente²⁵, talvez em decorrência das condições do indivíduo, uma vez que SAWYER et al.⁸⁶ puderam observar a *P.melaninogenica* e a *P.gingivalis* em mais de 75% de crianças africanas subnutridas de 1 a 5 anos, mas em nenhuma criança normal.

De outro lado, há discrepância quanto à idade em que a bactéria é encontrada pela primeira vez no sulco gengival, com autores indicando a detecção a partir dos 9 anos⁷ ou do período circumpubertal⁷³, ou raramente aos 15 anos⁹³, enquanto outros não a detectaram nem aos 11¹¹³, nem aos 15 anos⁷⁸, ou mesmo na faixa adulta com periodonto normal^{59, 74}. ROBERT; MOUTON⁸¹, diferindo dos demais, encontraram a *P.gingivalis* em 14,6% das pessoas entre 6 e 15 anos por eles pesquisadas.

Quando outras técnicas foram usadas, porém, os resultados obtidos foram diferentes. A imunofluorescência indireta mostrou uma prevalência de 68,3% da *P.gingivalis*, contra 14,6% obtida pela cultura, em crianças de 6-15 anos⁸¹ e de 41% contra 2,4%, em crianças de 1-16 anos⁹³. Técnicas de biologia molecular revelaram porcentagens de detecção de 14% a 50%, em crianças cujas idades variavam de 1 a 14 anos, com a maior positividade sendo observada nos indivíduos com evidência de inflamação gengival^{1, 4, 41, 61}, sendo a bactéria encontrada até mesmo em criança com menos de 1 ano de idade⁶¹. Pela técnica

de ELISA a *P. gingivalis* foi observada em 80% crianças com idades entre 2 e 18 anos por WATSON et al.¹²¹. A não detecção da *P. gingivalis* no presente trabalho coincide com os dados da cultura^{24, 43, 45, 74, 78, 86, 126} e também com os de ROSA⁸², que utilizou a mesma técnica.

Se a não detecção nas crianças pesquisadas resultou da ausência do microrganismo ou da presença abaixo do limiar do SIB, só poderá ser respondido pelo uso de uma técnica mais sensível.

Os dados sorológicos mostram-se também contraditórios. Se, de um lado, MOUTON et al.⁷¹ confirmam os dados bacteriológicos, revelando que poucas crianças entre 6 meses e 6 anos apresentam anticorpos IgG para a *P. gingivalis*, em trabalho posterior o mesmo grupo⁹³, usando dois diferentes antígenos de uma cepa de referência desse microrganismo, desmentem esses resultados apontando presença de anticorpos IgG séricos em cerca de 100% das crianças entre 1 e 16 anos.

O emprego dos dois métodos (bacteriológico e imunológico) indica uma correlação positiva entre o número de células de *P. gingivalis* cultivadas de amostras subgengivais e os níveis de anticorpos séricos para o microrganismo⁷⁴. NAKAGAWA et al.⁷⁴, não encontraram aumento significativo de anticorpos anti-*P. gingivalis* em grupos periodontalmente saudáveis, de 3 a 28 anos de idade, dos quais não isolaram o microrganismo. A ausência da *P. gingivalis* nesses grupos foi consistente com a hipótese de que a colonização induz a resposta anticórpica no soro.

A distinção entre *P.intermedia* e *P.nigrescens*, proposta em 1992 ⁸⁹, dificulta a interpretação dos trabalhos (a maioria) que não a levaram em conta, pois a bactéria citada pelos autores como *P.intermedia*, tanto pode ser a mesma, como a *P.nigrescens*, daí a referência à *P.intermedia/nigrescens* nesta Discussão, sempre que houver essa possibilidade, para mostrar a ambigüidade das informações, reservando-se as designações *P.intermedia* e *P.nigrescens*, para os microrganismos realmente identificados como tais. Saliente-se a importância de novos estudos que discriminem as espécies nas amostras de placa subgengival para acentuar a relação de uma ou ambas espécies à patogênese da doença periodontal ³³.

A *Prevotella intermedia/nigrescens* é mais facilmente encontrada em crianças que a *P.gingivalis*, por qualquer método empregado ^{1, 41, 78}. Há relato de detecção já a partir do primeiro mês de vida ²⁴, e o seu isolamento de 7% dos bebês entre 1-7 meses de idade ⁴³, com a prevalência aumentando desde 10% dos edêntulos até 67% nos dentados ⁴⁵. Para KÖNÖNEN et al. ⁴⁸, trata-se de um colonizador tardio, entre as várias espécies anaeróbias que colonizam a cavidade bucal no primeiro ano de vida, muito embora haja autores que somente a isolaram em crianças a partir dos 3 anos de idade ⁷⁸.

Na dentição decídua, a taxa de isolamento da *P.intermedia/nigrescens* foi de 21% ²⁵. Técnicas de biologia molecular mostraram porcentagens de detecção na dentição decídua e mista de 18% ⁴. Ainda na dentição decídua, porcentagens maiores foram relatadas por outros autores, tanto na ausência como na presença de inflamação, 57% e 70% segundo KISBY et al. ⁴¹ e, 44% e 61,7% segundo ABRAHAM et al.¹, respectivamente. Este microrganismo é encontrado, portanto,

desde a infância, aumentando no período circumpubertal ⁷³, sendo o mais prevalente dos bacilos negros, aos 11 anos ¹¹³.

Os resultados de pesquisas que avaliaram uma ou ambas as espécies individualmente parecem apontar para a presença mais precoce da *P.nigrescens*. Nesta avaliação a *P. nigrescens* foi detectada em 16,67% e 11,11% das crianças dos grupos experimental e controle, respectivamente, com poucos sítios colonizados e escores de detecção variados (**TABELAS 11, 12 e 13**). ROSA ⁸², que investigou a *P.nigrescens* na faixa dos 3-6 anos de idade pelo SIB, detectou-a em 23,7% das crianças, observando, porém, correlação negativa com a idade.

MÄTTÖ et al. ⁵⁹, que procuraram tanto a *P.intermedia* como a *P.nigrescens*, em crianças entre 2-3 anos, detectaram somente a última em 4/6 crianças. Também CONRADS et al. ¹⁶, na pesquisa de ambas, só detectaram a *P.nigrescens*, desde em pré-escolares até adultos jovens com periodonto normal. Para autores que encontraram as duas bactérias, a *P.nigrescens* exibiu maior prevalência, sendo observada em 1/8 crianças na faixa de 0-4 anos de idade e em 5/6 crianças na faixa de 5-10 anos, contra a ocorrência de *P.intermedia* em 3/6 crianças na faixa de 5-10 anos, segundo VAN STEENBERGEN et al. ¹¹⁶, o mesmo ocorrendo com FUKUI et al. ²⁶, que detectaram a primeira em 5/6 crianças e a última em 3/6 crianças com idades entre 4 e 15 anos. Todos esses autores utilizaram técnicas de biologia molecular.

O encontro mais freqüente da *P.nigrescens* nos indivíduos mais jovens parece dar suporte aos autores que sugerem que a *P.intermedia* estaria mais provavelmente associada com a periodontite e a *P.nigrescens* com a gengiva sadia ^{19, 29, 31, 43, 54, 59, 65, 69, 105, 116}. Mesmo assim, é cedo para fazer-se maiores

ilações sobre a *P.nigrescens*, considerando que também já foi detectada em adultos com periodontite avançada ⁵⁹ e com gengivite ¹⁰⁵. Por enquanto, os dados ainda são controvertidos. Para TEANPAISAN; DOUGLAS; WALSH ¹⁰⁷, que encontraram as duas espécies em adultos periodontalmente sadios e também em portadores de periodontite do adulto, com frequência semelhante em sítios sadios e sítios ativos, as duas espécies são comensais comuns, que podem agir como patógenos oportunistas. Situação diferente daquela da *P.gingivalis*, não encontrada em adulto sadios, somente em sítios ativos, sendo apontada como patógeno potencial com o que concordam, em parte, MAEDA et al. ⁵⁴, que detectaram a *P.gingivalis* somente em sítios ativos; a *P.intermedia*, como o bacilo negro predominante em indivíduos periodontalmente sadios e sítios ativos, e a *P.nigrescens*, o bacilo negro predominante em indivíduos periodontalmente sadios.

NAKAGAWA et al.⁷³ verificaram que a *P.intermedia/nigrescens* correlaciona-se significativamente com o índice de placa e o índice gengival em todas as faixas etárias (infância, escolar, circumpubertal). ROSA ⁸² observou correlação positiva entre a *P.nigrescens* e o índice gengival, mas não com o índice de placa, na faixa de 3-6 anos. No presente trabalho, a pequena porcentagem de positividade não permitiu estabelecer qualquer correlação com os indicadores clínicos.

