

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS – UNIMONTES
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CUIDADOS PRIMÁRIOS EM SAÚDE – PPGCPS

Giovanne Guilherme Coutinho Canela

**Avaliação do uso de amoxicilina como fator de risco para a ocorrência de
fissuras labiopalatinas não sindrômicas.**

Montes Claros, Minas Gerais
2016

Giovanne Guilherme Coutinho Canela

Avaliação do uso de amoxicilina como fator de risco para a ocorrência de fissuras labiopalatinas não sindrômicas.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Cuidados Primários em Saúde – PPGCPS, da Universidade Estadual de Montes Claros – Unimontes, como parte dos requisitos para a obtenção do Título de Mestre em Cuidados Primários em Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Hercílio Martelli Júnior

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Daniella Reis B. Martelli

Montes Claros, Minas Gerais
2016

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS

Professor João dos Reis Canela
Reitor

Professor Antônio Alvimar Souza
Vice-reitor

Professor Rômulo Soares Barbosa
Pró-reitor de Pesquisa

Professora Karen Torres Corrêa Lafetá
Coordenadoria de Acompanhamento de Projetos

Professor Afrânio Farias de Melo Júnior
Coordenadoria de Iniciação Científica

Professor Dario Alves de Oliveira
Coordenadoria de Inovação Tecnológica

Professor Hercílio Martelli Júnior
Pró-reitor de Pós-graduação

Professora Maria de Fátima Rocha Maia
Coordenadoria de Pós-graduação *Lato-sensu e Stricto sensu*

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CUIDADO PRIMÁRIO EM SAÚDE

Prof. Dr. Antônio Prates Caldeira
Coordenador

Prof^a Dr^a Maisa Tavares de Souza Leite
Coordenadora Adjunta

Canela, Giovanne Guilherme Coutinho.

C221a Avaliação do uso de amoxicilina como fator de risco para a ocorrência de fissuras labiopalatinas não sindrômicas [manuscrito] / Giovanne Guilherme Coutinho Canela. – 2016.

63 f. : il.

Inclui Bibliografia.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Montes Claros - Unimontes, Programa de Pós-Graduação em Cuidado Primário em Saúde/PPGCPS, 2016.

Orientador: Prof. Dr. Hercílio Martelli Júnior.

Coorientadora: Profa. Dra. Daniella Reis Barbosa Martelli.

1. Fissura labiopalatina. 2. Fenda labial. 3. Antibióticos - Amoxicilina. 4. Fatores de risco. I. Martelli Júnior, Hercílio. II. Martelli, Daniella Reis Barbosa. III. Universidade Estadual de Montes Claros. IV. Título.



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CUIDADO PRIMÁRIO EM SAÚDE



CANDIDATO: GIOVANNE GUILHERME COUTINHO CANELA

TÍTULO DO TRABALHO: "Avaliação do uso de amoxicilina como fator de risco para a ocorrência de fissuras labiopalatinas não sindrômicas".

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Aspectos clínicos dos cuidados em saúde

LINHA DE PESQUISA: Clínica, diagnóstico e terapêutica das doenças

BANCA (TITULARES)

PROF. DR. HERCÍLIO MARTELLI JÚNIOR - ORIENTADOR/PRESIDENTE
PROFª. DRª. DANIELLA REIS BARBOSA MARTELLI - COORIENTADORA
PROF. DR. EDUARDO GONÇALVES
PROFª. DRª. CASSIA PÉROLA DOS ANJOS BRAGA

ASSINATURAS

BANCA (SUPLENTES)

PROFª. DRª. MAISA TAVARES DE SOUZA LEITE
PROF. DR. ANTÔNIO PRATES CALDEIRA

ASSINATURAS

APROVADO

REPROVADO

AGRADECIMENTOS

À minha querida e amada esposa Roberta Ramalho Canela pela paciência, persistência e estímulo motivacional para a conclusão deste mestrado.

Aos meus filhos Guilherme e Gustavo, fonte inspiradora da minha vida.

Ao meu pai João dos Reis Canela, grande norte mineiro, exemplo de vida em prol da medicina e do desenvolvimento humano.

À minha querida mãe Olivia Coutinho Canela, grande matriarca, por toda ternura e amor à família Coutinho Canela.

Aos meus queridos irmãos que sempre me instigam com bom humor a me tornar uma pessoa melhor.

À família Ramalho que me acolhe tão bem me trazendo novas visões de mundo.

Ao meu orientador Hercílio Martelli Júnior e à minha co-orientadora Daniela Martelli, por todo apoio e suporte que foram imprescindíveis para a conclusão desse trabalho.

À Unimontes, representada pelo meu querido pai Professor João dos Reis Canela, e Vice-Reitor Professor Antônio Alvimar Souza, pela oportunidade de realização desse mestrado.

Às Faculdades Integradas Pitágoras na pessoa do Professor Antonio Prates Cadeira pela oportunidade de realização deste trabalho.

Aos professores da banca examinadora, pela disponibilidade de tempo e pelas contribuições dadas a esse trabalho.

Às acadêmicas Sarah Horminda e Luiza Ludmila Coutinho Canela pelo apoio imprescindível.

À secretária do PPGCS, Kátia pela dedicação e carinho.

"Onde há trabalho há riqueza, e onde há cooperação há paz". (Paulo de Tarso)

Avaliação do uso de amoxicilina como fator de risco para a ocorrência de fissuras labiopalatinas não sindrômicas.

RESUMO

As fissuras labiopalatinas representam a causa mais comum de anomalias congênitas da face. O objetivo desse estudo foi avaliar o uso materno de amoxicilina, tabaco e álcool como fator de risco associado a fissuras labiopalatinas não sindrômicas, e avaliar o risco da história familiar positiva para fissura labiopalatina, como fator de risco associado à ocorrência da má formação. Como metodologia, foi realizado um estudo de caso-controle, em um Serviço de Referência para deformidades craniofaciais, no estado de Minas Gerais, Brasil. Todos os participantes foram recrutados na mesma instituição. Foram entrevistadas 1.212 mães, que foram divididas em 2 grupos: (1) casos: mães de crianças com fissuras labiopalatinas (n=606), e (2) controles: mães de crianças sem fissuras labiopalatinas (n=606). As informações coletadas foram armazenadas em um banco de dados, utilizando o programa estatístico, SPSS®, versão 21.0 para Windows®. Para a análise, realizou-se análise estatística descritiva, teste qui-quadrado e *odds ratio*, com intervalo de confiança de 95%, para estimar a magnitude do risco e os valores com $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes. Os resultados apresentaram que entre os 606 pacientes com fissuras, 340 (56,10%) nasceram com fissura labiopalatina, 157 (25,90%) com fissura labial e 109 (17,98%) com fissura palatina isolada. Em um universo de 1.212 mães entrevistadas, 225 (18,60%) apresentaram história familiar positiva para fissura labiopalatina e 975 (80,40%) apresentaram história familiar negativa e 12 (1,0%) não informaram. Em relação ao uso materno de amoxicilina em um total de 1.212 mães, 1.153 (95,10%) foram avaliadas sendo 561 (48,70%) casos e 592 (51,30%) controles. A proporção de mães que utilizaram amoxicilina no primeiro trimestre de gravidez foi menor no grupo caso (32; 5,70%) que no grupo controle (35; 5,91%). Os presentes resultados não encontraram associação entre o uso materno de amoxicilina no primeiro trimestre de gravidez e fissuras labiopalatinas. A identificação de fatores de risco modificáveis para as fissuras labiopalatinas, como uso materno de amoxicilina, é o primeiro passo em direção à prevenção primária.

Palavras-chave: Fissura labiopalatina. Fenda labial. Antibióticos. Amoxicilina. Fatores de risco.

ABSTRACT

Cleft lip and palate are the most common cause of congenital anomalies of the face. The aim of this study was to evaluate the maternal use of amoxicillin, tobacco and alcohol as a risk factor associated with nonsyndromic cleft lip and palate, and assess the risk of a family history of cleft lip and palate, as a risk factor associated with the occurrence of the malformation. As methodology, we performed a case-control, in a reference center for craniofacial deformities in the state of *Minas Gerais*, Brazil. All participants were recruited from the same institution. 1,212 were interviewed mothers, who were divided into 2 groups: (1) cases: mothers of children with cleft lip and palate (n = 606), and (2) controls: mothers of children without cleft lip and palate (n = 606). The data were stored in a database, using the statistical program SPSS, version 21.0 for Windows[®]. For the analysis, there was descriptive statistics, chi-square test and odds ratio with 95% confidence interval to estimate the magnitude of the risk and the values of $p < 0.05$ were considered statistically significant. The Results showed that among 606 patients with clefts, 340 (56.10%) were born with cleft lip and palate, 157 (25.90%) with cleft lip and 109 (17.98%) with isolated cleft palate. In a universe of 1,212 mothers interviewed, 225 (18.60%) had a family history of cleft lip and palate and 975 (80.40%) had a negative family history and 12 (1.0%) did not report. In relation to maternal use of amoxicillin in a total of 1,212 mothers, 1,153 (95.10%) were evaluated and 561 (48.70%) cases and 592 (51.30%) controls. The proportion of mothers who used amoxicillin in the first trimester of pregnancy was lower in the case group (32; 5.70%) in the control group (35; 5.91%). Our results found no association between maternal use of amoxicillin during the first trimester of pregnancy and cleft lip and palate. The identification of modifiable risk factors for cleft lip and palate, as maternal use of amoxicillin is the first step towards primary prevention.

Keywords: Cleft lip. Cleft palate. Antibiotics. Amoxicillin. Risk factors.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1:	Desenvolvimento normal das estruturas da face em humanos.....	15
Figura 2:	Representação anatômica do forame incisivo.....	18
Figura 3:	Representação esquemática das fissuras pré-forame incompleta.....	19
Figura 4:	Representação esquemática das fissuras pré-forame completa.....	19
Figura 5:	Representação esquemática das fissuras transforame	19
Figura 6:	Representação esquemática das fissuras pós forame incisivo.....	19
Figura 7:	Tipos de fissura.....	20
Figura 8:	Cultura contaminada pelo fungo <i>Penicillium</i>	23
Figura 9:	Estrutura molecular do Ácido 6-aminopenicilânico.....	24
Figura 10:	Estrutura geral das penicilinas.....	24
Figura 11:	Mecanismo de inibição da transpeptidase pela penicilina.....	25
Figura 12:	Concentrações médias da ampicilina e amoxicilina após a administração oral de uma dose única de 500mg destes antibióticos.....	26
Figura 13:	Estrutura molecular do ácido clavulânico.....	27
Figura 14:	Degradação da amoxicilina.....	27

LISTA DE SIGLAS

6-APA	Ácido 6-aminopenicilânico
CL	<i>Cleft lip</i>
CLP	<i>Cleft lip and palate</i>
CL/P	<i>Cleft lip and/or palate</i>
CP	<i>Cleft palate</i>
DLX	<i>Distaless</i> (gene da família homeobox)
FDA	<i>Food and Drugs Administration</i>
FL	Fissura labial
FL/P	Fissura labiopalatina (envolvendo lábio e palato)
FL/PNS	Fissuras de lábio e/ou palato não sindrômicas
FP	Fissura palatina
GSC	<i>Gosecoid</i>
MSX	<i>Muscle segment homeobox</i> (gene da homeobox do segmento muscular)
NSCL/P	<i>Nonsyndromic cleft lip and/or palate</i>
OR	<i>Odds Ratio</i>
OXT	<i>Orthodontical</i> (gene da família homeobox)
SHH	<i>Sonic Hedgehog</i> (gene da família homeobox)
SUS	Sistema Único de Saúde

