



A importância do controle da microbiota bucal e o uso de biomaterial em cirurgias de enxerto alveolar secundário nos pacientes com fissura labiopalatina

The importance of oral microbiota control and utilization of biomaterial in secondary alveolar bone graft surgeries in patients with cleft lip and palate

Marcos Roberto Tovani Palone*, Thaieny Ribeiro da Silva, Narciso Almeida Vieira, Gisele da Silva Dalben

Universidade de São Paulo, Bauru, Brasil.

Recebido em: 5/6/13 | Revisado em: 28/6/13 | Aceito em: 31/8/13 | Disponível on-line em: 20/5/14

RESUMO

A cavidade bucal é uma das portas de entrada ao nosso organismo. Pertencendo ao sistema digestório, também funciona como uma via de acesso às vias respiratórias. A fissura labiopalatina é uma anomalia que pode promover perda de continuidade nos tecidos labiais, alveolares e palatinos da maxila, necessitando de procedimentos cirúrgicos para reabilitação estética e funcional do paciente. Diante disso, o objetivo do presente estudo foi realizar um trabalho de atualização enfatizando a influência da microbiota bucal e o uso de rhBMP-2 em pacientes submetidos a cirurgia de enxerto alveolar secundário, visto que a cirurgia apresenta um período pós-operatório crítico e de grande importância para o sucesso do tratamento, o qual requer muitos cuidados tanto no que diz respeito à alimentação quanto à higienização bucal, esta com o propósito de diminuir os riscos de infecção no respectivo período. O cuidado com a higiene bucal destes pacientes é um fator importante no processo saúde/doença a partir de uma concepção holística, em prevenir não somente as alterações na cavidade bucal como evitar que esses micro-organismos residentes se tornem agentes complicadores do estado geral do paciente.

Palavras-chave: fissura labial; fissura palatina; enxerto.

ABSTRACT

The oral cavity is one of the entrance ways to the body, belonging to the digestive system, and also allows access to the respiratory pathways. Cleft lip and palate is an anomaly that may cause continuity of lip, alveolar and palatal tissues of the maxilla, requiring surgical procedures for the esthetic and functional rehabilitation of the patient. This study conducted a literature review emphasizing the influence of the oral microbiota and utilization of rhBMP-2 in patients submitted to secondary alveolar graft surgery. This surgery presents a critical postoperative recovery that is fundamental for the treatment success and requires much care both concerning feeding and oral hygiene, to reduce the risk of infection in this period. The care with oral hygiene of these patients is an important factor in the health/disease process based on a holistic approach, to prevent not only changes in the oral cavity and avoid that these microorganisms may complicate the overall status of the patient.

Key-words: cleft lip; cleft palate; graft.

*AUTOR CORRESPONDENTE

Endereço: Rua Silvio Marchione, 3-20 - Vila Universitária - CEP 17012-190 - Bauru - SP. Telefone: (14) 3235-8141 / Fax (14) 3234-7818.
E-mail: marcos_palone@hotmail.com

Introdução

A cavidade bucal é uma das portas de entrada ao nosso organismo. Pertencendo ao sistema digestório, também funciona como uma via de acesso às vias respiratórias. É considerada um ecossistema que provê condições favoráveis para vários micro-organismos; em condições de normalidade, os patógenos bucais são inativados ou mesmo eliminados pelas propriedades bacteriostáticas e bactericidas da saliva, sendo que cerca de 350 espécies constituem a microbiota bucal com uma média de 750 milhões de bactérias/ml na saliva e até 200 bilhões por grama na placa bacteriana (1).

Os micro-organismos colonizadores da cavidade bucal podem causar uma série de doenças infecciosas bucais, incluindo periodontites, cáries dentárias, acometimentos endodônticos, alveolite seca e amigdalite. Têm sido relatadas na literatura relações entre bactérias bucais e um número crescente de doenças sistêmicas (2), incluindo doença cardiovascular (3, 4, 5), acidente vascular cerebral (6), parto prematuro (7, 8), diabetes (9), pneumonia (10, 11), osteomielite em crianças (12) e endocardite bacteriana (13).

Os micro-organismos da microbiota da orofaringe são importantes fontes de infecções, especialmente em indivíduos cujas defesas das vias aéreas estão prejudicadas por deformações anatômicas, idade e debilidade imunológica, uso de álcool, drogas e tabaco.