Alguns relatos indicam que a *P.intermedia/nigrescens* pode ser parte importante da microbiota associada à doença periodontal precoce. Em estudo de MISHKIN et al. ⁶³, o microrganismo constituiu 8% da microbiota cultivável de lesão de periodontite pré-puberdade, em criança de 7 anos. Em outras duas crianças

com 7 e 9 anos de idade e periodontite severa, a bactéria representou 12,5% e 6,0% da microbiota ¹²³. Também SWEENEY et al.¹⁰³ associaram-na significativamente com a periodontite pré-puberdade, sugerindo que possa ser patógeno importante em muitos casos desse quadro clínico. Essas observações indicam a necessidade de novas pesquisas que definam a (s) espécie (s) realmente envolvida (s): *P.intermedia*, *P.nigrescens* ou *P.pallens*.

Qual seria o significado do encontro da *P.nigrescens* nas crianças estudadas, caso se configure num indicador de risco para desenvolvimento da doença periodontal? A simples presença de patógenos não significa que um indivíduo desenvolverá a periodontite. Para iniciar ou causar a progressão da doença num sítio específico, num dado momento, o hospedeiro tem que ser suscetível, deve haver um número suficiente do patógeno virulento, o ambiente local deve levar à expressão dos fatores de virulência do mesmo e as espécies bacterianas coexistentes devem ser incapazes de inibir sua atividade ³³.

O último microrganismo pesquisado foi o *T.denticola*, um espiroqueta. A principal razão para o interesse nos espiroquetas na doença periodontal, vem da observação da sua presença aumentada nos sítios com maior profundidade de bolsa; na pequena ou nenhuma presença nos sítios saudáveis; e o número baixo a moderado nas áreas com gengivite mas sem perda de inserção, podendo tais microrganismos serem utilizados como possíveis indicadores diagnósticos de atividade da doença e/ou da eficácia terapêutica ³³.

Segundo BIMSTEIN et al.⁹, espiroquetas e formas móveis devem ser parte da microbiota indígena das crianças e estudos feitos na faixa etária de 3 a 7 anos, parecem confirmá-lo, com detecção de espiroquetas em 40% e 66,7% dos indivíduos, respectivamente por LOESCHE⁵² e ARAÚJO; MCDONALD³. Apesar disso, o encontro pode não ser universal. SAWYER et al.⁸⁶, encontraram esses microrganismos somente em crianças mal nutridas, na faixa de 1 a 5 anos, mas não naquelas com nutrição normal. Essas bactérias aumentam com a idade²³, havendo relatos de 50 a 66%, na faixa dos 6-12 anos^{52, 62}.

Desde a infância até circumpuberdade, os espiroquetas se correlacionam com o índice gengival^{72, 73, 113} e com o índice de placa⁷³.

Apesar da variada literatura sobre os espiroquetas, é difícil definir seu exato papel, pelas dificuldades técnicas no seu estudo. Os métodos de cultivo subestimam as variedades de espiroquetas da placa. De outro lado, mudanças na proporção de espécies bacterianas de morfologia semelhante não podem ser detectadas pela microscopia. Assim, um aumento na proporção de um periodontopatógeno suspeito, como o *T.denticola*, pode ocorrer e não ser observado, se esse aumento for contrabalançado pelo declínio de outras espécies de espiroquetas de tamanho semelhante⁸². Conforme ponderam HAFFAJEE; SOCRANSKY³³, na análise dessa literatura, embora possam existir patógenos entre os espiroquetas, seu papel pode ter sido obscurecido pelo agrupamento inadvertido do seu número com o de espiroquetas não patogênicos.

Neste trabalho, no qual foi estudado especificamente o *T.denticola*, microrganismo mais comumente presente em sítios periodontalmente doentes que nos sadios; mais em sítios com periodontite severa que nos sadios ou com

gingivite, diminuindo em sítios periodontais doentes tratados com sucesso, mas não se alterando ou aumentando em sítios que não respondem ao tratamento ³³, não foi possível detectá-lo em nenhuma criança, quer do grupo experimental, quer do grupo controle (**TABELAS 11 e 12**), conforme já observara ROSA ⁸². Também em investigações de gingivite experimental e de gingivite de ocorrência natural, feitas em crianças entre 4 e 6 anos de idade, MOORE et al. ⁶⁸ e MOORE et al. ⁶⁵ não encontraram o *T.denticola*, enquanto ASHIMOTO et al.⁴ detectaram-no em apenas 16% de 50 crianças entre 1 e 11 anos. Diferentemente desses relatos, porém, utilizando anticorpos monoclonais, BARRON et al.⁷ detectaram-no em 50 e 70%, respectivamente de crianças nas faixas de 2-4 anos e de 5-11 anos, inclusive levantando a hipótese de que talvez seja o primeiro treponema a colonizar a dentição decídua.

A não detecção da *P.gingivalis* e do *T.denticola* não significa, necessariamente, que não estejam presentes no sulco gengival da dentição decídua, mas sim, que talvez a sua quantidade esteja abaixo da sensibilidade do método utilizado. LOESCHE ⁵², por exemplo, apesar de ter observado treponemas em 40% das crianças de 3-5 anos por ele examinadas, refere que esses microrganismos correspondiam a < 0,5% da microbiota total, o que nos leva à questão sobre o limite de detecção da técnica utilizada e o seu significado: parece ser questionável o significado clínico da detecção de patógenos que representem uma proporção diminuta da microbiota bucal ⁸⁵.

As divergências entre os autores têm várias explicações. Além das influências técnicas, desde a forma de colheita até o processamento final das amostras, há que se pensar também, na probabilidade de diferentes modelos de colonização pelo mundo, resultantes dos hábitos de higiene e alimentação, costumes, genética etc.

Em relação ao método, o SIB tem vantagens significantes sobre outros métodos, como fornecer identificação rápida e específica das espécies microbianas, por técnica semi-quantitativa que processa grande número de amostras a um só tempo, com registro permanente e grande reproducibilidade. De outro lado, permite avaliar a massa da placa através da determinação do conteúdo grosseiro de carboidrato da mesma, um aspecto importante, visto que a maior dificuldade em examinar um grande número de amostras de placa consiste na incapacidade de determinar se a amostra é suficiente (ou se existe em todas), uma vez que a colheita é feita por um procedimento considerado não quantitativo. Embora a contagem microscópica possa ser a solução, é demorada e não é prática para o exame da massa ¹¹⁴.

GREENSTEIN; LAMSTER ³² ponderam, porém, que, por exemplo a maior prevalência de alguns microrganismos encontrada na população através dessas técnicas poderia ser atribuída a erros associados com a hibridização cruzada entre sondas de DNA, e resultados falso-positivos associados com as técnicas imunológicas. Mencione-se, porém, que os soros de coelho utilizados nesta pesquisa foram adsorvidos com várias bactérias bucais, demonstrando o cuidado para caracterizá-los criticamente, além de serem utilizados em diluições que afastam as reações cruzadas de menor afinidade.

Para HAFFAJEE; SOCRANSKY ³³, os avanços tecnológicos muitas vezes trazem resultados surpreendentes, que podem refletir aumento da sensibilidade das técnicas ou artefatos inexplicáveis, sendo que as discrepâncias só poderão ser resolvidas por estudos adicionais.

Sobre a aquisição de microrganismos bucais, a saliva pode agir como fonte de microrganismos anaeróbios Gram negativos, para a microbiota dos bebês edêntulos ⁴⁴ ou dentados ⁸³, uma vez que é um indicador de colonização bucal ⁸³. Foi observado que a presença de periodontopatógenos (*P.gingivalis*, *P.intermedia*/*P.nigrescens* e *A.actinomycescomitans*) em crianças sempre esteve associada à sua presença em pelo menos um dos pais ⁷⁸, apontando-os como possível fonte dos microrganismos. Membros de uma mesma família (pai, mãe e filho), mas não de famílias diferentes, compartilham cepa(s) do mesmo tipo de *P.nigrescens* e *P.intermedia* ^{26, 115, 116}. Outros dados parecem corroborar essa possibilidade: filhos de pais colonizados com *T.denticola* e *P.gingivalis* exibem probabilidade 9,8 vezes maior de também serem colonizados por eles ¹²⁰. O aumento do risco de colonização nas crianças, em função da presença de membros da família colonizados pela *P.gingivalis*, também foi observado por TUIE-MCDONNELL et al. ¹¹⁰.