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 Características gerais	13
2.2 Embriologia da face	14
2.3. Desenvolvimento do lábio	16
2.4 Desenvolvimento do palato	17
2.5 Características clínicas e classificação das fissuras labiopalatinas	18
2.6 Fatores de risco ambientais	21
2.6.1 Penicilinas	22
2.6.2 Química das penicilinas	24
2.6.3 Estrutura da amoxicilina	25
2.7 Uso de antibióticos e malformações congênitas	27
2.8 Amoxicilina e associação com fissuras labiopalatinas	29
3 OBJETIVOS	31
3.1 Objetivo Geral	31
3.2 Objetivos Específicos	31
4 METODOLOGIA	32
5 PRODUTOS	33
5.1 Artigo Científico: <i>Maternal use of amoxicillin and nonsyndromic cleft lip and palate in a Brazilian population</i>	33
6 Conclusões.....	50
7 Considerações finais	51
REFERÊNCIAS	52
APÊNDICES	60
ANEXOS.....	61

1 INTRODUÇÃO

As deformidades craniofaciais estão entre as malformações congênitas mais comuns e entre os defeitos de nascimento mais prevalentes e conhecidos (SPINA *et al.*, 1972; WANTIA; RETTINGER, 2002; COBOURNE, 2004). Por impactar diretamente na qualidade de vida tanto dos pacientes quanto dos familiares elas representam importante problema de saúde pública (BIRNBAUM *et al.*, 2009). Elas fazem parte de grupo heterogêneo de defeitos congênitos complexos, que afeta uma limitada, mas significativa parcela da população (MARTELLI-JÚNIOR *et al.*, 2007). Entre as alterações craniofaciais, as mais prevalentes são as fissuras de lábio e/ou palato não sindrômicas (FL/PNS) que são caracterizadas por áreas de descontinuidade no lábio e/ou palato (MARTELLI-JÚNIOR *et al.*, 2007; VIEIRA, 2008).

A incidência das FL/PNS é de aproximadamente 1 em cada 500-2.000 nascidos vivos, variando de acordo com a localização geográfica, raça e condição socioeconômica da população estudada (MURRAY, 2002). No Brasil, os estudos quanto à incidência das FL/PNS são escassos e variam consideravelmente. Em 2006, Martelli-Júnior *et al.* verificaram a incidência de 1,46 fissuras por cada 1.000 nativos no estado de Minas Gerais, Brasil. Observa-se que, anualmente, são registrados 235 mil novos casos de fissuras. A cada dois minutos, nasce uma criança com FL/P no mundo e, diariamente, são 660 crianças (KOT; KRUK-JEROMINI, 2007).

Existem diferenças na frequência das FL/P de acordo com o gênero. Fissura lábio palatina (FL/P) e fissura labial (FL) são mais frequentes no gênero masculino e a fissura palatina (FP) é mais comum no gênero feminino (FONSECA, 1971; MENEZES, 1988; CAPELOZZA, 1992). Rittler *et al.*, (2004) observaram que a frequência de FL/P é maior no gênero feminino quando o pai possui idade superior a 40 anos (DUARTE; LEAL, 1999).

As descontinuidades no lábio e/ou palato se originam no primeiro trimestre do desenvolvimento intrauterino e são resultantes de defeitos primários na fusão dos processos craniofaciais que formam o lábio, o palato primário e o secundário (MOSSEY; LITTLE, 2002). Assim, em decorrência dos defeitos embriológicos, as FL/P podem ser clinicamente classificadas em: fissuras do lábio (FL), fissuras do palato (FP), fissuras envolvendo lábio e palato (FL/P) e fissuras raras da face (SPINA *et al.*, 1972).

As FL/P em 70% dos casos ocorrem de forma isolada, como fenótipo específico, e não associada a outras condições, sendo denominadas não sindrômicas. Nos outros 30% elas se

apresentam em associações a outras condições ou como parte do espectro de diversas síndromes (MOSSEY; LITTLE, 2002; MARTELLI-JUNIOR *et al.*, 2006).

Apesar de ser um defeito congênito comum, a etiopatogenia das FL/PNS continua incerta devido à dificuldade em determinar o exato momento e a razão precisa pela qual não houve fusão dos processos que dão origem à face (VIEIRA, 2008). Isto é, em grande parte, reflexo da complexidade e da diversidade dos mecanismos moleculares envolvidos na embriogênese que são influenciados pela participação de múltiplos genes e de fatores ambientais (DIXON *et al.*, 2011).

Entre os fatores de risco ambientais para a ocorrência de fissuras orofaciais, destacam-se o fumo, o álcool, a idade dos pais, o uso de medicamentos, a ordem de paridade, o intervalo interpartal, as deficiências de ácido fólico, as doenças infecciosas, os agentes químicos, a dieta deficiente e o uso de drogas no período pré-natal; além dos fatores de risco genéticos, incluindo mutações gênicas, interações entre os genes e entre genes e ambiente (ZEIGER; BEATY, 2002; VIEIRA, 2008).

O uso de medicamentos, principalmente no primeiro trimestre de gestação, conforme citado, pode representar um risco ambiental para ocorrência de FL/P. Dentre os medicamentos comumente prescritos no primeiro trimestre gestacional, destaca-se a amoxicilina, droga comumente prescrita para tratamento de infecções nas gestantes (COOPER *et al.*, 2009). Estudos que investigam a relação entre uso de antibióticos materno no primeiro trimestre de gestação e a etiologia das FL/P são limitados e inconclusivos.

O primeiro passo para a prevenção e melhor compreensão de uma doença é a identificação de fatores a ela associados (ZEIGER; BEATY, 2002). Assim, devido ao fato das FL/P apresentarem uma prevalência relativamente alta, das mesmas apresentarem etiologia multifatorial com a atuação de fatores ambientais passíveis de prevenção, e diante da escassez de estudos que investiguem a etiologia de FL/P, justifica-se o desenvolvimento de estudos que investiguem os possíveis fatores ambientais que possam estar associados à ocorrência de FL/P. Aproveitando esta lacuna no conhecimento realizou-se uma investigação, através de um estudo tipo caso controle, sobre fatores de risco ambientais incluindo o uso materno de amoxicilina no primeiro trimestre de gestação e esta má formação.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Características Gerais

As primeiras evidências clínicas das FL/P foram encontradas em esculturas indígenas datadas do século I da Era Cristã. Há evidências documentadas de que na China, em 390 d.C, ocorreu o primeiro tratamento cirúrgico realizado por um cirurgião popularmente denominado como “doutor dos lábios” (MILLARD JR, 1976). O primeiro estudo epidemiológico sobre fissuras foi realizado no período de 1833 a 1864, por Frobellius, em um hospital de *St. Petersburg*, encontrando 118 casos entre 180.000 crianças, ou seja, 0,7 casos por mil crianças (FOGH-ANDERSEN, 1942).

A prevalência de FL/P é relativamente elevada em várias investigações em diferentes países (VIEIRA, 2008). Estudos em dezessete estados dos Estados Unidos mostraram a relação encontrada de 1:961 nativos (DONAHUE, 1965); em Paris foi 1:950 (PSAUMÉ, 1966); em Washington 1:543 (EMANUEL *et al.*, 1973) e nas Filipinas 1:94/100 (MURRAY *et al.*, 2002).

Os estudos sobre a população brasileira são em quantidade reduzida, destacando-se os de Fonseca e Rezende (1971), que registraram, em São Paulo, uma relação de 1:673 nativos; Menezes (1988) encontrou, em Recife, uma relação de 1:557; Capelozza e Silva (1992) encontraram, em Bauru, uma relação de 1:650 nascimentos. No município de Alfenas, sul de Minas Gerais, Martelli-Júnior *et al.* (2006) relataram a ocorrência de 1,46 casos de FL/P para cada 1.000 nascimentos anuais.

A incidência das FL/P na comunidade varia de acordo com diversos fatores como localização geográfica, raça, exposição a fatores ambientais de risco e condições socioeconômicas (MARTELLI-JUNIOR *et al.*, 2007; ZEIGER; BEATY, 2002). Vieira (2008) verificou uma distribuição mundial média de 1 caso para cada 700 nativos (MILLARD-JR, 1976). Estudos revelam que as populações asiáticas e os ancestrais dos nativos americanos possuem uma alta prevalência (1:500), as populações europeias possuem prevalência intermediária (1:1.000), e as menores taxas de prevalência são observadas em africanos e descendentes de africanos (1:2.500) (FOGH-ANDERSEN, 1942; DONAHUE, 1965). A cada dois minutos nasce uma criança com FL/P no mundo. Diariamente, nascem 660 crianças com essa má formação, sendo observados, anualmente, 235 mil novos casos de fissuras. Com o crescimento da população mundial, estimam-se um adicional de 3.200 novos casos anuais de FL/P (KOT; KRUK-JEROMINI, 2007).

As crianças com FL/P e seus familiares experimentam um significativo estresse crônico (TOBIASEN, 1990). Poucos defeitos têm, para família o impacto emocional de ver a criança facialmente desfigurada, soma-se a isso a deficiência funcional da fala, mastigação e deglutição. Em virtude da frequência com que ocorrem e dos impactos nos desenvolvimentos funcional, social e afetivo, as FL/P constituem um importante problema de saúde pública, necessitando de uma abordagem multiprofissional para o tratamento adequado.

A reabilitação do paciente com FL/P é longa, inicia-se desde o nascimento da criança e persiste até a idade adulta, englobando procedimentos cirúrgicos e não cirúrgicos (CARDOSO *et al.*, 2005, PARANAÍBA *et al.*, 2009). A equipe multiprofissional deve atuar de forma interdisciplinar, propiciando ao indivíduo, com deformidade facial, o necessário ajustamento à sociedade (CERQUEIRA *et al.*, 2005). Vale ressaltar que no Brasil ainda há uma carência de centros multiprofissionais especializados em tratamentos das deformidades craniofaciais. Muitas vezes, a reabilitação do paciente com FL/P é inadequada ou parcial sendo realizada por profissionais não qualificados.

2.2. Embriologia da face

A formação embriológica do feto envolve alterações complexas e multifatoriais em várias fases do desenvolvimento embrionário e a FL/P resulta da malformação congênita decorrente de falhas no desenvolvimento ou na maturação dos processos embrionários, entre a 4ª e a 8ª semana de vida intrauterina, período em que ocorre a formação de estruturas orgânicas como cérebro, olhos, órgãos digestivos, língua e vasos sanguíneos. Por volta da 6ª semana do desenvolvimento embrionário, as estruturas faciais externas completam a fusão e as internas se completarão até o final da 8ª semana (ALTMANN, 1997; MONTANDON *et al.*, 2001). A formação da face e da cavidade oral são processos complexos que envolvem o desenvolvimento de múltiplos eventos teciduais que devem se unir e se fundir de modo extremamente ordenado (NEVILLE *et al.*, 2008). A Figura 1, a seguir, apresenta este processo.