O uso de antibióticos pode acarretar alterações na microbiota normal da orofaringe e intestinos. Após realização de terapia antimicrobiana pode ocorrer redução no número de micro-organismos residentes em condições de normalidade no trato gastrointestinal, permitindo o crescimento excessivo de espécies bacterianas já presentes e consequente colonização por micro-organismos potencialmente patogênicos. A administração de antibióticos também pode promover o desenvolvimento de resistência do micro-organismo com a possibilidade de disseminação destes no meio ambiente (14, 15). Foi demonstrado que a microbiota intestinal retorna ao normal em 30 dias após o término do tratamento com antimicrobianos (15).

Com o aparecimento de técnicas moleculares a capacidade de identificar a composição microbiana aumentou. O gene 16S *rRNA* é uma pequena subunidade do RNA ribossomal. Esta subunidade está presente em todas as células bacterianas e a sequência dos nucleotídeos pode ser utilizada para classificar as bactérias. Com base nestas informações, o uso de métodos moleculares passou a ser aplicado nos estudos de comunidades bacterianas complexas, incluindo as do trato gastrintestinal (16, 17, 18, 19).

Inúmeros estudos demonstram a ocorrência da colonização do corpo humano por micro-organismos no início da vida, estando a qualidade e estabilidade na dependência de vários fatores, os quais ainda não são totalmente conhecidos. O grau de contaminação ambiental no período neonatal possivelmente interfere na composição da microbiota, a repercussão deste fato ainda não está clara (19).

A fissura labiopalatina é uma anomalia que pode promover perda de continuidade nos tecidos labiais, alveolares e palatinos da maxila, necessitando de procedimentos cirúrgicos para reabilitação estética e funcional do paciente.

Neste grupo de pacientes, ocorre portanto o rompimento do

equilíbrio existente na microbiota bucal em virtude da descontinuidade do tecido, com migração patológica de bactérias entre as cavidades bucal e nasal ou superfícies que representem áreas de maior risco para a colonização bacteriana (20).

Revisão de literatura

As fissuras completas, ou seja, com comprometimento do rebordo alveolar, resultantes do defeito alveolar congênito foram preenchidas ao longo de muitos anos e rotineiramente como protocolo cirúrgico do HRAC-USP, com o uso de osso medular ou esponjoso, obtidos da crista ilíaca.

O tratamento profilático para crianças submetidas à cirurgia de enxerto alveolar secundário é a cefazolina, antibacteriano betalactâmico pertencente ao grupo das cefalosporinas de primeira geração. As cefalosporinas de primeira geração são ativas contra bactérias gram-positivas e gram-negativas, não tendo ação contra *Enterococcus sp*, *Pseudomonas sp*, *Listeria sp*, *Clamidia sp* e *Staphylococcus aureus* resistentes à oxacilina. Suas principais indicações clínicas são o tratamento de infecções estafilocócicas, infecções respiratórias provocadas por *Haemophilus influenzae* e a prevenção de infecções cirúrgicas (21).

A técnica de enxerto ósseo alveolar, para efeitos de classificação, é dita primária quando realizada junto das cirurgias plásticas primárias; secundária quando executada no final da dentição mista e antes da irrupção dos dentes caninos permanentes; e terciária quando é feita após a finalização do tratamento ortodôntico na dentição permanente (22).

No protocolo cirúrgico do HRAC-USP, o enxerto ósseo alveolar secundário era realizado, idealmente, no final da dentição mista e antes da irrupção dos dentes caninos permanentes, ou seja, entre 9 e 12 anos de idade (23, 24) em conformidade com o protocolo adotado pela equipe reabilitadora de Oslo (25, 26).

O enxerto ósseo alveolar secundário, quando realizado, utiliza mais comumente como área doadora o osso medular da crista ilíaca, principalmente por esta área apresentar uma abundância celular, além de propiciar uma rápida vascularização e dispor de grande volume ósseo (27, 28).

O enxerto ósseo alveolar secundário tem por objetivos estabilizar mecanicamente os segmentos maxilares, principalmente a pré-maxila nas fissuras bilaterais; facilitar a restauração estética final pela melhora na aparência do tecido mole por vestibular; fechar fístulas e eliminar recessões mucosas; criar uma estrutura alveolar na qual antes era a fissura, a fim de permitir a movimentação dos dentes, espontânea, ou mecanicamente induzida, eliminando em grande parte a necessidade do uso de próteses, bem como viabilizando a colocação de implante na área da fissura; além de contribuir na melhora da estética facial ao elevar a asa nasal do lado da fissura, em caso de assimetria (29).