A transmissão não parece ser tão fácil, mas pode ser favorecida pela presença de doença periodontal nos pais: filhos de pais com evidência clínica de periodontite apresentam probabilidade 12 vezes maior de serem colonizados por *T.denticola* e *P.gingivalis* ¹²⁰.

Pela similaridade genética observa-se que algumas bactérias são transmitidas mais freqüentemente que outras. A *P.gingivalis*, por exemplo, menos freqüentemente que a *P.intermedia/nigrescens*. Para VAN STEENBERGEN et al.¹¹⁶, a observação da transmissão da *P.nigrescens* e *P.intermedia* dentro de famílias, tanto entre adultos como entre adultos e crianças, pode ser explicada pela hipótese de que essas espécies são bactérias bucais comensais, que podem colonizar as superfícies bucais com relativa facilidade. Crianças em idade pré-puberdade raramente apresentam *P.gingivalis* cultivável, mesmo se seus pais abrigarem-na^{5, 15}.

É evidente que a simples presença de uma ou mais espécies patogênicas em um indivíduo seja insuficiente para produzir significativa deterioração no seu estado periodontal. Essa observação pode ser explicada pela multiplicidade de outros fatores que contribuem para os resultados clínicos, incluindo fatores do hospedeiro e ambientais, bem como interações bacterianas locais que podem modular a virulência de espécies de outro modo consideradas patogênicas⁴⁹.

Isto posto, no momento, o fato de ter sido confirmada a transferência de bactérias entre humanos não constitui evidência suficiente para se propor grandes programas comunitários para tentar limitar a transmissão de bactérias que podem ou não ser patogênicas num indivíduo particular. Todavia, dentro de famílias onde tenha sido identificado um indivíduo altamente suscetível à periodontite, pode ser prudente aumentar o monitoramento dos demais membros. No futuro, se existirem testes para diferenciar cepas virulentas de cepas não virulentas de

bactérias, distinguir microrganismos exógenos de endógenos, separar os indivíduos suscetíveis dos resistentes e esclarecer o número necessário do patógeno para induzir a doença, a capacidade do clínico para interferir na cadeia de infecção e reduzir o início da doença será enormemente melhorada ³².

A falta de diferença demonstrável entre as microbiotas das crianças não fissuradas e portadoras de fissuras sugere que a gengivite mais intensa nas últimas parece estar relacionada com higiene relativamente pobre, antes que com uma composição bacteriana diferente, merecendo, porém, maior investigação com outros periodontopatógenos conhecidos. Os únicos autores que avaliaram tanto clínica como microbiologicamente portadores de fissuras operados adultos, MOMBELLI; BRÄGGER; LANG ⁶⁴, dão suporte a essa afirmação.

Esses autores não só demonstraram que esses pacientes não submetidos a manutenção regular apresentam índices de placa e sangramento à sondagem significativamente maiores, como também não detectaram o *A.actinomycescomitans* e a *P. gingivalis* nos pacientes com ou sem supervisão, afirmando que, mais importante que os aspectos morfológicos locais para a perda periodontal (a área próxima e a distante à fenda têm a mesma suscetibilidade), são os cuidados de higiene, cuja ausência favorece maiores proporções de microrganismos e presença de espiroquetas, por exemplo ⁶⁴.

Provavelmente a observação vista nos quatro sítios, no presente trabalho, pode se estender para outras áreas, uma vez que a composição da microbiota de sítios com diferentes escores de índice gengival não difere significativamente.

Considerando as particularidades inerentes ao portador de fissura, que dificultam os procedimentos de higiene bucal na região afetada, os pais, responsáveis pela realização da limpeza bucal de seus filhos na infância, devem ser precocemente orientados e treinados para tal procedimento.

Todavia, ainda existem muitas limitações para que os pais sejam educados em relação a saúde bucal de seus filhos e para que haja uma prevenção efetiva das doenças bucais nas crianças portadoras de fissura.

Uma constatação a que se chega, através da vivência no atendimento de crianças portadoras de fissura de lábio e/ou palato no HRAC-USP, é a dificuldade em se provocar nos pais dos bebês, a motivação necessária para os cuidados nos procedimentos de limpeza bucal e para a alimentação adequada de seus filhos, apesar das orientações fornecidas, por estarem suas preocupações, nesta fase da vida, mais voltadas para os procedimentos cirúrgicos reparadores. Segundo DAHLLÖFF ²⁰, um outro fator que poderia interferir na aquisição precoce de hábitos inadequados em portadores de fissura seria a reação psicológica gerada pela malformação estética e funcional, que influenciaria os pais a terem uma atitude mais permissiva em relação à frequência e aos tipos de alimentos ingeridos nos intervalos das refeições.

De outro lado, apesar do grande número de profissionais bem treinados que exercem a Odontologia hoje em dia, ainda há um mito em relação ao tratamento de pacientes portadores de fissuras lábio-palatais, sendo que muitos recusam-se a atendê-los, por insegurança, principalmente em relação aos dentes da região da fissura.

Para obter-se a prevenção de doença periodontal nessas crianças é imprescindível, além do cuidado domiciliar, o acompanhamento regular por parte do Odontopediatra a fim de que possa avaliar a presença de fatores etiológicos, realizar limpeza dentária profissional regular e identificar a presença de outros fatores de risco, alertando aos pais, nesses casos, sobre a importância mais acentuada de controle da placa dentária.

O significado disso, diante da evolução do tratamento é inquestionável. Para os pacientes portadores de fissuras alveolares, os efeitos deletérios dos tratamentos ortodônticos prolongados, do uso de próteses removíveis e fixas bem como do longo período de reabilitação têm atualmente sido minimizados através da realização de uma cirurgia de enxerto ósseo na região da fissura, na fase da dentadura mista, que proporciona a restauração do processo alveolar e permite que os dentes adjacentes migrem ou sejam ortodonticamente movidos para a área do osso enxertado. Desta forma, reduz-se a necessidade da utilização de próteses para a reposição de dentes ausentes ou contenções ortodônticas para manter a estabilidade dos segmentos maxilares, permitindo o término do tratamento em idades mais precoces. Além disso, as fístulas buco-nasais são fechadas, os nichos mucosos são eliminados (facilitando a higiene bucal) e a saúde periodontal dos dentes adjacentes à fissura é melhorada a longo-prazo ⁸⁸.

O enxerto ósseo alveolar tem produzido resultados tão bons que tem sido afirmado que a condição periodontal pode ser normalizada após o enxerto e que raramente, observa-se gengivite na região da fissura; no entanto, segundo; JOHANSON et al. ³⁷ e WONG; KING ¹²⁵, a saúde gengival pré-operatória tem sido considerada o principal fator na determinação do sucesso da cirurgia.

7 Conclusões

7 - CONCLUSÕES

Os resultados obtidos a partir da avaliação clínica e análise das placas subgengivais de crianças, portadoras ou não de fissuras, com idades entre 5 e 6 anos, permitiram-nos concluir, respeitando os limites da técnica do “Slot Immunoblot”, que:

- as crianças portadoras de fissura apresentaram índices gengivais significativamente maiores que as crianças sem fissura, mesmo sem apresentar índices de placa significativamente diferentes;
- não se observou diferença estatisticamente significativa na severidade do IP e do IG entre os dois grupos;
- nas crianças portadoras de fissura a comparação das variáveis clínicas entre os sítios normais (4 sítios) e áreas da fissura (2 sítios) revelou índice de placa significativamente maior na região da fissura, sem diferença, porém, no índice gengival;
- a prevalência de detecção da *P. nigrescens* foi de 16,67%, no grupo experimental e de 11,11%, no grupo controle, sem diferença estatisticamente significativa entre os grupos, enquanto a *P. gingivalis* e o *T. denticola* não foram detectados;
- a presença da fissura não contribuiu para maior frequência de aquisição dos periodontopatógenos pesquisados;

- a maior prevalência de inflamação gengival nas crianças portadoras de fissuras denotou a importância de um acompanhamento precoce e regular de sua saúde periodontal, para favorecer o prognóstico do tratamento reabilitador.

Anexos

**ANEXO A – Autorização dos pais para a participação dos filhos na pesquisa
(grupo experimental)**

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
HOSPITAL DE REABILITAÇÃO DE ANOMALIAS CRANIOFACIAIS**

AUTORIZAÇÃO

Após ter tomado ciência da pesquisa a ser realizada no Setor de Odontopediatria do Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais – USP, para verificar as condições bucais de crianças portadoras de fissura de lábio e palato já operadas com idades entre 5 e 6 anos, que consistirá de exame da placa sobre os dentes, do estado da gengiva e a colheita de amostras de placa da gengiva de seis dentes, sabendo que o seu objetivo é verificar se as crianças exibem bactérias que estão associadas à inflamação gengival, para o estabelecimento de programas preventivos, AUTORIZO a inclusão do(a) meu(minha) filho(a), tendo em vista a disposição de minha família em colaborar e por preencher o requisito básico da pesquisa, ou seja, que a criança não tenha tomado antibióticos nos últimos 3 meses.