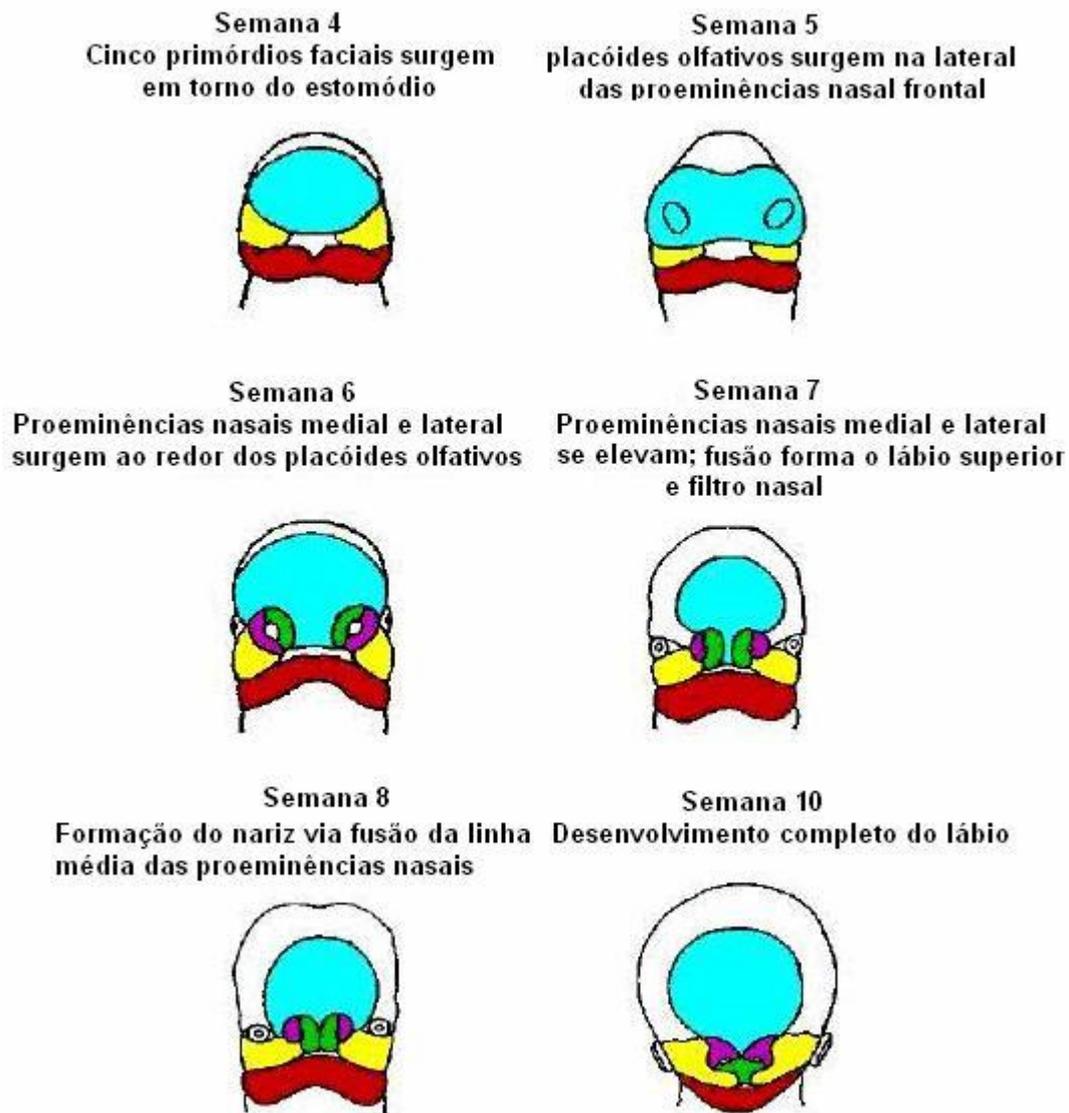


Figura 1: Desenvolvimento normal das estruturas da face em humanos. As cores representam as seguintes proeminências: azul=frontonasal; amarelo=maxilares; vermelho=mandibulares; roxo=nasais laterais e verde=nasais mediais.

Fonte: <http://www.biomed2.man.ac.uk/ugrad>.

Os distúrbios ocorridos durante esses processos, assim como os distúrbios nos genes controladores desses mecanismos e/ou a inibição deles, por agentes teratogênicos podem resultar na ocorrência de FL/P. Por isso, o desenvolvimento da região orofacial depende da interação de vários fatores, incluindo diferenciação, crescimento, adesão, sinalização celular e apoptose (PRESCOTT *et al.*, 2001).

O mesênquima da face primordial surge a partir de células da crista neural, que rompem o limite ectodermal-mesênquimal e migram para o tecido adjacente como células ectomesenquimais. A migração e a proliferação dessas células são essenciais para o

desenvolvimento facial. Esses eventos biológicos de formação da face são controlados por diversos genes, como a família de genes homeobox, SHH (*sonic hedgehog*), OXT (*orthodontical*), GSC (*gosecoid*), DLX (*distalless*) e MSX (*muscle segment homeobox*). Esses genes, em condições normais, são derivados da crista neural e são expressos no ectomesênquima. Dessa forma, muitos desses genes têm sido associados à patogênese das FL/P (SILVA, 2007; VIEIRA, 2008). Como manifestação clínica da alteração embriológica, as FL/P podem ser categorizadas em 3 grupos distintos, representados pelas FL/P, FL e FP (LANGMAN, 1982).

2.3. Desenvolvimento do lábio

Os arcos branquiais surgem em torno do estomódio ou boca primitiva durante a 4ª semana de desenvolvimento humano, a partir de cinco primórdios: uma proeminência frontonasal, duas proeminências maxilares bilaterais e duas proeminências bilaterais mandibulares (FERGUSON *et al.*, 2000). O primeiro dos cinco arcos branquiais é composto por mesoderma e células da crista neural, que dará origem ao tecido que formará o lábio e o palato primário (ITO *et al.*, 2003).

Durante a 5ª semana de desenvolvimento, de ambos os lados da parte inferior da elevação frontonasal, formam-se espessamentos bilaterais denominados placoides nasais. Saliências nasais médias e laterais em forma de ferradura desenvolvem-se ao redor dos placoides nasais. As saliências maxilares crescem e se aproximam uma da outra e também das saliências nasais mediais. Na 6ª e 7ª semanas gestacionais, as saliências nasais mediais fundem-se uma com a outra e com as saliências maxilares (DIEWART; SHIOTA, 1990; CARSTENS, 2002). Ao se fundirem as saliências maxilares mediais formam o segmento intermaxilar da maxila. Esse segmento origina: (1) filtro do lábio superior, (2) parte pré-maxilar da maxila e gengiva associada e (3) palato primário. As porções laterais do lábio superior, a maior parte da maxila e o palato secundário são formados a partir das saliências maxilares (MOORE, 2013). Por volta da 8ª semana de desenvolvimento, o nariz é formado pela fusão das proeminências nasais médias. Caso o filtro nasal não seja preenchido por tecido conjuntivo adicional, a fusão nesse ponto pode falhar, conforme o crescimento e o desenvolvimento da região. Essa falha pode ocorrer uni ou bilateralmente, gerando a fissura labial isolada (BRAND; ISSELHARD, 2003).

Nesse contexto, o lábio forma-se normalmente durante a 6ª e 7ª semana de desenvolvimento. Porém, uma falha na fusão do lábio pode comprometer a fusão subsequente das prateleiras

palatinas (palato primário), que não se fundem completamente até a oitava ou nona semanas. Por isso, a FP é vista frequentemente com a FL (MOORE, 2013).

2.4. Desenvolvimento do palato

O palato é formado por duas partes: o palato primário, parte frontal, que corresponde a 10% do palato, e o palato secundário, correspondente a 90% dos palatos duro e mole. O desenvolvimento do palato ocorre entre a 5ª e a 12ª semana de formação do feto. O palato primário é formado pela fusão das proeminências nasais médias durante as 6ª e 7ª semanas de desenvolvimento. Em seguida, uma massa de mesoderma forma-se entre as proeminências maxilares, originando o palato primário, que inclui os 4 dentes incisivos maxilares (SILVA, 2007).

Durante a 6ª semana de desenvolvimento inicia-se a formação do palato secundário, quando os folhetos palatais crescem a partir das proeminências maxilares. Esses folhetos ficam posicionados verticalmente de ambos os lados da língua. Durante a 7ª semana, a língua move-se para baixo e os folhetos palatais se elevam tomando a posição horizontal por cima da língua. Os folhetos horizontais aproximam-se na região média na 8ª semana. Em seguida, na 9ª semana, inicia-se a fusão desses folhetos, começando pelo meio e movendo-se, anterior e posteriormente, ao mesmo tempo. Durante esse processo, o epitélio medial dos dois folhetos se fundem. Esse epitélio, entre os dois folhetos, desaparece dando espaço a um tecido uniforme composto por células mesenquimais (MOORE; PERSAUD, 1990; KERRIGAN *et al.*, 2000). A migração e a apoptose das células epiteliais, como também a transformação das células epiteliais em mesenquimais, têm sido sugeridas como mecanismo para a eliminação da junção epitelial, mas esse processo ainda não é totalmente entendido (MARTINEZ-ALVAREZ *et al.*, 2000; CUERVO; COVARRUBIAS, 2004; TAKAHARA *et al.*, 2004).

A FP resulta de uma falha de fusão no palato primário, no secundário ou em ambos. O fenótipo pode variar desde a úvula bífida até a completa fissura do palato, podendo ocorrer isoladamente ou em conjunto com a fissura de lábio (SILVA, 2007). Desse modo, a FP pode ocorrer devido a uma falha em um dos três principais processos de desenvolvimento do palato: crescimento dos folhetos palatais, elevação dos folhetos palatais sobre a língua ou fusão dos folhetos (SAXÉN, 1974; THOMPSON; THOMPSON, 2008). Resultando assim na formação da fissura labiopalatina isolada.

2.5. Características clínicas e classificação das fissuras labiopalatinas

As apresentações clínicas das FL/P variam desde a fissura submucosa, a úvula bífida, até FLP bilateral completa (HUANG *et al.*, 2007). Devido as diferentes apresentações existem diversos critérios de classificações, baseando em aspectos variados tais como: características morfológicas (TOLAROVÁ; CERVENKA, 1998) e embrionárias (KRIENS, 1990; KERNAHAN, 1990). A partir das classificações de Davis e Ritchie (1923) e Veau (1971) surgiram diversas classificações, destacando-se a de Spina *et al.* (1972) e Spina (1973), utilizada neste estudo, que possui como referência anatômica o forame incisivo, demonstrado na Figura 2. Essa classificação mostra-se simples e prática para equipes multiprofissionais atuarem, sendo dividida em quatro diferentes categorias: **Grupo I** (Figuras 3 e 4) – **FL** – fissuras pré-forame incisivo, unilateral incompleta/completa; bilateral incompleta/completa; mediana incompleta/completa; **Grupo II** (Figura 5) – **FLP** – fissuras transforame incisivo, unilateral e bilateral; **Grupo III** (Figura 6) – **FP** – fissuras pós-forame incisivo, completa e incompleta e **Grupo IV** – fissuras raras da face.



Figura 2: Representação anatômica do forame incisivo.
Fonte: <http://www.forp.usp.br/laciro/servico/forinc.htm>.



Figura 3: Representação esquemática das fissuras pré-forame incompleta (Grupo I).
Fonte: Adaptado de SILVA (2007)

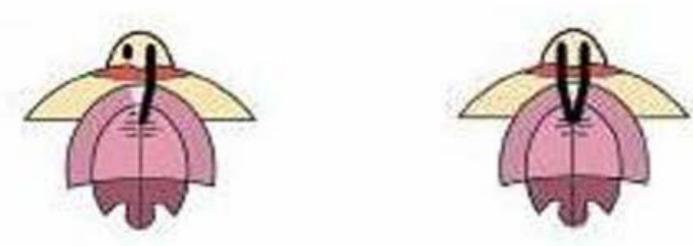


Figura 4: Representação esquemática das fissuras pré-forame completa (Grupo I).
Fonte: Adaptado de SILVA (2007).

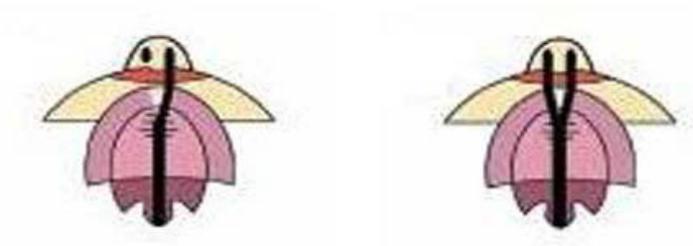


Figura 5: Representação esquemática das fissuras transforame (Grupo II).
Fonte: Adaptado de SILVA (2007).