O osso autógeno obtido da crista ilíaca como área doadora, considerado o padrão ouro entre os materiais utilizados para enxertia, apresenta inúmeras vantagens como a qualidade do osso formado, o custo reduzido, além de menores chances de riscos de contaminação cruzada e antigenicidade, acrescida de maior previsibilidade no reparo de defeitos mais amplos (30).

Diversos autores relatam que o enxerto obtido do osso ilíaco pode provocar, no indivíduo operado, um inaceitável estado de morbidade p s-operatória, o qual inclui dor persistente, hemorragia, tempo de recuperação prolongado, claudicação, cicatriz visível, deformidades no contorno ósseo, lesões no nervo cutâneo femoral, lateral, fratura pélvica e peritonite (31, 32, 33, 34, 35, 36).

Além da morbidade da área doadora, o enxerto obtido do osso ilíaco traz custos financeiros adicionais, em razão de exigir uma segunda equipe cirúrgica para acessar a crista ilíaca, acrescido de maior tempo de hospitalização (37).

De acordo com estudo realizado (38), observou-se uma diminuição considerável na qualidade de vida durante o período pós-operatório da retirada de osso da crista ilíaca para enxerto.

Com o intuito de eliminar a morbidade cirúrgica decorrente da cirurgia de enxerto ósseo alveolar secundário e a necessidade de outro profissional da área médica, dessa forma simplificando o tratamento, têm-se realizado no HRAC-USP a cirurgia de enxerto alveolar com rhBMP-2, apresentando índices de sucesso semelhantes aos de enxerto medular de crista ilíaca (39).

A molécula rhBMP-2, proteína morfogenética óssea recombinante humana, quando colocada em meio adequado induz formação óssea. O início do processo não se faz necessariamente pela introdução de células que formam osso. Ao contrário, a

rhBMP-2 age localmente para concentrar as células mesenquimais hospedeiras ali e influenciar sua diferenciação em células que formam osso. Ela tem atividade mitog nica, mas esta é seletiva (40). Para que se tenha um efeito que possa ser observado clinicamente, são necessárias doses superfisiol gicas, algo em torno de 200.000 vezes a concentração fisiológica estimada da BMP-2 natural, encontrada no osso (39).

Assim sendo, a técnica de enxerto alveolar secundário com rhBMP-2 apresenta vantagens claras em relação à cirurgia de enxerto ósseo alveolar secundário no que diz respeito   recuperação no período pós-operatório (41, 42) e a ausência do limitante físico da quantidade de osso presente na área doadora, como ocorre no enxerto realizado a partir do osso ilíaco, pois o volume ósseo necessário neste caso pode ser enxertado com o uso do rhBMP-2.

Apesar de a cirurgia de enxerto com rhBMP-2 ter outras vantagens adicionais, como a de eliminar a necessidade de área doadora e de uma segunda equipe cirúrgica, esta traz consigo um grande desafio em sua aplicação nos serviços públicos de saúde em razão de seu custo ser extremamente elevado. A empresa que fabrica o produto rhBMP-2 com MCA, comercialmente Infuse  Bone Graft, Medtronic Sofamor Danek USA, oferece o produto em forma de kit (figuras 1A e 1B), o qual é comercializado no Brasil por um valor aproximado de R\$ 10.000,00 reais.



Figura 1A - Frascos com proteína liofilizada e água destilada.



Figura 1B - Invólucro contendo membrana de colágeno.

Considerando que um kit é utilizado em sua totalidade para um paciente com fissura completa bilateral, e que o mesmo kit pode ser dividido para utilização em dois pacientes com fissura completa unilateral,   de grande valia, principalmente para o serviço público de saúde, o sucesso deste tratamento que está vinculado em grande parte aos cuidados pós-operatórios a ser realizado pelo paciente no que diz respeito   antisepsia e higienização bucal adequada durante o período referido.

A cirurgia de enxerto alveolar secundário com rhBMP-2 apresenta um período pós-operatório crítico e de grande importância para o sucesso do tratamento, o qual requer muitos cuidados tanto no que diz respeito   alimentação quanto   higienização bucal, esta com o propósito de diminuir os riscos de infecção no respectivo período. Durante este período, uma das maiores dificuldades advindas da cirurgia para a realização da higienização e antisepsia bucal é o edema p s-operatório, o qual se acentua do

terceiro para o quarto dia pós-operatório (39), que acrescido da extensão do retalho suturado causa em muitos pacientes receio de manipular a cavidade bucal, propiciando que a higiene bucal com o uso de técnica de escovação seja realizada muitas vezes de forma inadequada, sendo de grande valia a eficácia da a o do antisséptico nestes casos.