Bauru,

(mãe de: _____)

**ANEXO B – Autorização dos pais para a participação dos filhos na pesquisa
(grupo controle)**

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE BAURU**

AUTORIZAÇÃO

Após ter tomado ciência da pesquisa a ser realizada por Professores da Faculdade de Odontologia de Bauru - USP, para verificar as condições bucais de crianças entre 5 e 6 anos, que consistirá do exame da placa sobre os dentes, do estado da gengiva e a colheita de amostras de placa de quatro dentes, sabendo que seu objetivo é verificar se as crianças exibem bactérias que estão associadas com a inflamação gengival, para estabelecer programas preventivos, AUTORIZO a inclusão do(a) meu (minha) filho(a), tendo em vista a disposição de minha família em colaborar e por preencher o requisito básico da pesquisa, ou seja, que a criança não tenha tomado antibiótico nos três últimos meses.

Bauru,

(mãe de: _____)

ANEXO C – Relatório de Aprovação pelo Comitê de Ética

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
HOSPITAL DE REABILITAÇÃO DE ANOMALIAS CRANIOFACIAIS
Rua Silvio Marchione, 3-20 - Caixa Postal, 620 - Telefone (014) 235-8000 - CEP 17043-900
BAURU - S.P. - Brasil

Of. N° 173/99-UEP-CEP

Bauru, 10 de setembro de 1999.

Prezada Senhora

Comunicamos que em reunião realizada no dia 08 de setembro de 1999, pelo Comitê de Ética em Pesquisa, o projeto de pesquisa abaixo relacionado, foi **aprovado**.

TÍTULO: Prevalência de microrganismos na placa sub gengival de dentição decídua de crianças portadoras de fissura completa de lábio e palato operadas

FINALIDADE: Doutorado

Atenciosamente

PROF. DR. ANTONIO GABRIEL ATTA
Presidente do Comitê de Ética em Pesquisa

Ilma. Sra.

Beatriz Costa

Odontopediatria do HRAC-USP

ANEXO D – Modelo de ficha para anotação do índice de placa e índice gengival

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
HOSPITAL DE REABILITAÇÃO DE ANOMALIAS CRANIOFACIAIS
SETOR DE ODONTOPEDIATRIA

Nome: _____ RG _____ Sexo: () M () F

Tipo de fissura: () TIUD () TIUE Data de nascimento: ____/____/____ Data do exame: ____/____/____

	55				F				f				65				75				85				TOTAL				FACES
	M	V	D	L		M	V	D	L		M	V	D	L		M	V	D	L		M	V	D	L		M	V	D	L
IG																													
IP																													

	IG	IP
Soma dos scores		
Nº de faces examinadas		
VALOR FINAL		

ANEXO E – Escores detectados para o carboidrato, *P. gingivalis*, *P. nigrescens* e *T. denticola* nas amostras de placa subgengivais de cada sítio amostrado (grupo experimental).

Amostra #	Sítios	Carboidrato	<i>P.gingivalis</i>	<i>P.nigrescens</i>	<i>T.denticola</i>
1	1	3	0	0	0
	2	1	0	0	0
	3	2	0	0	0
	4	3	0	0	0
	5	2	0	0	0
	6	3	0	0	0
2	1	3	0	0	0
	2	2	0	0	0
	3	1	0	0	0
	4	3	0	1	0
	5	3	0	0	0
	6	3	0	0	0
3	1	2	0	0	0
	2	3	0	0	0
	3	2	0	0	0
	4	2	0	0	0
	5	3	0	1	0
	6	3	0	0	0
4	1	3	0	0	0
	2	3	0	0	0
	3	3	0	0	0
	4	3	0	0	0
	5	3	0	0	0
	6	2	0	0	0
5	1	3	0	0	0
	2	3	0	0	0
	3	2	0	0	0
	4	3	0	0	0
	5	3	0	0	0
	6	1	0	0	0
6	1	1	0	0	0
	2	2	0	0	0
	3	2	0	0	0
	4	3	0	0	0
	5	3	0	0	0
	6	3	0	0	0
7	1	3	0	0	0
	2	3	0	0	0
	3	3	0	0	0
	4	3	0	0	0
	5	2	0	0	0
	6	3	0	0	0
8	1	3	0	1	0
	2	3	0	0	0
	3	3	0	0	0
	4	3	0	0	0
	5	3	0	0	0
	6	3	0	0	0

Amostra #	Sítios	Carboidrato	<i>P.gingivalis</i>	<i>P.nigrescens</i>	<i>T.denticola</i>
9	1	1	0	0	0
	2	1	0	0	0
	3	3	0	0	0
	4	3	0	0	0
	5	3	0	0	0
	6	2	0	0	0
10	1	3	0	0	0
	2	1	0	0	0
	3	2	0	0	0
	4	2	0	0	0
	5	2	0	0	0
	6	2	0	0	0
11	1	3	0	0	0
	2	1	0	0	0
	3	3	0	0	0
	4	1	0	0	0
	5	1	0	0	0
	6	2	0	0	0
12	1	2	0	0	0
	2	3	0	0	0
	3	2	0	1	0
	4	2	0	0	0
	5	3	0	1	0
	6	3	0	0	0
13	1	1	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	3	0	0	0
	4	0	0	0	0
	5	2	0	0	0
	6	2	0	0	0
14	1	2	0	0	0
	2	2	0	0	0
	3	3	0	0	0
	4	2	0	1	0
	5	3	0	0	0
	6	3	0	1	0
15	1	3	0	0	0
	2	3	0	0	0
	3	2	0	0	0
	4	3	0	0	0
	5	3	0	0	0
	6	3	0	0	0
16	1	1	0	0	0
	2	2	0	0	0
	3	2	0	0	0
	4	2	0	0	0
	5	1	0	0	0
	6	2	0	0	0

Amostra #	Sítios	Carboidrato	<i>P.gingivalis</i>	<i>P.nigrescens</i>	<i>T.denticola</i>
17	1	3	0	0	0
	2	3	0	0	0
	3	2	0	0	0
	4	3	0	0	0
	5	3	0	0	0
	6	3	0	0	0
18	1	1	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	0	0	0	0
	4	1	0	0	0
	5	2	0	0	0
	6	2	0	0	0
19	1	2	0	0	0
	2	1	0	0	0
	3	2	0	0	0
	4	2	0	0	0
	5	2	0	0	0
	6	2	0	0	0
20	1	3	0	0	0
	2	2	0	0	0
	3	3	0	0	0
	4	3	0	0	0
	5	3	0	0	0
	6	3	0	0	0
21	1	3	0	0	0
	2	2	0	0	0
	3	1	0	0	0
	4	2	0	0	0
	5	3	0	0	0
	6	3	0	0	0
22	1	2	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	3	0	0	0
	4	3	0	0	0
	5	2	0	0	0
	6	3	0	0	0
23	1	3	0	0	0
	2	2	0	0	0
	3	2	0	0	0
	4	3	0	0	0
	5	2	0	0	0
	6	3	0	0	0
24	1	3	0	0	0
	2	3	0	0	0
	3	3	0	0	0
	4	3	0	0	0
	5	3	0	0	0
	6	3	0	0	0

Amostra #	Sítios	Carboidrato	<i>P.gingivalis</i>	<i>P.nigrescens</i>	<i>T.denticola</i>
25	1	2	0	0	0
	2	0	0	0	0
	3	1	0	0	0
	4	2	0	0	0
	5	2	0	0	0
	6	2	0	0	0
26	1	1	0	0	0
	2	2	0	0	0
	3	1	0	0	0
	4	2	0	0	0
	5	1	0	0	0
	6	2	0	0	0
27	1	2	0	0	0
	2	1	0	0	0
	3	1	0	0	0
	4	0	0	0	0
	5	1	0	0	0
	6	1	0	0	0
28	1	2	0	0	0
	2	3	0	0	0
	3	1	0	0	0
	4	3	0	0	0
	5	2	0	0	0
	6	2	0	0	0
29	1	2	0	0	0
	2	1	0	0	0
	3	1	0	0	0
	4	2	0	0	0
	5	3	0	0	0
	6	3	0	0	0
30	1	0	0	0	0
	2	1	0	0	0
	3	2	0	0	0
	4	1	0	0	0
	5	2	0	0	0
	6	3	0	0	0

ANEXO F – Escores detectados para o carboidrato, *P. gingivalis*, *P. nigrescens* e *T. denticola* nas amostras de placa subgengivais de cada sítio amostrado (grupo controle).