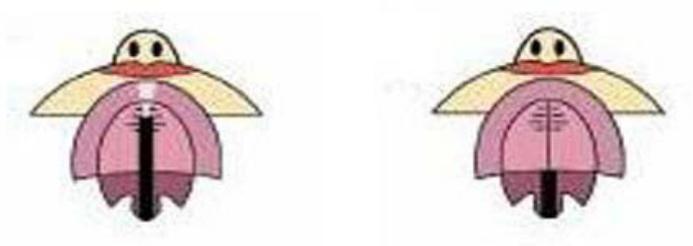


Figura 6: Representação esquemática das fissuras pós-forame incisivo (Grupo III).
Fonte: Adaptado de SILVA (2007).

São denominadas fissuras pré-forame aquelas que atingem o lábio, uni ou bilateralmente, chamadas de incompleta, podendo chegar até ao forame incisivo, incluindo fissura do palato primário, quando, então, são denominadas completas. As fissuras pós-forame são aquelas que

atingem o palato secundário, podendo atingir somente a parte mole, incompleta, como também as partes mole e dura do palato secundário, completa. As fissuras que atingem apenas a úvula também são chamadas de pós-forame. As fissuras transforame são aquelas que se originam no lábio, passam pelo forame incisivo e atingem o palato secundário. A Figura 7 ilustra casos clínicos das fissuras descritas.

Existem também as fissuras raras da face, representadas pela fissura facial lateral, fissura facial oblíqua, fissura mediana do lábio superior, fissuras medianas alveolares anteriores da maxila, fissura mentoniana, entre outras. Entretanto, nos estudos que compõem essa qualificação não há presença de fissuras do grupo IV. As figuras a seguir ilustram a classificação:

A) Fissura labial unilateral



B) Fissura labial bilateral



C) Fissura lábio-palatina



D) Fissura palatina



Figura 7: Tipos de fissura

Fonte: Arquivo do Centro Pró-Sorriso – “Centrinho”

As figuras A, B, representam o GRUPO I, a figura C representa o GRUPO II e a D, representa o GRUPO III.

2.6. Fatores de risco ambientais

Não há um fator específico que possa ser responsável pelas FL/P, porém, há um conjunto de aspectos que são corresponsáveis pela alteração. Didaticamente dividem-se os fatores de risco em ambientais e genéticos (FILÉZIO *et al.*, 2013).

Entre os fatores de risco ambientais para FL/P destacam-se: o fumo, o álcool, a idade materna e paterna, os medicamentos, a ordem de paridade, o intervalo interpartal e as deficiências de ácido fólico (VIEIRA, 2008). Wyszynski e Beaty (1996) expõem que os fatores de risco proeminentes para FL/P são: exposição a drogas antiepilépticas, fumo materno e deficiência do ácido fólico no primeiro trimestre da gravidez. Os aspectos referentes ao nível do ácido fólico, à exposição ao tabaco e ao uso do álcool recebem importante enfoque quanto à etiologia das FL/PNS, visto que durante a gestação, poderiam ser evitados pela genitora (BENDER, 2000). Nesse sentido, pesquisas realizadas em camundongos e ratos comprovaram que a exposição a antagonistas do ácido fólico antes do período de desenvolvimento do palato resultou em 75 a 80% de embriões sobreviventes portadores de malformações como FL/P (JORDAN *et al.*, 1977). Nota-se também que em estudos realizados em humanos, a suplementação materna com folato reduz o risco de recorrência de FL/PNS para mulheres que já tiveram um filho com fissura (TOLAROVA; HARRIS, 1995, ITIKALA *et al.*, 2001).

Bem estabelecida está a relação entre o consumo de bebidas alcoólicas durante a gestação e o aumento do risco para FL/P para o embrião, evidencia-se a análise de Munger *et al.* (1996). Seus estudos mostram que mulheres que ingerem de uma a três doses de bebida alcoólica mensalmente, aumentam em 1,5% o risco para que seu feto apresente FL/P e o mesmo evolui para 3,1% quando a mulher ingere de quatro a dez doses e, também, para 4,7% quando o consumo extrapola dez doses por mês, consequência que corrobora o efeito dose-resposta (MUNGER *et al.*, 1996).

Sabe-se que a falha parcial de fusão dos processos nasais médios e outras anormalidades do desenvolvimento podem ser consequentes da exposição a medicamentos e indica relevante a ação no mecanismo que interfere no desenvolvimento embriológico. A FL/P vincula-se ao uso de drogas anticonvulsivantes usadas durante o período gestacional precoce. Nesse contexto, estatísticas norte-americanas indicam que, aproximadamente, metade das gestações não seja

planejada e, portanto, muitas mulheres sujeitam, inadvertidamente, seus fetos aos efeitos de medicamentos (LEITE *et al.*, 2005).

Dentre as avaliações que englobam os fatores de risco para a ocorrência de FL/PNS, há um estudo recente que integra os aspectos voltados para a saúde materna (hipertensão arterial, alterações neurológicas, diabetes melitus e consumo de álcool), a história reprodutiva e uso de medicamentos, como antiepiléticos, antibióticos, vitaminas e hormônios. Os resultados indicaram que o único fator de risco que conferiu aumento à susceptibilidade para FL/PNS foi a história de natimorto (TAMBURINI *et al.*, 2012). Segundo os dados relatados pela pesquisa do *Missouri Monthly Vital Statistics* (2000), outro fator de risco a ser considerado para as FL/P é no que tange à variável idade materna e paterna (MISSOURI, 2000), entretanto, segundo pesquisa efetuada por Martelli *et al.* que analisou associação entre a idade dos pais e o risco aumentado para FL/P mostrou-se que não houve relevante manifestação estatística que correlacionasse idade paterna e ocorrência de FL/P (MARTELLI *et al.*, 2010). Contudo, há contradições demonstradas mediante resultados da meta-análise adotada por VIEIRA *et al.*, 2002.

2.6.1. Penicilinas

Alexander Fleming, bacteriologista londrino, motivado pelas mortes causadas por infecções durante a Primeira Guerra Mundial (1914-1918), desenvolvia pesquisas no intuito de descobrir medicamentos capazes de matar ou impedir o crescimento de bactérias (LIDRAL; MORENO, 2005). Em 1928, enquanto estudava variantes de estafilococos, observou que uma das culturas havia sido contaminada por um bolor e que este provocara o desaparecimento das bactérias na sua vizinhança (Figura 8). Fleming e o seu colega, Dr. Pryce, identificaram um fungo do gênero *Penicillium* e conseguiram demonstrar que este produzia uma substância responsável pelo efeito bactericida – a penicilina (GOODMAN; GILMAN, 2012).

O isolamento e a purificação da penicilina foram efetuados apenas em 1940, por Howard Florey e Ernst Chain, na Universidade de Oxford (LIGON, 2004a; LIGON, 2004b; ROLINSON; GEDDES, 2007). Depois de estudar as suas qualidades antibacterianas e a sua atoxicidade, foram realizados testes em humanos, cujos resultados comprovaram a sua eficácia. Em 1944 estava já desenvolvido um processo de fermentação, o qual disponibilizava uma produção em larga escala de penicilina. A penicilina salvou a vida a milhares de soldados aliados na Segunda Guerra Mundial (1939-1945) (GOODMAN; GILMAN, 2012).

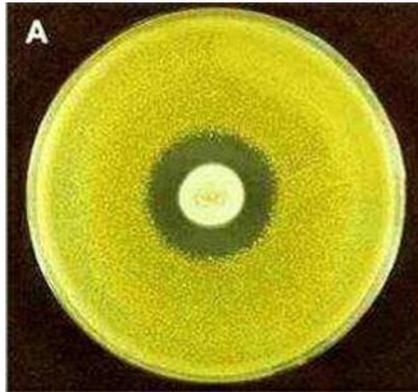


Figura 8: Cultura contaminada pelo fungo *Penicillium*.

Durante muito tempo, o capítulo que a penicilina abriu na história da Medicina parecia prometer o fim das doenças infecciosas de origem bacteriana como causa de mortalidade humana, motivo porque, em 1945, Fleming, Florey e Chain receberam o Prêmio Nobel da Medicina. Em 1950, a família de antibióticos β -lactâmicos consistia em dois compostos com espectro de ação limitado: penicilina G e penicilina V. (GOODMAN; GILMAN, 2012)

As penicilinas naturais nunca foram completamente eficazes contra todo o tipo de bactérias e o desenvolvimento de cepas de bactérias resistentes era um problema cada vez mais frequente. O desenvolvimento de novas penicilinas, com maior espectro de ação, foi conseguido pela modificação da cadeia lateral da molécula. As primeiras experiências foram efetuadas através de reações de fermentação, não se conseguindo, no entanto, grande diversidade de compostos. Mais tarde, por síntese e isolamento da p-aminobenzilpenicilina, foi possível obter uma outra molécula – ácido 6-aminopenicilânico (6-APA) – que, não possuindo nenhuma cadeia lateral, esteve na origem da produção dos beta-lactâmicos semi-sintéticos em 1960 (ROLINSON, GUEDES, 2007). A descoberta deste composto foi o ponto de partida para o crescimento da família das penicilinas.

O objetivo de se conseguir uma penicilina de largo espectro foi conseguido em 1961, pela síntese da ampicilina, e em 1971, pela da amoxicilina. Estas duas penicilinas, designadas 17 de aminopenicilinas ou penicilinas semissintéticas, são muito semelhantes em termos estruturais e em espectro de ação, no entanto, a amoxicilina tem melhor absorção quando administrada por via oral, atingindo concentrações duas vezes mais elevadas no sangue do que a ampicilina. Embora mais tarde tivessem sido obtidas penicilinas de espectro verdadeiramente mais amplo, as aminopenicilinas constituíram o primeiro passo no sentido da obtenção de penicilinas de maior resistência que abrangessem no seu espectro bactérias gram-negativas (GOODMAN; GILMAN, 2012).

2.6.2. Química das penicilinas

Atualmente estão identificadas mais de 40 tipos de penicilinas, algumas naturais, outras semissintéticas. A composição de todas as penicilinas apresenta um núcleo comum: o 6-APA (Figura 9) que é o responsável pela atividade destes compostos. Este núcleo é composto por um anel tiazolidinico e por um anel β -lactâmico, ao qual está ligado um grupo amina que inicia a cadeia lateral nas penicilinas (Figura 10) (GOODMAN; GILMAN, 2012).

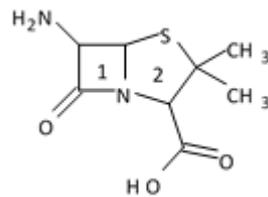


Figura 9: Estrutura molecular do 6-APA.
1 - Anel β -lactâmico 2 - Anel tiazolidinico

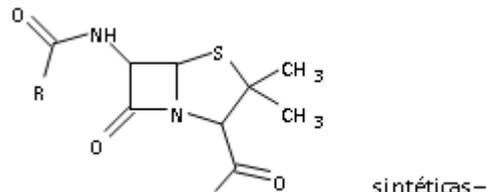


Figura 10: Estrutura geral das penicilinas.

As penicilinas interferem na síntese das paredes celulares das bactérias, por reação com o grupo amina presente na enzima transpeptidase, responsável pela etapa final da biossíntese do peptidoglicano da parede bacteriana. Esta reação envolve a ruptura do anel β -lactâmico e a acilação da enzima (Figura 11). Deste modo a as enzimas deixam de estar disponíveis como catalisadoras na formação das ligações cruzadas transpeptidásicas que conferem rigidez à estrutura celular. Depois de se formar o complexo penicilina-enzima, a etapa final da síntese da parede celular não ocorre e a bactéria morre (FAGERQUIST; LIGHTFIELD, 2003).