Com esse objetivo, agentes coadjuvantes como a clorexidina são utilizados durante esse período pós-operatório visando auxiliar na redução e/ou eliminação da placa dentária e gengivite (43, 44). A clorexidina possui propriedades antimicrobianas efetivas (45) e constitui um antisséptico com efeito tanto bacteriostático como bactericida, de amplo espectro sobre bactérias gram-positivas e negativas, fungos e vírus (46).

O efeito anticariogênico   outra propriedade da clorexidina (47). Estudos posteriores demonstraram ainda inibição da

formação de placa e redução ou mesmo eliminação das cepas de *Streptococcus mutans* sem, contudo, alterar o equilíbrio da microbiota bucal (44, 45).

Atualmente, a clorexidina é encontrada comercialmente na forma de colutórios, sprays, géis, vernizes (44, 48), chips e dentifrícios (48). A escovação dentária com a utilização de dentifrício é ainda a forma mais comum de higiene bucal. Para melhorar a eficácia da limpeza, agentes antimicrobianos vêm, portanto, sendo agregados aos dentifrícios (46).

Este antisséptico como um agente coadjuvante à escovação dentária mecânica realizada diariamente é capaz de reduzir significativamente o número de micro-organismos que podem ser detectados na saliva, e atua também sobre o tratamento mecânico global em pacientes com doença periodontal avançada, promovendo a redução da profundidade da bolsa, espiroquetas subgingivais, bastonetes móveis e níveis de *Porphyromonas gingivalis* na microbiota subgingival (49).

Os dentifrícios contendo clorexidina disponíveis no mercado constituem em uma forma simples e eficaz para que ocorra concomitantemente o processo mecânico da escovação e a administração do agente químico, promovendo assim redução da placa bacteriana, do índice gengival e sangramento (48). Conforme em um estudo randomizado com 20 crianças (46), demonstrou-se a eficácia do uso de dentifrício com clorexidina a 1%, após redução significativa do índice de placa bacteriana. Ao se avaliar o efeito de um dentifrício experimental com clorexidina, observou-se redução significativa no índice gengival, índice de placa e sangramento (45). No entanto quando utilizada por períodos prolongados, a clorexidina produz alguns efeitos secundários adversos, como manchamento dentário e lingual, sabor desagradável, sensação de queimação e perda do paladar (46).

Conclusões

O cuidado com a higiene bucal dos pacientes submetidos à cirurgia de enxerto alveolar secundário com rhBMP-2 durante o período pós-operatório é um fator importante no processo saúde/doença a partir de uma concepção holística em prevenir somente as alterações na cavidade bucal, como evitar que esses micro-organismos residentes se tornem agentes complicadores do estado geral do paciente. Além disso, a utilização de substância que não ofereça ação antisséptica desejada para a redução da microbiota local gera maior probabilidade de complicações infecciosas.

Referências

- (1) Jorge AOC. Microbiologia bucal. São Paulo; 1995.
- (2) Seymour GJ, Ford PJ, Cullinan MP, Leishman S, Yamazaki K. Relationship between periodontal infections and systemic disease. Clin Microbiol Infect. 2007;13:3-10.
- (3) Joshipura KJ, Rimm EB, Douglass CW, Trichopoulos D, Ascherio A, Willett WC. Poor oral health and coronary heart disease. J Dent Res. 1996;75:1631-1636.
- (4) Wu T, Trevisan M, Genco RJ, Dorn JP, Falkner KL, Sempos CT. Periodontal disease and risk of cerebrovascular disease: the

first national health and nutrition examination survey and its follow-up study. Arch Intern Med. 2000;160:2749-2755.

(5) Beck JD, Offenbacher S. Systemic effects of periodontitis: epidemiology of periodontal disease and cardiovascular disease. J Periodontol. 2005;76:2089-2100.

(6) Joshipura KJ, Hung HC, Rimm EB, Willett WC, Ascherio A. Periodontal disease, tooth loss, and incidence of ischemic stroke. Stroke. 2003;34:47-52.

(7) Offenbacher S, Jared HL, O'Reilly PG, Wells SR, Salvi GE, Lawrence HP, et al. Potential pathogenic mechanisms of periodontitis associated pregnancy complications. Ann Periodontol. 1998;3:233-250.