Amostra #	Sítios	Carboidrato	<i>P.gingivalis</i>	<i>P.nigrescens</i>	<i>T.denticola</i>
1	1	3	0	0	0
	2	3	0	0	0
	3	3	0	0	0
	4	3	0	0	0
2	1	3	0	0	0
	2	2	0	0	0
	3	2	0	0	0
	4	3	0	0	0
3	1	2	0	0	0
	2	2	0	0	0
	3	3	0	0	0
	4	3	0	0	0
4	1	2	0	0	0
	2	3	0	0	0
	3	2	0	0	0
	4	3	0	0	0
5	1	3	0	0	0
	2	3	0	0	0
	3	3	0	0	0
	4	2	0	0	0
6	1	2	0	0	0
	2	1	0	0	0
	3	3	0	0	0
	4	3	0	0	0
7	1	3	0	0	0
	2	3	0	0	0
	3	3	0	0	0
	4	3	0	0	0
8	1	2	0	0	0
	2	3	0	2	0
	3	3	0	1	0
	4	3	0	0	0
9	1	2	0	0	0
	2	3	0	0	0
	3	0	0	0	0
	4	1	0	0	0

Amostra #	Sítios	Carboidrato	<i>P.gingivalis</i>	<i>P.nigrescens</i>	<i>T.denticola</i>
10	1	3	0	0	0
	2	3	0	0	0
	3	3	0	0	0
	4	3	0	0	0
11	1	3	0	0	0
	2	3	0	0	0
	3	3	0	1	0
	4	3	0	0	0
12	1	3	0	0	0
	2	3	0	0	0
	3	3	0	0	0
	4	3	0	0	0
13	1	2	0	0	0
	2	2	0	0	0
	3	3	0	0	0
	4	3	0	0	0
14	1	2	0	0	0
	2	3	0	1	0
	3	2	0	0	0
	4	3	0	0	0
15	1	3	0	0	0
	2	3	0	0	0
	3	2	0	0	0
	4	3	0	0	0
16	1	3	0	0	0
	2	2	0	0	0
	3	1	0	0	0
	4	2	0	0	0
17	1	2	0	0	0
	2	3	0	0	0
	3	2	0	0	0
	4	3	0	0	0
18	1	2	0	0	0
	2	3	0	0	0
	3	3	0	0	0
	4	3	0	0	0

Amostra #	Sítios	Carboidrato	<i>P.gingivalis</i>	<i>P.nigrescens</i>	<i>T.denticola</i>
19	1	1	0	0	0
	2	2	0	0	0
	3	2	0	0	0
	4	3	0	0	0
20	1	2	0	0	0
	2	2	0	0	0
	3	3	0	0	0
	4	3	0	0	0
21	1	2	0	0	0
	2	2	0	0	0
	3	1	0	0	0
	4	3	0	0	0
22	1	3	0	0	0
	2	3	0	0	0
	3	3	0	0	0
	4	3	0	0	0
23	1	3	0	0	0
	2	3	0	0	0
	3	2	0	0	0
	4	3	0	0	0
24	1	2	0	0	0
	2	2	0	0	0
	3	3	0	0	0
	4	3	0	0	0
25	1	3	0	0	0
	2	2	0	0	0
	3	1	0	0	0
	4	1	0	0	0
26	1	3	0	0	0
	2	3	0	0	0
	3	2	0	0	0
	4	3	0	0	0
27	1	2	0	0	0
	2	3	0	0	0
	3	3	0	0	0
	4	3	0	0	0

Referências Bibliográficas

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS*

- 01** - ABRAHAM, J. et al. Assessing periodontal pathogens in children with varying levels of oral hygiene. **J.dent.Child.**, v.57, n.3, p.189-93, May/June 1990.
- 02** - ABYHOLM, F.E. Cleft lip and palate in Norway. I-Registration; incidence, and early mortality of infants with cleft lip and palate. **Scand. J. Plast. Reconstr. Surg.**, v.12, n.1, p. 29-34, 1978.
- 03** - ARAUJO, W.C.; MACDONALD, J.B. The gingival crevice microbiota in five preschool children. **Arch. oral Biol.**, v.9, n.2, p.227-8, Mar./Apr. 1964.
- 04** - ASHIMOTO, A. et al. Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. **Oral Microbiol. Immunol.**, v.11, n.4, p.266-73, Aug. 1996.
- 05** - ASIKAINEN, S.; CHEN, C.; SLOTS, J. Likelihood of transmitting *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in families with periodontitis. **Oral Microbiol. Immunol.**, v.11, n.6, p.387-94, Dec. 1996.

* Normas recomendadas para uso no âmbito da Universidade de São Paulo, com base no documento: "Referências Bibliográficas: exemplos", emanado do Conselho Supervisor do Sistema Integrado de Bibliotecas da USP, em reunião de 20 de setembro de 1990.

- 06** - BAILIT, H.L.; BALDWIN, D.C.; HUNT JR., E.E. The increasing prevalence of gingival *Bacteroides melaninogenicus* with age in children. **Arch. oral Biol.**, v.9, n.4, p.435-8, July/Aug. 1964.
- 07** - BARRON, S.L. et al. Use of monoclonal antibodies to enumerate spirochetes and identify *Treponema denticola* in dental plaque of children, adolescents and young adults. **Oral Microbiol. Immunol.**, v.6, n.2, p.97-101, Apr. 1991.
- 08** - BERGLAND, O.; SHIDU, S. Oclusal changes from the deciduous to the early mixed dentition in unilateral complete clefts. **Cleft Palate J.**, v. 11, p. 317-26, July 1974.
- 09** - BIMSTEIN, E. et al. The composition of subgingival microflora in two groups of children with and without primary dentition alveolar bone loss. **Pediat. Dent.**, v.18, n.1, p.42-7, Jan./Feb. 1996.
- 10** - BIMSTEIN, E.; MATSSON, L. Growth and development considerations in the diagnosis of gingivitis and periodontitis in children. **Pediat. Dent.**, v.21, n.3, p.186-91, May/June 1999.

- 11 - BOKHOUT, B. et al. Incidence of dental caries in the primary dentition in children with a cleft lip and/or palate. **Caries Res.**, v.31, n.1, p. 8-12, Jan./Feb. 1997.
- 12 - BRÄGGER, U. et al. Periodontal conditions in adolescents with cleft lip, alveolus and palate following treatment in a co-ordinated team approach. **J. clin. Periodont.**, v.12, n.6, p.494-502, July 1985.
- 13 - BRÄGGER, U. et al. The significance of alveolar bone in periodontal disease: a long term observation in patients with cleft lip, alveolus and palate. **J. clin. Periodont.**, v.17, n.6, p.379-84, July 1990.
- 14 - BRÄGGER, U. et al. Periodontal conditions in adult patients with cleft lip, alveolus and palate. **Cleft Palate-Craniof. J.**, v.29, n.2, p.179-85, Mar. 1992.
- 15 - BRETZ, W. et al. Concordância familiar de indicadores microbianos em amostras de placa subgengival. In : REUNIÃO CIENTÍFICA DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISA ODONTOLÓGICA, 10., Águas de São Pedro, 1993. **Anais.** Bauru, SBPqO, 1993.
- 16 - CONRADS,G. et al. PCR reaction and dot-blot hybridization to monitor the distribution of oral pathogens within plaque samples of periodontally healthy individuals. **J.Periodont.**, v.67, n.10, p.994-1003, Oct. 1996.

- 17 - CUNHA, A.C.P.; CHAMBRONE, L.A. Prevalência de gengivite em crianças. **Rev. Period.**, v.7, n.1, p.1-5, jan./abr. 1998.
- 18 - CUNHA, A.C.P.; CHAMBRONE, L.A. Prevalência de gengivite em crianças de um nível social baixo. **Rev. Period.**, v.7, n.1, p.6-10, jan./abr. 1998.
- 19 - DAHLEN, G. et al. Biochemical and serological characterization of *Bacteroides intermedius* strains isolated from the deep periodontal pocket. **J.clin.Microbiol.**, v.28, n.10, p.2269-74, Oct. 1990.
- 20 - DAHLLÖF, G. et al. Caries, gingivitis, and dental abnormalities in preschool children with cleft lip and/or palate. **Cleft Palate J.**, v. 26, n.3, p. 233-8, July 1989.
- 21 - DELANEY, J.E.; RATZAN, S.K.; KORNMAN, K.S. Subgingival microbiota associated with puberty: studies of pre -, circum - and postpubertal human females. **Pediat. Dent.**, v.8, n.4, p.268-75, Dec. 1986.
- 22 - DZINK, J.L.; SOCRANSKY, S.S.; HAFFAJEE, A.D. The predominant cultivable microbiota of active and inactive lesions of destructive periodontal diseases. **J. clin. Periodont.**, v.15, n.5, p.316-23, May 1988.