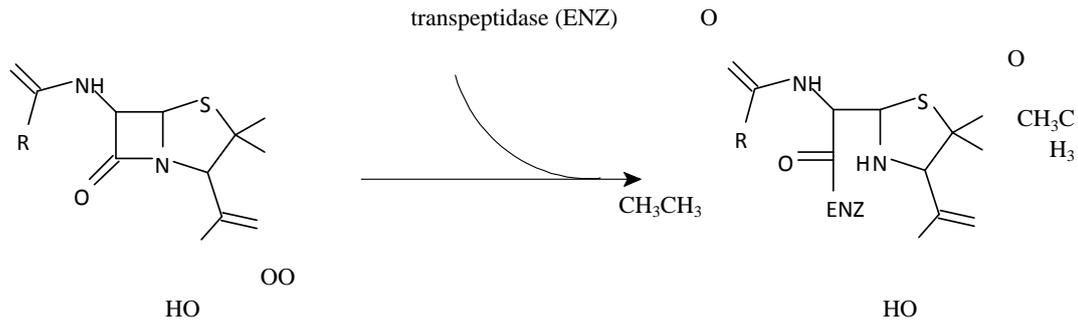


Figura 11: Mecanismo de inibição da transpeptidase pela penicilina.

As penicilinas semissintéticas são antibióticos de largo espectro, resistentes a pH baixo, que podem ser administrados por via oral. Este grupo de penicilinas, para além de ser eficaz contra bactérias gram-positivas, também é ativo contra algumas gram-negativas. Contudo, continuam a ser compostos susceptíveis de perder atividade por ação de enzimas β -lactamases o que implica a utilização de inibidores destas enzimas acompanhar a administração das aminopenicilinas (GOODMAN; GILMAN, 2012).

Após a administração, todas as penicilinas se distribuem pelos fluidos intersticiais, através da corrente sanguínea. A entrada das moléculas de penicilina nas células é mais eficaz quando existe inflamação, uma vez que, nestes casos, a permeabilidade das membranas das células aumenta (GOODMAN; GILMAN, 2012).

As penicilinas são facilmente eliminadas por via urinária, de modo que o tempo de vida destes fármacos no corpo é curto – cerca de 30 a 90 minutos. Deste modo, após a administração, esperam-se concentrações elevadas na urina (SOUSA, 2006).

2.6.3. Estrutura da amoxicilina

Estudos posteriores ao desenvolvimento da ampicilina demonstraram que a introdução de um grupo p-hidroxilo na sua cadeia lateral aumentava a absorção do composto por via gastrointestinal. Desta modificação surgiu a amoxicilina. Embora a ampicilina tenha sido a primeira aminopenicilina a ser introduzida em terapêutica, a amoxicilina é considerada o composto-padrão deste grupo, dado que, embora apresentando um espectro idêntico, tem maior biodisponibilidade via oral, sendo que entre 74 e 92% da dose administrada é absorvida. Na Figura 12 está representada a evolução da concentração plasmática ao longo do

tempo após administração oral de uma dose única de 500 mg de ampicilina e amoxicilina em humanos (SOUSA, 2006).

O pico de concentração máxima de amoxicilina é atingido ao fim de cerca de duas horas e, apesar de ter uma boa absorção, grande parte do fármaco é excretado na sua forma ativa pela urina. O tempo de meia vida deste composto é de cerca de 0,7 a 1,4h e, num período de 6 a 8h após a administração, recupera-se na urina, sob forma intacta, até 80 por cento da dose absorvida (GOODMAN; GILMAN, 2012).

A amoxicilina distribui-se facilmente pelos tecidos e líquidos orgânicos e apenas 19 a 33% da fracção absorvida é metabolizada, essencialmente pela hidrólise do anel β -lactâmico com formação do ácido amoxicilóico, que é o correspondente ácido peniciloico nas restantes penicilinas. A responsabilidade pela maioria das reações alérgicas às penicilinas deve-se à formação destes compostos (GOODMAN; GILMAN, 2012).

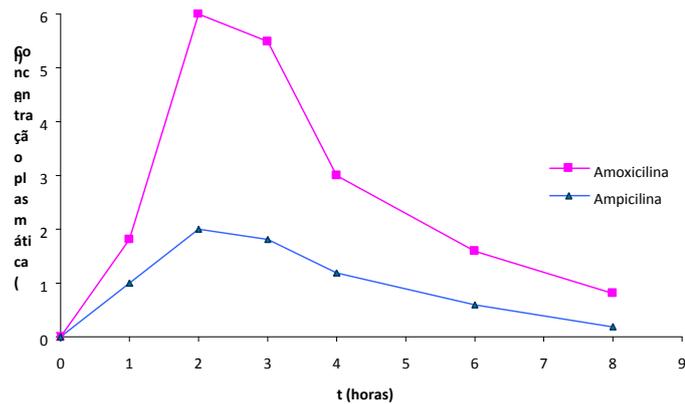


Figura12: Concentrações médias da ampicilina e amoxicilina após administração oral de uma dose única de 500mg destes antibióticos.

Fonte: RIBEIRO; PÁDUA *et al.* (2008)

A amoxicilina é ativa sobre bactérias gram-positivas e sobre algumas gram-negativas. As segundas diferem das primeiras porque possuem uma camada externa de lipopolissacarídeos por cima da camada de peptidoglicanos (GOODMAN; GILMAN, 2012). As aminopenicilinas têm maior facilidade de atravessar essa membrana lipopolissacarídica, por serem mais hidrofílicas, permitindo, assim, que se atinjam concentrações terapêuticas eficazes nos locais de ação. A menos que seja acompanhada de um inibidor de β -lactamases, a sua ação torna-se ineficaz caso a bactéria em causa seja produtora dessas enzimas. Os inibidores utilizados têm

a capacidade de se ligarem eles próprios às β -lactamases, deixando a amoxicilina livre para a sua atuação, melhorando a sua eficiência. Um exemplo de um inibidor bastante utilizado é o do ácido clavulânico (GEDDES *et al.*, 2007, REYNS; DE BAERE *et al.*, 2006), que apresenta uma estrutura molecular bastante semelhante à das penicilinas (Figura 13).

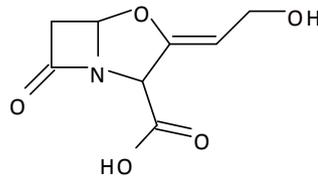


Figura 13: Estrutura molecular do ácido clavulânico.

É possível que a degradação da amoxicilina em ácido amoxiciloico conduza, por sua vez, a outros compostos: o ácido amoxiloico (o correspondente na amoxicilina ao ácido peniloico) e à amoxicilina dicetopiperazina (VALVO; CIRANNI *et al.*; 1998, DE BAERE, S., CHERLET, M. *et al.*; 2002, NAGELE; MORITZ, 2005a; 2005b; 2005c, REYNS; DE BAERE *et al.*, 2008). A figura 14 apresenta os principais metabólitos da amoxicilina.

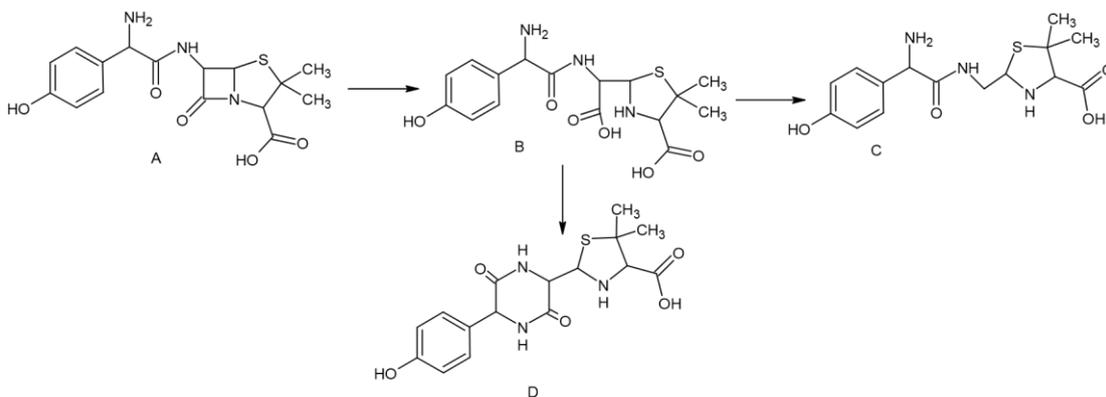


Figura 14: Degradação da amoxicilina. A- Amoxicilina; B – Ácido amoxicilóico; C – Ácido Amoxilóico; D – Amoxicilina dicetopiperazina

2.7. Uso de antibióticos e malformações congênitas

O uso de medicamentos durante a gestação compreende uma situação única, na qual a exposição à determinada droga envolve dois organismos - mãe e feto. A exposição do feto ao medicamento pode ter consequências imprevisíveis e irreversíveis, como alterações no

desenvolvimento físico e neurocomportamental do recém-nascido (MANTOVANI; CALAMANDREI, 2001).

Alguns estudos conduzidos no Brasil mostram que entre 83,8% (MENGUE, *et al.*, 2001) e 97,6% (GOMES *et al.*, 1999) das gestantes no país são expostas a, pelo menos, um medicamento durante a gestação, com uma média de 4,2 medicamentos por gestação (MENGUE, *et al.*, 2001). Nestes estudos, a exposição a antibióticos no período gestacional esteve em torno de 11% a 15% das gestantes, sendo que a grande maioria foi motivada por infecções urinárias ou respiratórias (MENGUE, *et al.*, 2001).

Os exemplos de infecções mais comuns durante a gestação são as do trato urinário, que devem ser tratadas adequadamente para que não comprometam a saúde materna e fetal. Tais infecções, se não forem tratadas, podem ser transferidas ao feto, induzir nascimentos prematuros e de crianças com baixo peso (CHRISTENSEN, 2000). Alguns autores relatam que infecções urinárias não tratadas em gestantes estão associadas a um aumento de até 50% no risco de nascidos de baixo peso e de parto prematuro, eclâmpsia, hipertensão e anemias, além de endometriose pós-parto (CHRISTENSEN, 2000).

As infecções urinárias, como bacteremias, cistites e pielonefrites, estão entre as mais comuns, estimando-se que 2% a 7% de todas as mulheres desenvolvem algum tipo de infecção urinária na gestação, as quais deverão ser tratadas com o auxílio de fármacos de ação antibacteriana (DASHE; GILSTRAP, 1997).

O risco fetal pelo uso de fármacos sempre vai existir, pois os antibióticos, em geral, apresentam baixo peso molecular facilitando sua difusão através da placenta e excreção pelo leite, expondo o feto e o neonato aos seus possíveis efeitos tóxicos (DASHE; GILSTRAP, 1997). Há necessidade de se estabelecer uma relação risco-benefício ao utilizar antibióticos em gestantes, ou seja, deve-se questionar se o benefício da utilização de um antibiótico na gestante é maior do que o risco de possíveis alterações no feto. Se a resposta for afirmativa e a terapêutica estabelecida, há a necessidade de o clínico conhecer muito bem os possíveis riscos a que o feto estará exposto em função do antibiótico que será escolhido para iniciar a terapia (CZEIZEL *et al.*, 1998).