(8) Buduneli N, Baylas H, Buduneli E, Turkoglu O, Kose T, Dahlen G. Periodontal infections and pre-term low birth weight: a case-control study. J Clin Periodontol. 2005;32:174-181.

(9) Genco RJ, Grossi SG, Ho A, Nishimura F, Murayama Y. A proposed model linking inflammation to obesity, diabetes, and periodontal infections. J Periodontol. 2005;76:2075-2084.

(10) Scannapieco FA. Role of oral bacteria in respiratory infection. J Periodontol. 1999;70:793-802.

(11) Awano S, Ansai T, Takata Y, Soh I, Akifusa S, Hamasaki T, et al. Oral health and mortality risk from pneumonia in the elderly. J Dent Res. 2008;87:334-339.

(12) Dodman T, Robson J, Pincus D. Kingella kingae infections in children. J Paediatr Child Health. 2000;36:87-90.

(13) Barbari EF, Cockerill III FR, Steckelberg JM. Infective endocarditis due to unusual or fastidious microorganisms. Mayo Clin Proc. 1997;72:532-542.

(14) Salminen S, Isolauri E, Onnela T. Gut flora in normal and disordered states. Chemotherapy. 1995;41:5-15.

(15) Monreal MTFD, Pereira PCM, Lopes CAM. Intestinal microbiota of patients with bacterial infection of the respiratory tract treated with amoxicillin. Braz J Infect Dis. 2005;9:292-300.

(16) Mountzouris KC, McCartney AL, Gibson PR. Intestinal microflora of human infants and current trends for its nutritional modulation. Br J Nutr. 2002;87:405-420.

(17) Hayashi H, Sakamoto M, Benno Y. Phylogenetic analysis of the human gut microbiota using 16S rDNA clone libraries and strictly anaerobic culture methods. Microbiol Immunol. 2002;46:535-548.

(18) Park HK, Shim SS, Kim SY, Park JK, Park SE, Kim HJ, et al. Molecular analyses of colonized bacteria in a human newborn infant gut. J Microbiol. 2005;43:345-353.

(19) Brandt KG. Análise molecular da microbiota fecal de recém-nascidos saudáveis [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo; 2008.

(20) Antoszewska J, Kawala B, Minch L. Selected aspects of the oral environment in cleft palate patients: a problem evidently beyond dentists scope. Postepy Hig Med Dosw [internet]. 2010 [acesso em 27 dez. 2010]; 64:659-64.