- 23 - FONSECA, L. Relação entre o teste BANA da placa subgengival e os níveis de inflamação gengival e presença de espiroquetas em crianças brasileiras.** Araraquara, 1990. 137p. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Araraquara, Universidade Paulista Júlio de Mesquita Filho.
- 24 - FRISKEN, K.W.; HIGGINS, T.; PALMER, J.M.** The incidence of periodontopathic microorganisms in young children. **Oral Microbiol. Immunol.**, v.5, n.1, p.43-5, Feb. 1990.
- 25 - FRISKEN, K.W. et al.** Suspected periodontopathic microorganisms and their oral habitats in young children. **Oral Microbiol. Immunol.**, v.2, n.2, p.60-4, June 1987.
- 26 - FUKUI, K. et al.** Incidence of *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens* carriage among family members with subclinical periodontal disease. **J. clin. Microbiol.**, v. 37, n.10, p.3141-5, Oct. 1999.
- 27 - GAGGL, A. et al.** Periodontal disease in patients with cleft palate and patients with unilateral and bilateral clefts of lip, palate and alveolus. **J.Periodont.**, v.70, n.2, p.171-8, Feb. 1999.
- 28 - GENCO, R.J.** Current view of risk factors for periodontal diseases. **J. Periodont.**, v.67, p. 1041-9, Oct. 1996. Suppl. 10.

- 29** - GHARBIA, S.E. et al. Characterization of *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens* isolates from periodontic and endodontic infections. **J.Periodont.**, v.65, n.1, p.56-61, Jan.1994.
- 30** - GMÜR; R.; GUGGENHEIM, B. Antigenic heterogeneity of *Bacteroides intermedius* as recognized by monoclonal antibodies. **Infect. Immun.**, v.42, n.2, p.459-70, Nov. 1983.
- 31** - GMÜR, R.; GUGGENHEIM,B. Interdental supragingival plaque - a natural habitat of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides forsythus*, *Campylobacter rectus* and *Prevotella nigrescens*. **J. dent. Res.**, v.73, n.8 p.1421-1428, Aug. 1994.
- 32** - GREENSTEIN,G.; LAMSTER,I. Bacterial transmission in periodontal diseases: a critical review. **J.Periodont.**, v.68, n.5, p.421-31, May 1997.
- 33** - HAFFAJEE, A.D.; SOCRANSKY, S.S. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. **Periodontol. 2000**, v.5, p.78-111, June 1994.
- 34** - HAFFAJEE, A.D. et al. Microbial risk indicators for periodontal attachment loss. **J. Periodont. Res.**, v.26, n.3, p.293-6, May 1991.

- 35 -** HUGOSON, A.; KOCH, G; RYLANDER, H. Prevalence and distribution of gingivitis-periodontitis in children and adolescents. **Swed. dent. J.**, v.5 n.3, p. 91-103, 1981.
- 36 -** JAHN, M.R.; JAHN, R.S. Fique atento: criança também tem gengivite. **Rev. Ass. paul. cirurg. Dent.**, v.51, n.4, p.355-8, jul./ago. 1997.
- 37 -** JOHANSON, B. et al. A follow-up study of cleft lip and palate patients treated with orthodontics, secondary bone grafting and prosthetic rehabilitation. **Scand J. Plast. Reconstr. Surg.**, v.8, n.1-2, p. 121-35, 1974.
- 38 -** JOHNSON, J. L.; HOLDEMAN, L. V. *Bacteroides intermedius* comb.nov. and descriptions of *Bacteroides corporis* sp.nov. and *Bacteroides levii* sp.nov. **Int. J. Syst. Bacteriol.**, v.33, p.15-25, 1983.
- 39 -** JOUSIMIES-SOMER, H.R. Update on the taxonomy and the clinical and laboratory characteristics of pigmented anaerobic gram-negative rods. **Clin. Infect. Dis.**, v.20, p.S187-S91, June 1995. Suppl.2.
- 40 -** KELSTRUP, J. The incidence of *Bacteroides melaninogenicus* in human gingival sulci and its prevalence in the oral cavity at different ages. **Periodontics**, v.4, n.1, p.14-8, Jan./Feb. 1966.

- 41 - KISBY, L.E. et al. DNA probe detection of key periodontal pathogens in juveniles. **J.Pedod.**, v.13, n.3, p.222-30, Spring 1989.
- 42 - KÖNÖNEN, E. Pigmented *Prevotella* species in the periodontally healthy oral cavity. **FEMS Immunol. Med. Microbiol.**, v.6, n.2-3, p.201-5, Mar. 1993.
- 43 - KÖNÖNEN, E.; ASIKAINEN, S.; JOUSIMIES-SOMER, H. The early colonization of Gram-negative anaerobic bacteria in edentulous infants. **Oral Microbiol. Immunol.**, v.7, n.1, p.28-31, Feb. 1992.
- 44 - KÖNÖNEN, E.; JOUSIMIES-SOMER, H.; ASIKAINEN, S. Relationship between oral Gram-negative anaerobic bacteria in saliva of the mother and the colonization of her edentulous infant. **Oral Microbiol. Immunol.**, v.7, n.5, p.273-6, Oct. 1992.
- 45 - KÖNÖNEN, E. et al. The oral Gram-negative anaerobic microflora in young children : longitudinal changes from edentulous to dentate mouth. **Oral Microbiol. Immunol.**, v.9, n.3, p.136-41, June 1994.
- 46 - KÖNÖNEN, E. et al. Biochemical and genetic characterization of a *Prevotella intermedia/nigrescens*-like organism. **Int.J.Syst.Bacteriol.**, v.48, Pt.1, p.39-46, Jan. 1998.

- 47** - KÖNÖNEN, E. et al. Phylogenetic characterization and proposal of a new pigmented species to the genus *Prevotella*: *Prevotella pallens* sp. nov. **Int.J.Syst.Bacteriol.**, v.48, Pt.1, p.47-51, Jan.1998.
- 48** – KÖNÖNEN, E. et al. Establishment of oral anaerobes during the first year of life. **J. dent. Res.**, v.78, n.10, p.1634-9, Oct. 1999.
- 49** - LISTGARTEN, M.A. The structure of dental plaque. **Periodontol.** **2000**, v.5, p.52-65, June 1994.
- 50** - LÖE, H. The gingival index, the plaque index and the retention index systems. **J.Periodont.**, v.38, n.6, p.610-6, Nov./Dec. 1967. Supplement.
- 51** - LÖE, H.; THEILADE, E.; JENSEN, S.B. Experimental gingivitis in man. **J. Periodont.**, v.36, p.177-87, May/June 1965.
- 52** - LOESCHE, W.J. The role of spirochetes in periodontal disease. **Adv.dent.Res.**, v.2, n.2, p.275-83, Nov. 1988.
- 53** - MACKLER, S.B.; CRAWFORD, J.J. Plaque development and gingivitis in the primary dentition. **J.Periodont.**, v.44, n.1, p.18-24, Jan. 1973.

- 54 - MAEDA, N. et al. Incidence of *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens* in periodontal health and disease. **Microbiol. Immunol.**, v.42, n.9, p. 583-9, 1998.
- 55 - MARTINS, A.A.O.; VIGGIANO, R.D.; HALLA, D. Gengivite em crianças. Prevalência e severidade na faixa etária de 3 a 6 anos de idade, em ambos os sexos. **Rev. gaucha Odont.**, v.36, n.2, p.141-5, mar./abr. 1988.
- 56 - MATSSON, L. Development of gingivitis in pre-school children and young adults. **J.clin.Periodont.**, v.5, n.1, p.24-34, May 1978.
- 57 - MATSSON, L. Factors influencing the susceptibility to gingivitis during childhood - a review. **Int.J.Paed.Dent.**, v.3, n.3, p.119-27, Sept. 1993.
- 58 - MATSSON, L.; GOLDBERG, P. Gingival inflammatory reaction in children at different ages. **J.clin.Periodont.**, v.12, n.2, p.98-103, Jan./May 1985.
- 59 - MÄTTÖ, J. et al. Distribution and genetic analysis of oral *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens*. **Oral Microbiol.Immunol.**, v.11, n.2, p.96-102, Apr. 1996.
- 60 - MAZAHERI, M. et al. Changes in arch form and dimensions of cleft patients. **Am. J. Orthod.**, v. 60, n.1, p. 19-32, July 1971.