Os dados relativos à segurança e eficácia do uso de antibióticos durante a gestação ainda são muito escassos em virtude da dificuldade de se estudar a ação desses fármacos em fetos e neonatos. Os estudos clínicos e epidemiológicos relacionados à segurança de antibióticos, por questões éticas e legais, são realizados em mulheres não gestantes e seus resultados extrapolados para gestantes. Além disso, diversas alterações fisiológicas que ocorrem na gestante interferem diretamente na farmacocinética dos antibióticos, podendo levar a

aumentos na concentração plasmática e efeitos tóxicos desses fármacos ou, ainda, a concentrações plasmáticas inibitórias, anulando o efeito do antibiótico, trazendo como consequência o insucesso terapêutico e o aparecimento de resistência bacteriana (LOEBSTEIN *et al.*, 1997).

O grupo das penicilinas é, sem dúvida, o grupo de antibióticos mais prescrito para gestantes (CZEIZEL *et al.*, 2001). Todas as penicilinas são classificadas na categoria B do FDA (*Food and Drug Administration*). As razões para isso são seu próprio mecanismo de ação, atuando em uma estrutura - parede celular, presente apenas na bactéria, o que aumenta muito sua toxicidade seletiva e, finalmente, por ser a classe de antibióticos mais antiga, com pelo menos 60 anos de experiência clínica (CZEIZEL *et al.*, 2001).

As penicilinas são utilizadas em gestantes principalmente para o tratamento de sífilis, infecções das vias aéreas superiores associadas a estreptococos do grupo B, infecções enterocócicas e em regimes profiláticos para endocardite bacteriana (DASHE; GILSTRAP, 1997). Para o tratamento de infecções urinárias, o uso de agentes beta-lactâmicos, como as penicilinas, tem sido cada vez menor em virtude do constante aumento nos índices de resistência de *Escherichia coli*, principal agente causador dessas infecções. Os fármacos mais prescritos do grupo são: a penicilina G, fenoximetilpenicilina, ampicilina, amoxicilina, associada ou não ao ácido clavulânico (CHRISTENSEN, 2000), utilizado principalmente para combater a resistência mediada por beta-lactamases (SA DEL FIOL, *et al.*, 2000).

Um estudo realizado na Hungria monitorou o uso de antibióticos por gestantes durante 16 anos e concluiu que das 38.151 mulheres participantes do programa, 17,2% fizeram uso de algum antibiótico e que deste número, 84,3% fizeram uso de algum tipo de penicilina (CZEIZEL *et al.*, 1998). Estudo semelhante foi realizado no Brasil e mostra que dos antibióticos utilizados por gestantes, as penicilinas representaram 54%, seguido das cefalosporinas com 23,4% (FONSECA *et al.*, 2002).

A segurança das penicilinas tem sido estabelecida em muitos estudos clínicos conduzidos nos últimos anos. Esses trabalhos relatam a segurança da fenoximetilpenicilina (penicilina V) (CZEIZEL *et al.*, 1998), pivampicilina (LARSEN *et al.*, 2000), oxacilina (CZEIZEL *et al.*, 1999), amoxicilina (JEPSEN *et al.*, 2003), amoxicilina associada ao ácido clavulânico (CZEIZEL *et al.*, 2001), ampicilina (CZEIZEL *et al.*, 1998) e mostraram a segurança do uso destes fármacos durante o período gestacional.

2.8. Amoxicilina e associação com fissuras labiopalatinas

A amoxicilina é uma penicilina sintética do grupo das aminopenicilinas. As aminopenicilinas atravessam a barreira placentária e desta forma pode potencialmente influenciar na organogênese (NATHANSON *et al.*, 2000). Os antibióticos estão entre as drogas mais prescritas durante a gravidez (MITCHELL *et al.*, 2011). Dentre os antibióticos a amoxicilina é a droga de escolha para o tratamento de infecções respiratórias e urinárias (COOPER *et al.*, 2009), condições frequentemente encontradas em mulheres em idade fértil. Desta forma, é de suma importância para médicos, grávidas e gestores do sistema de saúde terem informações sobre o potencial efeito teratogênico da amoxicilina, visando melhor julgamento entre os riscos e benefícios da droga (CZEIZEL *et al.*, 2001).

Segundo classificação do FDA (*Food and Drug Administration*), órgão governamental dos Estados Unidos da América responsável pelo controle dos alimentos (tanto humano como animal), medicamentos (humano e animal), a amoxicilina é da categoria B, ou seja, estudos em animais não mostraram risco para o feto, porém não há estudos controlados em mulheres grávidas (BRIGGS *et al.*, 2005). Ela tem sido utilizada em todo mundo, durante décadas, para tratamento de infecções em grávidas, conduta embasada em estudos epidemiológicos prévios que não mostravam associação da droga com nenhuma malformação congênita específica (CZEIZEL *et al.*, 2001). No entanto, em 2001, Czeizel *et al.* verificaram que o uso de ampicilina durante o segundo e terceiro mês de gravidez aumenta a prevalência de FL/P, mostrando que a exposição materna as aminopenicilinas podem aumentar o risco desta malformação (CZEIZEL *et al.*, 2001).

Em estudo realizado por Lin *et al.* (2012), levantou-se a hipótese que o grupo aminobenzil presente nas aminopenicilinas pode estar relacionados com o desenvolvimento de fissuras labiopalatinas. Esta hipótese foi baseada no fato de que ao se pesquisar o uso das penicilinas na gravidez foi encontrado aumento no risco de FL/P nos fetos expostos a aminopenicilinas e não as penicilinas (CZEIZEL *et al.*, 2001). Para fortalecer esta associação entre o grupo aminobenzil e a ocorrência de FL/P, o autor mostra que aminas aromáticas presentes no tabaco, que apresentam estruturas químicas similares, também são relacionadas a esta malformação (LITTLE *et al.*, 2004, HONEIN *et al.*, 2007).

Pela importância que o tema representa e pela escassez dos estudos atuais, justifica-se a realização de mais pesquisas para melhor esclarecimento sobre a real segurança das aminopenicilinas, em especial a amoxicilina, durante a gestação, principalmente no primeiro trimestre de gravidez.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar fatores de risco associados à ocorrência de fissuras labiopalatinas não sindrômicas.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar o risco do uso materno de amoxicilina durante o primeiro trimestre gestacional para a ocorrência de fissuras labiopalatinas não sindrômicas.
- Avaliar o risco da história familiar positiva para fissura labiopalatina como fator de risco associado à ocorrência de fissuras labiopalatinas não sindrômicas.
- Avaliar o risco da exposição materna ao tabaco e ao álcool durante o primeiro trimestre gestacional para a ocorrência de fissuras labiopalatinas não sindrômicas

4 METODOLOGIA

Foi realizado estudo epidemiológico do tipo caso-controle. Todos os participantes do grupo caso foram recrutados no Centro de Reabilitação de Anomalias Craniofaciais “Centrinho” de Alfenas no período de 2013 a setembro de 2015. Foram entrevistadas 1.212 mães, que foram divididas em dois grupos: (1) Casos: Mãe de crianças com fissura labiopalatina (n=606), e (2) Controles: mães de crianças sem fissura labiopalatina (n=606). Todos pacientes com fissuras labiopalatina foram diagnosticados de forma independente e avaliadas pela presença ou não de anomalias associadas ou síndromes por equipe multidisciplinar. As entrevistas foram realizadas em uma única sessão, sendo incluídas perguntas sobre o uso de amoxicilina, história familiar de fissuras labiopalatina, exposição ao álcool e ao tabaco. As fissuras foram categorizadas em três grupos tendo como o forame incisivo a referência: (1) Fissura labial (FL); (2) Fissura labiopalatina e (3) fissura palatina.

As informações coletadas foram armazenadas no banco de dados e analisadas utilizando o programa SPSS[®] versão 21.0 para Windows[®]. A análise estatística foi baseada na apresentação de dados analíticos. Para determinar as associações entre os fatores de risco foram calculadas as prevalências e *odds ratios*. Foi utilizado o teste de Qui Quadrado, com intervalo de confiança de 95%. O valor de $p \leq 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo. O estudo foi aprovado pelo Parecer nº73/2007 de 27 de agosto de 2013. Todos participantes foram informados sobre as propostas do estudo antes de assinarem o termo de consentimento.

5 PRODUTOS

5.1 Artigo Científico

Maternal use of amoxicillin and nonsyndromic cleft lip and palate in a Brazilian population

Running title: Maternal use of amoxicillin and cleft lip and palate.

Giovanne Guilherme Coutinho Canela¹, Daniella Reis Barbosa Martelli², Sarah Ormindá Andrade Durães³, Camila Bellini⁴, Luiza Ludmila Coutinho Canela⁵, Mário Sérgio Oliveira Swerts⁶, Hercílio Martelli Júnior^{6,7}

¹MD, Health Science Programme, State University of Montes Claros, Montes Claros, Minas Gerais State, Brazil. giovanecanela@hotmail.com

²PhD, Semiology Clinic, Dental School, State University of Montes Claros, Montes Claros, Minas Gerais, Brazil. daniellareismartelli@yahoo.com.br

³DDS, Dental School, State University of Montes Claros, Montes Claros, Minas Gerais, Brazil. sarahorminda@hotmail.com

⁴DDS, Centre for the Rehabilitation of Craniofacial Anomalies, José do Rosário Vellano University, Alfenas, Minas Gerais State, Brazil. camila.bellini@yahoo.com.br

⁵Graduate Student, School of Medicine, FIP-MOC, Montes Claros, Minas Gerais State, Brazil. llcc@hotmail.com

⁶PhD, Centre for the Rehabilitation of Craniofacial Anomalies, José do Rosário Vellano University, Alfenas, Minas Gerais State, Brazil. mario.sergio@unifenas.br

⁷PhD, Health Science Programme, State University of Montes Claros, Montes Claros, Minas Gerais, Brazil. hmjunior2000@yahoo.com

H Martelli-Júnior, DRB Martelli and MSO Swerts: supervision and orientation of this work; they work in the written and correction of this paper.

GGC Canela, SOA Durães, C Bellini, LLC Canela: review of the literature, clinical interview, data collection and statistical tests.

Conflicts of interest : Nothing to declare.

All authors have registered in the curriculum platform CNPq Lattes.

This study was conducted at the Center for Rehabilitation of Craniofacial Anomalies, University of Alfenas, Minas Gerais, Brazil.

Total count of words of text: 2,479

Total count of words of abstract: 260

Figures number: 0

Tables number: 1

Correspondence and contacts for pre-publication: Hercílio Martelli Júnior, Oral Pathology, Department of Dentistry, State University of Montes Claros, Rua Olegário da Silveira 125/201, Montes Claros, Minas Gerais, Brazil., CEP 39400-092

Tel: +55-38-32121242

E-mail: hmjunior2000@yahoo.com

Introduction: Cleft lip and/or palate (CL/P) represent the most common congenital anomalies of the face

Objective: The purpose of this study was to evaluate the relationship between maternal use of amoxicillin and CL/P

Methods: The study design was an epidemiological case-control single-center study. All participants were recruited from the same institution. We interviewed 1,212 mothers, who were divided into 2 groups: (1) *cases*: mothers of children with CL/P (n=606), and (2) *controls*: mothers of children without CL/P (n=606). The information collected was stored in a database and analysed using statistical program SPSS[®] version 19.0. Statistical analysis was initially based on the presentation of descriptive data. To determine association among maternal use of amoxicillin, and occurrence of CL/P, prevalence odds ratios were calculated

Results: Of the 606 patients with clefts, 340 (56.10%) were born with CLP, 157 (25.9%) with CL and 109 (17.98%) with isolated CP. Of all participants (n=1,212), 225 (18.6%) presented a positive history of cleft in their families and 975 (80.4%) presented a negative history and 12 (1%) not inform. With respect to maternal use of amoxicillin, of 1,212 mothers, 1,153 (95.1%) was assessed, these, 561 (48.7%) cases and 592 (51.3%) controls. The proportion the mothers with amoxicillin use in the first trimester of pregnancy was smaller in the cases (32; 5.70%) than in the controls (35; 5.91%).