- (21) Trabulsi LR, Mimica I, Mimica Lycia MJ. Características dos principais grupos de antibacterianos: espectro de ação e indicações. In: Trabulsi LR, Alterthum F, et al. *Microbiologia*. São Paulo: Atheneu; 1999. p. 99-110.
- (22) Silva Filho OG, Ferreira Júnior FM, Capelozza Filho L, Albuquerque MVP. Enxerto ósseo alveolar em pacientes fissurados: realidade e perspectivas. *Ortodontia*. 1995;28:34-45.
- (23) Silva Filho OG, Boiani C, Cavassan AO, Santamaria Jr M. Rapid maxillary expansion after secondary alveolar bone grafting in patients with alveolar cleft. *Cleft Palate Craniofac J*. 2009;46:31-8.
- (24) Trindade IK, Mazzottini R, Silva Filho OG, Trindade IE, Deboni MC. Long-term radiographic assesment of secondary alveolar bone grafting outcomes in patients with alveolar clefts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2005;100:271-7.
- (25) Abyholm FE, Bergland O, Semb G. Secondary bone grafting of alveolar clefts. A surgical/orthodontic treatment enabling a non-postodontic rehabilitation in cleft lip and palate patients. *Scand J Plast Reconstr. Surg*. 1981;15:127-40.
- (26) Bergland O, Semb G, Abyholm F, Borchgrevink H, Eskeland G. Secondary bone grafting and orthodontic treatment in patients with bilateral complete clefts of the lip and palate. *Ann Plast Surg*. 1986;17:460-74.
- (27) Herford AS, Dean JS. Complications in bone grafting. *Oral Maxillofac Surg Clin N Am*. 2011;23:433-42.
- (28) Zouhary KJ. Bone graft harvesting from distant sites: concepts and techniques. *Oral Maxillofac Surg Clin N Am*. 2010;22:301-16.
- (29) Krimmel M, Schuck N, Bacher M, Reinert S. Facial surface changes after cleft alveolar bone grafting. *J Oral Maxillofac Surg*. 2011;69:80-3.
- (30) Misch CM. Autogenous bone: is it still the gold standard? *Implant Dentistry*. 2010;19:361.
- (31) Borstlap WA, Heibuchel KL, Freihofer HP, Kuijpers-Jagtman AM. Early secondary bone grafting of alveolar cleft defects. A comparison between chins and rib grafts. *J Craniomaxillofac Surg*. 1990;18:201-5.
- (32) Beirne JC, Barry HJ, Brady FA, Morris VB. Donor site morbidity of the anterior iliac crest following cancellous bone harvest. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 1996;25:268-71.
- (33) Dawson KH, Egbert MA, Myall RW. Pain following iliac crest bone grafting of alveolar clefts. *J Craniomaxillofac Surg*. 1996;24:151-4.
- (34) Ilankovan V, Stroncsek M, Telfer M, Peterson LJ, Stassen LF, Ward-Booth P. A prospective study of trephined bone grafts of the tibial shaft and iliac crest. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 1998;36:434-9.
- (35) Bajaj AK, Wongworawat AA, Punjabi A. Management of alveolar clefts. *J Craniofac Surg*. 2003;14:840-6.
- (36) Rawashdeh MA. Morbidity of iliac crest donor site following open bone harvesting in cleft lip and palate patients. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2008;37:223-7.
- (37) Le BT, Woo I. Alveolar cleft repair in adults using guided bone regeneration with mineralized allograft for dental implant site development: a report of 2 cases. *J Oral Maxillofac Surg*. 2009;67:1716-22.
- (38) Becker ST, Warnke PH, Bebens E, Wiltfang J. Morbidity after iliac crest bone graft harvesting over an anterior versus posterior approach. *J Oral Maxillofac Surg*. 2011;69:48-53.
- (39) Carvalho, Roberta Martinelli. Reparo do defeito alveolar com proteína morfogenética óssea (rhBMP-2) em pacientes com fissura labiopalatina [tese]. Bauru: Hospital de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais; 2011 [acesso em 3 out. 2013]. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/61/61132/tde-14022012-100227/>.
- (40) Chen D, Zhao M, Mundy Gr. Bone morphogenetic proteins. *Growth Factors*. 2004;22:233-41.
- (41) Dickinson BP, Ashley RK, Wasson KI, O'Hara C, Gabbay J, Helber JB, et al. Reduced morbidity and improved healing with bone morphogenic protein-2 in older patients with alveolar cleft defects. *Plast Reconstr Surg*. 2008;121:209-17.
- (42) Rawashdeh MA, Telfah H. Secondary alveolar bone grafting: the dilemma of donor site selection and morbidity. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2008;46:665-70.
- (43) Sreenivasan PK, Tambs G, Gittins E, Nabi N, Gaffar A. A rapid procedure to ascertain the antimicrobial efficacy of oral care formulations. *Oral Microbiol Immunol*. 2003;18:371-8.
- (44) Weiss M, Weiss J, Müller-Hartwich R, Meler B, Jost-Brinkmann PG. Chlorhexidine in cleft lip and palate patients with multibracket appliances. *J Orofac Orthop*. 2005;66:349-62.
- (45) Olympio KPK, Bardal PAP, de M Bastos JR, Buzalaf MAR. Effectiveness of a chlorhexidine dentifrice in orthodontic patients: a randomized-controlled trial. *J Clin Periodontol*. 2006;33:421-6.
- (46) Meyer ACA, Tera TM, Ito CYK, Kerbauy WD, Jardini MAN. Clinical and microbiological evaluation of the use of a toothpaste containing chlorhexidine 1%. *Rev Odontol Unesp*. 2007; 36:255-260.
- (47) Løe H, von der Fehr FR, Schiøtt CR. Inhibition of experimental caries by plaque prevention. The effect of chlorhexidine mouthrinses. *Scand J Dent Res*. 1972;80:1-9.
- (48) Bardal PAP. Avaliações dos efeitos de dentifrícios contendo clorexidina sobre o desenvolvimento de placa dentária, gengivite, cálculo e manchamento extrínseco do esmalte dentário em pacientes sob tratamento ortodôntico [tese]. Bauru: Faculdade de Odontologia de Bauru, Universidade de São Paulo; 2005.
- (49) Sekino S, Ramberg P, Uzel NG, Socransky S, Lindhe J. Effect of various chlorhexidine regimens on salivary bacteria and de novo plaque formation. *J Clin Periodontol*. 2003;30:919-25.

Conflitos de interesse

Não houve conflitos de interesse de nenhuma natureza que pudessem interferir nos resultados deste estudo.