- 61 - McCLELLAN, D.L.; GRIFFEN, A.L.; LEYS, E.J. Age and prevalence of *Porphyromonas gingivalis* in children. **J. clin. Microbiol.**, v.34, n.8, p.2017-9, Aug. 1996.
- 62 - MIKX, F.H.M.; MATEE, M.I.; SCHAEKEN, M.J.M. The prevalence of spirochetes in the subgingival microbiota of Tanzanian and Dutch children. **J.clin.Periodont.**, v.13, n.4, p.289-93, Apr. 1986.
- 63 - MISHKIN, D.J. et al. Prepubertal periodontitis: a recently defined clinical entity. **Pediat.Dent.**, v.8, n.3, p.235-8, Sept.1986.
- 64 - MOMBELLI, A.; BRÄGGER, U.; LANG, N.P. Microbiota associated with residual clefts and neighboring teeth in patients with cleft lip, alveolus and palate. **Cleft Palate-Craniof. J.**, v.29, n.5, p.463-9, Sept. 1992.
- 65 - MOORE, L.V.H. et al. Bacteriology of human gingivitis. **J. dent. Res.**, v.66, n.5, p.989-95, May 1987.
- 66 - MOORE, W.E.C. et al. Bacteriology of experimental gingivitis in young adults human. **Infect. Immunol.**, v. 38, n.2, p. 651-67, Nov. 1982.
- 67 - MOORE, W.E.C. et al. Bacteriology of severe periodontitis in young adults human. **Infect. Immunol.**, v.38, n.3, p.1137-48, Dec. 1982.

- 68** – MOORE, W.E.C. et al. Bacteriology of experimental gingivitis in children. **Infect.Immunol.**, v.46, n.1, p.1-6, Oct. 1984.
- 69** - MOORE, W.E.C. et al. The microflora of periodontal sites showing active destructive progression. **J.clin.Periodont.**, v.18, n.10, p.729-39, Nov. 1991.
- 70** - MORHART, R.E. et al. A microbiological and biochemical study of gingival crevice debris obtained from Guatemalan Mayan Indians. **J. Periodont.**, v. 41, n. 11, p. 644-9, Nov. 1970.
- 71** - MOUTON, C. et al. Serum antibodies to oral *Bacteroides assacharolyticus* (*Bacteroides gingivalis*): relationship to age and periodontal disease. **Infect. Immunol.**, v.31, n.1, p.182-92, Jan. 1981
- 72** - MUKHERJEE, M. et al. Darkfield microscopy of subgingival plaque in children. **J.dent.Res.**, v.64, p.200, 1985. Special issue/Abstract n. 227/
- 73** - NAKAGAWA, S. et al. Subgingival microflora in children of early childhood, school age and circumpuberty. The proportion and frequency of Gram-negative bacteria in periodontally healthy and gingivitis groups. **Shoni Shikagaku Zasshi.**, v.29, n.1, p.72-85, 1991.

- 74 - NAKAGAWA, S. et al. Infection by *Porphyromonas gingivalis* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, and antibody responses at different ages in humans. **J.Periodont.Res.**, v.29, n.1, p.9-16, Jan. 1994.
- 75 - PAUL, T.; BRANDT, R. S. Oral and dental health status of children with cleft lip and/or palate. **Cleft Palate-Craniof. J.**, v. 35 n. 4, p. 329-32, July 1998.
- 76 - PEDERSON, E.D. et al. Trypsin-like activity levels of *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis* in adults with periodontitis. **J.clin.Periodont.**, v.21, n.8, p.519-25, Sept. 1994.
- 77 - PERETZ, B.; MACHTEI, E.M.; BIMSTEIN, E. Changes in periodontal status of children and young adolescents: a one year longitudinal study. **J. clin. Pediat. Dent.**, v.18, n.3, p.3-6, Spring 1996.
- 78 - PETIT, M.D. et al. Prevalence of periodontitis and suspected periodontal pathogens in families of adult periodontitis. **J.clin.Periodont.**, v.21, n.2, p.76-85, Feb. 1994.
- 79 - RAMSTAD, T. Periodontal condition in adult patients with unilateral complete cleft lip and palate. **Cleft Palate J.**, v. 26, n.1, p.14-20, Jan. 1989.

- 80 - RANTA, R.** A review of tooth formation in children with cleft lip/palate. **Am. J. Orthod.**, v.90, n.1, p.11-8, July 1986.
- 81 - ROBERT, J.C.; MOUTON, C.** *Bacteroides gingivalis* and other black-pigmented *Bacteroides* in children. **J.dent.Res.**, v.68, p.987, 1989. Special issue /Abstract n.961/.
- 82 - ROSA, O.P.S.** **Prevalência de microrganismos na placa subgengival de dentição decídua.** Bauru, 1995. 152p. Tese (Livre-Docência) - Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo.
- 83 - ROSA, O.P.S. et al.** Periodontopatógenos na saliva e placa subgengival em um grupo de mães. REUNIÃO CIENTÍFICA DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE PESQUISA ODONTOLÓGICA, 16., Águas de São Pedro, 1999. **Anais.** São Paulo, SBPqO, 1999.
- 84 - ROSS, R.B.** The management of dental arch deformity in cleft lip and palate. **Clin. Plast. Surg.**, v.2, n.2, p. 325-42, Apr. 1975.
- 85 - SAVITT, E.D. et al.** Comparison of cultural methods and DNA probe analysis for the detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides intermedius* in subgingival plaque samples. **J.Periodont.**, v.59, n.7, p.431-8, July 1988.

- 86** - SAWYER, D.R. et al. Comparison of oral microflora between well-nourished and malnourished Nigerian children. **J.dent.Child.**, v.53, n.6, p.439-43, Nov./Dec. 1986.
- 87** - SCHULTES, G.; GAGGL, A.; KÄRCHER, H. Comparison of periodontal disease in patients with clefts of palate and patients with unilateral clefts of lip, palate and alveolus. **Cleft Palate-Craniof. J.**, v.36, n.4, p.322-7, July 1999.
- 88** - SEMB, G.; RAMSTAD, T. The influence of alveolar bone grafting on the orthodontic and prosthodontic treatment of patients with cleft lip and palate. **Dent. Update**, v.26, n.2, p.60-4, Mar. 1999.
- 89** - SHAH, H.N.; GHARBIA, S.E. Biochemical and chemical studies on strains designated *Prevotella intermedia* and proposal of a new pigmented species, *Prevotella nigrescens* sp. nov. **Int.J.Syst.Bacteriol.**, v.42, n.4, p.542-6, Oct. 1992.
- 90** - SHAH, C.P.; WONG, D. Management of children with cleft lip and palate. **Can. Med. Assoc. J.**, v. 122, n.1, p.19-24, Jan. 1980.
- 91** - SIMONSON, L.G. et al. Bacterial synergy of *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis* in a multinational population. **Oral Microbiol. Immunol.**, v.7, n.2, p.111-2, Apr. 1992.

- 92** - SIMONSON, L.G. et al. *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis* as prognostic markers following periodontal treatment. **J.Periodont.**, v.63, n.4, p.270-3, Apr.1992.
- 93** - SIXOU, J.L.; BONNAURE-MALLET, M.; MOUTON, C. Serum antibodies to *Porphyromonas gingivalis* in children. **J. Periodont.**, v.66, n.5, p.369-76 , May 1995.
- 94** - SLOTS, J. Importance of black-pigmented *Bacteroides* in human periodontal disease. In: GENCO,R.; MERGENHAGEN, S.E., eds. **Host-parasite interactions in periodontal diseases**. Washington, American Society for Microbiology, 1982. p.62-75.
- 95** - SLOTS, J.; GENCO, R. Black-pigmented *Bacteroides* species, *Capnocytophaga* species and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease: virulence factors in colonization, survival, and tissue destruction. **J. dent. Res.**, v.63, n.3, p.412-21, Mar. 1984.
- 96** - SLOTS, J.; RAMS, T.E. Microbiology of periodontal disease. In : SLOTS, J.; TAUBMAN, M.A. eds. **Contemporary oral microbiology and immunology**. St. Louis, Mosby, 1992. p.425-42.