Conclusion: Our results found no association between maternal use of amoxicillin in the first trimester of pregnancy and CL/P. The identification of modifiable risk factors for CL/P, such as maternal use of amoxicillin, is the first step toward primary prevention.

Key words: Cleft lip, cleft palate, pregnancy, amoxicillin.

Introduction

The embryological development of face relies on the interplay of a vast range of factors including cell differentiation, growth, apoptosis, cell to cell adhesion, and inter/intracellular signaling. Disruption of a gene that controls one or more of these factors, inhibition of cell function by environmental teratogens or a combination of both situations is likely to be the etiological cause of craniofacial malformations such as nonsyndromic cleft lip and/or palate (NSCL/P)¹.

NSCL/P (OMIM #119530) represents the most frequent congenital malformation in head and neck region, with a prevalence ranging from 1:500 to 1:2500 live births². It varies according to ethnicity (Africans: 0.3:1,000; Europeans: 1.3:1,000; Asians: 2.1:1,000; Native Americans: 3.6:1,000) and socioeconomic level². In Brazil, the prevalence of NSCL/P ranges from 0.36 to 1.54:1,000 live births^{3,4}.

Around 70% of NSCL/P and 50% of cleft palates (CP) are considered nonsyndromic, i.e., consisting of isolated anomalies with no other apparent cognitive or structural abnormalities⁵. Although it is not a major cause of mortality in developed countries, NSCL/P does cause considerable morbidity in affected children and imposes substantial expenses specially for families with low socioeconomic status⁶. Individuals with NSCL/P are subject to difficulties with eating, speaking, hearing and social integration and increased risk of cancer^{5,7}.

NSCL/P is caused by a complex interplay between environmental exposure, genetic and epigenetic factors. Even though in the past decade multiple genetic variants were associated with NSCL/P, providing valuable insights into its genetic etiology, the susceptibility genes identified so far only account for a small percentage of cases⁸. The identification of modifiable risk factors for NSCL/P is the first step toward primary prevention. Risk factors such as maternal exposure to tobacco smoke, alcohol, poor nutrition,

gender, maternal age and medicinal drugs in the workplace or at home in early pregnancy have been investigated⁸⁻¹¹.

Antibiotics are frequently prescribed during pregnancy¹². In observational studies, maternal use of antibiotics has been associated with an increased risk of several malformations including NSCL/P¹³⁻¹⁴. Among antibiotics, amoxicillin has been the preferred drug for treatment of respiratory and urinary tract infections¹⁵, which are frequent in women of childbearing age. Thus, it is particularly important for clinicians, pregnant women and public-health officials to know potential teratogenic effects of amoxicillin in order to make risk-benefit judgments on its use early in pregnancy¹⁶.

Very few studies have evaluated the influence of environmental factors in Brazilian individuals with NSCL/P, specially use of antibiotics during pregnancy. The purpose of this study was to evaluate the relationship between maternal use of amoxicillin and NSCL/P.

Methods

The study design was an epidemiological case-control single-center study. All participants were recruited from the same institution (Centre for Rehabilitation of Craniofacial Anomalies, Minas Gerais State, Brazil), between August 2013 and September 2015, in an attempt to select cases and control individuals with similar ethnicities and social-culture backgrounds. The aforementioned Reference Center treats exclusively patients from the public health care system (SUS), being certified by the Ministry of Health.

We interviewed 1,212 mothers, who were divided into 2 groups: (1) *cases*: mothers of children with NSCL/P (n=606), and (2) *controls*: mothers of children without NSCL/P (n=606) (these patients were assisted in General Clinics). All mothers were further classified as use or not use of amoxicillin during the first trimester of pregnancy.

All of the subjects were from Minas Gerais, Brazil, where there is an admixed population of Europeans (mostly from Portugal and Italy) and Africans, with a small percentage of native Brazilian Indians¹⁷. With regard to skin color, most of the patients in both groups were non-Caucasian.

All cleft patients were diagnosed independently and screened for the presence of associated anomalies or syndromes by a multidisciplinary team of specialists. From both groups we excluded the mothers who did not accept to participate in the study, children with syndromes and parents from consanguineous marriages. Mothers who were unsure of the use of amoxicillin in the first trimester of pregnancy were also excluded.

The interviews were conducted at a single time and after the scheduled attendance at that session. The interview includes questions on maternal use of amoxicillin, family history of clefts, exposure to tobacco smoke, and alcohol. Mothers with exposure to tobacco and alcohol were classified as users or non-users. To the question on use of amoxicillin was presented a list with the trade names available. We defined exposure as systemic use of amoxicillin during the first trimester of pregnancy. The measurements were undertaken by a team of trained research assistants at Center for Rehabilitation of Craniofacial Anomalies. Intraclass correlation coefficients were calculated to check concordance intra and interobserver. The concordances were high and significant.

The clefts were categorized into three groups with the incisive foramen as reference: (1) Cleft Lip (CL): includes complete or incomplete pre-foramen clefts, either unilateral or bilateral; (2) Cleft Lip and Palate (CLP): includes unilateral or bilateral transforamen clefts and pre- or post-foramen clefts; (3) Cleft Palate (CP): includes all post-foramen clefts, complete or incomplete¹⁸.

The information collected was stored in a database and analysed using statistical program SPSS[®] version 19.0 (*Statistical Package for Social Sciences for Windows, Inc.*,

USA). Statistical analysis was initially based on the presentation of descriptive data. To determine association among maternal use of amoxicillin, and occurrence of NSCL/P, prevalence odds ratios were calculated. Analyses were then performed, using the chi square test, with a confidence interval of 95% and p value ≤ 0.05 considered statistically significant. Then also was tested the association between the family history of clefts, exposure to tobacco smoke, alcohol, and the occurrence of NSCL/P.

This study was approved by the Ethics Committee in Research of the University (761.621/2014). All patients were informed about the study's purpose before they consented to participate.

Results

A total of 1,212 women were interviewed including 606 mothers of children with NSCL/P (cases) and 606 mothers of infants with no major birth defects (controls). Of 1,212 children included in the analysis, there was a predominance of males (54.78%). In the group case, 273 (45.04%) were female and 333 (54.95%) male, while, in the control group, 272 (44.9%) children were female and 334 (55.1%) male. No differences were found between groups ($p=0.942$).

Of the 606 patients with clefts, 340 (56.10%) were born with CLP, 157 (25.9%) with CL and 109 (17.98%) with isolated CP. Of all participants ($n=1,212$), 225 (18.6%) presented a positive history of cleft in their families and 975 (80.4%) presented a negative history and 12 (1%) not inform. Of 225 patients with positive family history of clefts, 184 (81.8%) were in the case group and 41 (18.2%) in the control group ($p=0.000$).

Of 1,212 mothers, 1,192 (98.4%) was assessed for tobacco use in the first trimester of pregnancy, these, 591 (49.6%) were cases and 601 (50.4%) were controls. The most evaluated mothers (1,062; 89.1%) have not had exposure to tobacco. Into the case group, a greater

proportion of mothers (97; 16.4%) were exposed to tobacco in the first trimester of pregnancy compared to control group, where only 33 (5.5%) them were exposed to tobacco in the first trimester pregnancy ($p=0.000$). Considering the association between maternal smoking and clefts in gender separately, also, was founded association in both genders, female ($p=0.004$) and male ($p=0.000$).

Of 1,212 mothers, 996 (82.2%) was assessed for alcohol use in the first trimester of pregnancy, 426 (41.8%) cases and 580 (58.2%) controls. There was association between cases and controls ($p=0,000$), with greater proportion of cases (59 – 13.84%) than controls (45 – 7.75%) with alcohol use during the first trimester of pregnancy. Evaluating the genders separately, the association between maternal alcohol using and clefts was significant in both, females ($p=0.037$) and males ($p=0.009$).

With respect to maternal use of amoxicillin, of 1,212 mothers, 1,153 (95.1%) was assessed, these, 561 (48.7%) cases and 592 (51.3%) controls. The proportion the mothers with amoxicillin use in the first trimester of pregnancy was smaller in the cases (32; 5.70%) than in the controls (35; 5.91%) ($p=0.008$). The results are presented in Table 1.

Discussion

Most nonsyndromic oral clefts are thought to be caused by interaction between polygenic and environmental factors, but the exact mechanisms remain unknown^{8,19}. The patients described in this study were recruited from the Centre for Rehabilitation of Craniofacial Anomalies, Minas Gerais State, Brazil. This Service is considered one of the largest cleft repair centres in Brazil, and performs all procedures of rehabilitation that pass through the Brazilian Public Health System^{9,10}. With a population exceeding 190 million people and 3 million babies born every year, NSCL/P is an important public health problem in Brazil, with approximately 4,000 new cases of clefts every year¹⁰.

In the present study, the group with NSCL/P included 333 (54.95%) male and 273 (45.04%) female. Of the 606 patients with clefts, 340 (56.10%) were born with CLP, 157 (25.9%) with CL and 109 (17.98%) with isolated CP. In a previous study that we carried out with the Brazilian population, 126 patients with oral cleft showed a 1:3 ratio of males to females. Males were 2.57 times more affected by CLP than females. CLP, with a prevalence of 39.68%, and isolated CL, with a prevalence of 38.09%, were the most common anomalies, followed by isolated CP (22.23%)³. In another recent study by us also in a Brazilian population, involving 843 patients with oral clefts, 474 (56.2%) were male and 369 (43.8%) were female¹¹. With respect to the distribution of clefts, it was found that of the 843 NSCL/P, 680 (80.7%) were CL/P and 163 (19.3%) were isolated CP¹¹. These results confirm the findings of this study.

With respect to family history for oral clefts, our study showed that 225 (18.60%) patients presented a positive history of cleft in their families. Of 225 patients with positive family history, 184 (81.80%) were in the case group and 41 (18.20%) of the control group. In a study in Brazil, between 2004-2008 years, a positive familial history of cleft malformation was found in 35.13% of cases²⁰. A study investigating 4,557 affected children born in Czechoslovakia over a period of 29 years, registered a positive familial history in 18% of cases²¹. In one study comprised of 540 individuals with NSCL/P in Poland, also registered a positive familial history in 18% of cases²². In another study comprised of 153 individuals with NSCL/P in Thailand, registered a positive familial history in 17.7% of cases²³. The results of these various studies in different countries, showed results similar to our observed in a Brazilian population.

Maternal smoking has long been considered a risk factor for the occurrence of oral clefts^{8,11,24}. In our study, the mothers group case (n=591), 97 (16.40%) were exposed to smoking in the first trimester of pregnancy, while in the control group, of 601 mothers, only

33 (5.50%) were exposed to smoking in the first trimester pregnancy ($p=0.000$). This result is relevant and consistent with previous literature data. In a previous study, we evaluated 1,519 mothers, and 25% of them in the case group were smoker. There was an association between maternal smoking and clefts (odds ratio, OR=2.02, CI95%, 1.54–2.63). Maternal smoking was also associated with CLP (OR= 2.08, CI95%, 1.58–2.75) and with CP (OR=1.92, CI95%, 1.26–2.92)¹¹. Honei et al (2007)²⁴ have shown that periconceptional smoking was associated with CLP (OR=1.3; 95% CI, 1.0 –1.6), and more strongly associated with bilateral CLP (1.7; 1.2–2.6), with a weaker association observed for CP.