- 97 -** SOCRANSKY, S.S. Criteria for the infectious agents in dental caries and periodontal disease. **J.clin.Periodont.**, v.6, n.7, p.15-21, Dec.1979.
- 98 -** SOCRANSKY, S.S.; HAFFAJEE, A.D. The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. **J.Periodont.**, v.63, p.322-31, Apr. 1992. Suppl. 4.
- 99 -** SOCRANSKY, S.S.; MANGANIELLO, S.D. The oral microbiota of man from birth to senility. **J. Periodont.**, v.42, n.8, p.485-94, Aug. 1971.
- 100 -** SOCRANSKY, S.S. et al. Microbial complexes in subgingival plaque. **J. clin. Periodont.**, v.25, n.2 , p.134-44, Feb. 1998.
- 101 -** SPENCER, J.A.; BEIGHTON, D.; HIGGINS, T.J. Periodontal disease in five and six-year old children. **J. Periodont.**, v.54, n.1, p.19-22, Jan. 1983.
- 102 -** SPINA, V. et al. Classificação das fissuras lábio palatinas: sugestão de modificação. **Rev. Hosp. Clin. Fac. Med. S. Paulo**, v.27, p.5-6, 1972.
- 103 -** SWEENEY, E.A. et al. Prevalence and microbiology of localized prepubertal periodontitis. **Oral Microbiol.Immunol.**, v.2, n.2, p.65-70, June 1987.

- 104** - TANG, E.L.K.; SO L.Y.S. Prevalence and severity of malocclusion in children with cleft lip and/or palate in Hong Kong. **Cleft Palate-Craniof. J.**, v. 29, n.3, p.287-91, May 1992.
- 105** - TANNER A. et al. Clinical, microbiological and immunological profile of healthy, gingivitis and putative active periodontal subjects. **J. Periodont. Res.**, v.31, n.3, p.195-204, Apr. 1996.
- 106** - TANNER, A.C.R. et al. Diagnosis of periodontal disease using rapid identification of "activity related" Gram negative species. **J.Periodont.Res.**, v.22, n.3, p.207-8, May 1987.
- 107** - TEANPAISAN, R.; DOUGLAS, C.W.; WALSH, T.F. Characterisation of black-pigmented anaerobes isolated from diseased and healthy periodontal sites. **J. Periodont. Res.**, v.30, n.4, p.245-51, July 1995.
- 108** - TEJA, Z.; PERSSON, R.; OMNELL, M. L . Periodontal status of teeth adjacent to nongraft unilateral alveolar clefts. **Cleft Palate-Craniof. J.**, v.29, n.4, p.357-62, July 1992.
- 109** - TOLEDO, B.E.C. Contribuição para o estudo da prevalência de gengivite em escolares da cidade de Araraquara, brancos, nascidos no Brasil. **Rev. Fac. Farm. Odont. Araraq.**, v.1, n.1, p.39-65, jan./jun. 1967.

- 110** - TUIITE-MCDONNELL, M. et al. Concordance of *Porphyromonas gingivalis* colonization in families. **J. clin. Microbiol.**, v.35, n.2, p.455-61, Feb. 1997.
- 111** - TURNER, C. et al. Oral health status of russian children with unilateral cleft lip and palate. **Cleft Palate-Craniof. J.**, v.35, n.6, p.489-94, Nov. 1998.
- 112** - UMEDA, M. et al. Risk indicators for harboring periodontal pathogens. **J. Periodont.**, v.69, n.10, p. 1111-8 Oct. 1998.
- 113** - VAN OOSTEN, M.A.C. et al. Black-pigmented *Bacteroides* and spirochetes in the subgingival microbiota of prepubertal schoolchildren. **J.Periodont.Res.**, v.23, n.3, p.199-203, May 1988.
- 114** - VAN POPERIN, N.; LOPATIN, D.E. Slot immunoblot assay for detection and quantitation of periodontal disease-associated microorganisms in dental plaque. **J.clin.Microb.**, v.29, n.11, p.2554-8, Nov. 1991.
- 115** - VAN STEENBERGEN, T.J.M. et al. Distribution and transmission of *Prevotella intermedia* among family members. **J.dent.Res.**, v.74, p.587, June/July 1995. Special issue/Abstract n.1489/

- 116** - VAN STEENBERGEN, T.J.M. et al. Intra-familial transmission and distribution of *Prevotella intermedia* and *Prevotella nigrescens*. **J.Periodont.Res.**, v.32, n.4, p.345-50, May 1997.
- 117** - VAN WINKELHOFF, A.J. et al. Black-pigmented *Bacteroides* and motile organisms on oral mucosal surfaces in individuals with and without periodontal breakdown. **J.Periodont.Res.**, v.21, n.4, p.434-9, July 1986.
- 118** - VERTUAN, V.; TOLEDO, B.E.C.; MENDES, A.D.J. Condições de saúde bucal em diferentes classes sociais. Parte II: doença periodontal e higiene oral. Relações com o sexo, raça e idade. **Rev. Ass. paul. cirurg. Dent.**, v.31, n.2, p.120-4, mar./abr. 1977.
- 119** - WALSH, L.J. et al. The immunohistology of chronic gingivitis in children. **Pediat. Dent.**, v.9, n.1, p. 26-32, Mar. 1987.
- 120** - WATSON, M.R.; BRETZ, W.A.; LOESCHE, W.J. Presence of *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis* in children correlated with periodontal disease of their parents. **J.dent.Res.**, v.73, n.10, p.1636-40, Oct. 1994.
- 121** - WATSON, M.R. et al. Detection of two anaerobic periodontopathogens in children by means of the BANA and ELISA assays. **J.dent.Res.**, v.70, n.7, p.1052-6, July 1991.

- 122** - WHITE, D.; MAYRAND, D. Association of oral *Bacteroides* with gingivitis and adult periodontitis. **J.Periodont.Res.**, v.16, n.3, p.259-65, May 1981.
- 123** - WILLIAMS, B.L. et al. Assessment of serum antibody patterns and analysis of subgingival microflora of members of a family with a high prevalence of early-onset periodontitis. **Infect.Immun.**, v.49, n.3, p.742-50, Sept.1985.
- 124** - WOJCICKI, C.J.; HARPER, D.S.; ROBINSON, P.J. Differences in periodontal disease-associated microorganisms of subgingival plaque in prepubertal, pubertal and postpubertal children. **J. Periodont.**, v.58, n.4, p.219-23, Apr. 1987.
- 125** - WONG, F. W. L.; KING, N. M. The oral health of children with clefts – a review. **Cleft Palate-Craniof. J.**, v.35, n.3, p.248-54, May 1998.
- 126** - ZAMBON, J.J.; REYNOLDS, H.S.; SLOTS, J. Black-pigmented *Bacteroides* spp. in the human oral cavity. **Infect.Immun.**, v.32, n.1, p.198-203, Apr. 1981.

Abstract

ABSTRACT

Clinical and microbiological evaluation of periodontal condition in 5 - 6 years old children with unilateral complete cleft lip and palate compared to normal controls.

Children with cleft lip and palate have difficulty in achieving optimal tooth cleaning, mainly in maxillary anterior segment, because the anatomy of the cleft area and the residual scar tissue after surgical procedures. The purpose of this study was to compare the clinical and microbiological conditions of cleft and noncleft children through the evaluation of oral hygiene and gingival status, and the detection of *P. gingivalis*, *P. nigrescens* and *T. denticola* in subgingival dental plaque, using the Slot Immunoblot technique. A total of 57 children, with primary dentition and 5-6 years old was evaluated, including 30 with unilateral cleft lip and palate (experimental group) and 27 children without clefts (control group). To evaluate clinically the children, the Plaque Index (PI) and the Gingival Index (GI) described by Löe (1967) were utilized. The mean PI in the experimental group was higher (1.82 ± 0.38) than that in control group (1.63 ± 0.38), but there was no statistically significant difference. On the other hand, the mean GI in the experimental group (1.05 ± 0.22) was found to be significantly higher than that of the control group (0.79 ± 0.33) ($p < .05$). In the experimental group the cleft area (2 sites), with mean PI of 2.04 ± 0.58 and mean GI of 1.11 ± 0.26 , when compared to the posterior area (4 sites), with mean PI of 1.74 ± 0.37 and mean GI of 1.04 ± 0.26 , showed statistically significant difference ($p < .05$) only as to the PI. In relation to the

severity, most of the children in both experimental and control groups presented a moderate PI degree (73.33% and 81.48%, respectively), and a high prevalence of mild gingivitis (53.33% and 70.37%, respectively). When the groups were compared as to the PI and GI severity degrees, no difference were observed, the same occurring with the comparison between areas in the experimental group. The analysis of the anaerobic Gram negative organisms showed that *P. nigrescens* was detected in 16.67% of the experimental group and 11.11% of the control group whereas *P. gingivalis* and *T. denticola* were not detected. Children with unilateral cleft lip and palate showed greater gingival inflammation than noncleft children, despite of the same plaque amount and the same percentage of the investigated microorganisms.