Of 1,212 mothers, 996 (82.2%) was assessed for alcohol use in the first trimester of pregnancy, 426 (41.8%) cases and 580 (58.2%) controls. There was association between cases and controls ($p=0,000$), with greater proportion of cases (59 – 13.84%) than controls (45 – 7.75%) with alcohol use during the first trimester of pregnancy. In animal model, a study on eight pregnant mice provided with alcohol and cocaine found a significant increase in the number of dead fetuses and anomalies of the head such as hydrocephaly and complete orofacial craniofacial²⁵. The evidence about alcohol consumption and NSCL/P was tenuous when the mother had not a ‘binge’ drinking patterns (high doses of alcohol in short periods of time). Likewise, the risk estimates were only minimally influenced after simultaneous adjustment for maternal cigarette smoking, race and ethnicity, education and multivitamin use^{26,27}.

The most commonly prescribed drugs in pregnancy, after prenatal vitamins, are antibiotics²⁸. Among antibiotics, amoxicillin has been the preferred drug for the treatment of respiratory and urinary tract infections, conditions frequently encountered in women of childbearing age¹⁵. Thus, it is particularly important for clinicians, pregnant women, and public health officials to have information on the potential teratogenic effects of amoxicillin in order to make risk-benefit judgments on its use early in pregnancy¹². Amoxicillin can cross

the placenta and could potentially influence fetal organogenesis²⁹, and the development of oral clefts¹⁶.

In the present study, with respect to maternal use of amoxicillin, of 1,212 mothers, 1,153 (95.10%) was assessed, these, 561 (48.70%) cases and 592 (51.30%) controls. The proportion the mothers with amoxicillin use in the first trimester of pregnancy was smaller in the cases (32; 5.70%) than in the controls (35; 5.90%). Lin et al (2012)¹⁶ showed that maternal use of amoxicillin was associated with an increased risk of CL/P (adjusted OR=2.0 [95% CI=1.0-4.1]), with an OR of 4.3 (1.4-13.0) for third-gestational-month use. For CP, the OR for first-trimester amoxicillin was 1.0 (0.4-2.3), with an OR of 7.1 (1.4-36.4) for third-gestational-month use. In another study it was shown that major congenital malformations identified from computerized records were confirmed through medical record review. Overall, 869 (2.9%) of infants in the cohort had a confirmed major congenital malformation, with major malformations ranging from 2.5%-3.0% among the antibiotic-specific exposure groups¹⁵.

However, other studies showed no association between amoxicillin and oral clefts. Results from the National Birth Defects Prevention Study did not focus on amoxicillin specifically and did not identify a positive association between penicillins and oral clefts³⁰. Nielsen and Hviid (2012)³¹ conducted a cohort study of 806011 live births in Denmark from 1996 through September 2008. Overall, they didn't find antibiotic use in the first trimester to significantly increase the risk of NSCL/P. Czeizel et al (2001)³² observed that treatments with ampicillin during the second and third months of gestation, which is the critical period for major congenital abnormalities, pose little if any teratogenic risk in human beings. Only a higher prevalence of isolated CP was found in the study and is considered as a hypothesis-generating findings. Our results found no association between maternal use of amoxicillin in the first trimester of pregnancy and NSCL/P. Limitations of our study were the relatively

small number of patients that made use of amoxicillin. Studies with larger samples are needed to better understand the possible relationships between maternal use of amoxicillin and oral clefts.

Conclusion

In summary, the study found no association between maternal use of amoxicillin in the first trimester of pregnancy and NSCL/P. The identification of modifiable risk factors for NSCL/P such as maternal use of amoxicillin is the first step toward primary prevention. Further studies are necessary to confirm or exclude this possible association.

Acknowledgments

This work was supported by grants from Research Support Foundation of Minas Gerais – FAPEMIG, National Council for Scientific and Technological Development – CNPq (HMJ and MSOS), Coordination of Improvement of High Education Personnel (CAPES) and Procad/Casadinho.

References

1. Prescott NJ, Malcolm S. Folate and the face: evaluating the evidence for the influence of folate genes on craniofacial development. *Cleft Palate Craniofac J.* 2002;39:327–31.
2. Rahimov F, Jugessur A, Murray JC. Genetics of nonsyndromic orofacial clefts. *Cleft Palate Craniofac J.* 2012;49:73-91.
3. Martelli-Junior H, Porto LV, Martelli DR, Bonan PR, Freitas AB, Coletta R. Prevalence of nonsyndromic oral clefts in a reference hospital in the state of Minas Gerais, Brazil, between 2000-2005. *Braz Oral Res.* 2007;21:314-7.
4. Rodrigues K, Sena MF, Roncalli AG, Ferreira MA. Prevalence of orofacial clefts and social factors in Brazil. *Braz Oral Res.* 2009;23:38-42.
5. Marazita ML. The evolution of human genetic studies of cleft lip and cleft palate. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2012;13:263-83.
6. Wehby G, Cassell CH. The impact of orofacial clefts on quality of life and healthcare use and costs. *Oral Dis.* 2010;16:3–10.
7. Popoff DAV, Coelho MP, Martelli DRB, Saini R, Coletta RD, Martelli-Júnior H. 2013. Nonsyndromic oral clefts and risk of cancer: a systematic review. *Dentistry 3000* 1:1-7.
8. Dixon MJ, Marazita ML, Beaty TH, Murray JC. Cleft lip and palate: understanding genetic and environmental influences. *Nat Rev Genet.* 2011;12:167-78.
9. Bufalino A, Paranaíba LMR, Aquino SN, Martelli-Júnior H, Swerts MSO, Coletta RD. Maternal polymorphisms in folic acid metabolic genes are associated with nonsyndromic cleft lip and/or palate in the Brazilian population. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol.* 2010;88:980-6.
10. Martelli DRB, Cruz KM, Barros LM, Silveira MF, Swerts MSO, Martelli-Júnior H. Maternal and paternal age, birth order and interpregnancy interval evaluation for cleft lip-palate. *Braz J Otorhinolaryngol.* 2010;76:107-12.

11. Martelli DR, Coletta RD, Oliveira EA, Swerts MS, Rodrigues LA, Oliveira MC, Martelli Júnior H. Association between maternal smoking, gender, and cleft lip and palate. *Braz J Otorhinolaryngol*. 2015;81:514-9.
12. Olesen C, Steffensen FH, Nielsen GL, Jong van de Berg L, Olsen J, Sorensen HT. Drug use in first pregnancy and lactation: a population-based survey among Danish women. The EUROMAP Group. *Eur J Clin Pharmacol*. 1999;55:139-44.
13. Puho EH, Szunyogh M, Metneki J, Czeizel AE. Drug treatment during pregnancy and isolated orofacial clefts in Hungary. *Cleft Palate Craniofac J*. 2007;44:194-202.
14. Saxen I. Associations between oral clefts and drugs taken during pregnancy. *Int J Epidemiol*. 1975;4:37-44.
15. Cooper WO, Hernandez-Diaz S, Arbogast PG, Dudley JA, Dyer SM, Gideon PS, Hall KS, Kaltenbach LA, Ray WA. Antibiotics potentially used in response to bioterrorism and the risk of major congenital malformations. *Paediatr Perinat Epidemiol*. 2009;23:18-28.
16. Lin KJ, Mitchell AA, Yau WP, Louik C, Hernández-Diaz S. Maternal exposure to amoxicillin and the risk of oral clefts. *Epidemiology*. 2012;23:699-705.
17. de Aquino SN, Messetti AC, Bagordakis E, Martelli Júnior H, Swerts MSO, Graner E, Coletta RD. Polymorphisms in FGF12, VCL, CX43 and VAX1 in Brazilian patients with nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate. *BMC Med Genet*. 2013;14:53-7.
18. Spina V, Psillakis JM, Lapa FS, Ferreira MC. Classification of cleft lip and cleft palate. Suggested changes. *Rev Hosp Clin Fac Med São Paulo*. 1973;27:5-6.
19. Machado RA, Moreira HS, de Aquino SN, Martelli-Junior H, de Almeida Reis SR, Persuhn DC, Wu T, Yuan Y, Coletta RD. Interactions between RAD51 rs1801321 and maternal cigarette smoking as risk factor for nonsyndromic cleft lip with or without cleft palate. *Am J Med Genet A*. 2016;170:536-9.

20. Martelli DRB, Bonan PRF, Soares MC, Paranaíba LM, Martelli-Júnior H. Analysis of familial incidence of non-syndromic cleft lip and palate in a Brazilian population. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2010;15:898-901.
21. Peterka M, Peterkova R, Halaskova M, Tvrdek M, Fara M, Likovsky Z. Sex differences in the incidence of cleft and question of primary prevention in families with genetic risk. *Acta Chir Plast*. 1996;38:57-60.
22. Shields ED. Cleft palate: A genetic and epidemiologic investigation. *Clin Genet*. 1981;20:13-24.
23. Jaruratanasirikul S, Chichareon V, Pattanapreechawong N, Sangsupavanich P. Cleft lip and/or palate: 10 years experience at a pediatric cleft center in Southern Thailand. *Cleft Palate Craniofac J*. 2008;45:597-602.
24. Honein MA, Rasmussen SA, Reefhuis J, Romitti PA, Lammer EJ, Correa A. Maternal smoking and environmental tobacco smoke exposure and the risk of orofacial clefts. *Epidemiology*. 2007;18:226-33.
25. Al-Motabagani MA, Mohamed AS. Congenital malformations in mice induced by addiction to alcohol and cocaine. *East Afr Med J*. 2005;82:433-8.
26. Shaw GM, Lammer EI. Maternal periconceptional alcohol consumption and risk for orofacial clefts. *J. Pediatr*. 1999;134:298-303.
27. Wyszynski DF, Wu T. Prenatal and perinatal factors associated with isolated oral clefting. *Cleft Palate Craniofac J*. 2002;39:370-5.
28. Mitchell AA, Gilboa SM, Werler MM, Kelley KE, Louik C, Hernandez-Diaz S. Medication use during pregnancy, with particular focus on prescription drugs: 1976-2008. *Am J Obstet Gynecol*. 2011;205:51-8.
29. Nathanson S, Moreau E, Merlet-Benichou C, Gilbert T. In utero and in vitro exposure to beta-lactams impair kidney development in the rat. *J Am Soc Nephrol*. 2000;11:874-84.

30. Crider KS, Cleves MA, Reefhuis J, Berry RJ, Hobbs CA, Hu DJ. Antibacterial medication use during pregnancy and risk of birth defects. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2009;163:978-85.
31. Nielsen DM, Hviid A. Maternal use of antibiotics and the risk of orofacial clefts: a nationwide cohort study. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.* 2012;21:246-53.
32. Czeizel AE, Rockenbauer M, Sorensen HT, Olsen J. A population based case-control teratologic study of ampicillin treatment during pregnancy. *Am J Obstet Gynecol.* 2001;185:140-7.

Table 1. Factors associated with the occurrence of nonsyndromic cleft lip and/or palate between the case and control groups.

Variables	Case n (%)	Control n (%)	OR	IC	<i>p</i> -value
Gender					
Female	273 (45.04)	272 (44.90)	1.00		
Male	333 (54.95)	334 (55.10)	1.01	0.80-1.27	0.942
Family history of cleft					
Yes	184 (30.9)	41 (6.80)	1.00		
No	411 (69.1)	564 (93.2)	6.16	4.29-8.84	<i>p</i> <0.001
Maternal smoking					
No	494 (83.6)	568 (94.5)	1.00		
Yes	97 (16.4)	33 (5.50)	0.30	0.20-0.45	<i>p</i> <0.001
Maternal alcohol use					
No	367 (86.15)	535 (92.24)	1.00		
Yes	59 (13.84)	45 (7.75)	0.49	0.29-0.84	0.009
Maternal use of amoxicillin					
No	529 (94.29)	557 (94.08)	1.00		
Yes	32 (5.70)	35 (5.91)	3.05	1,42-6,51	0,8

6 CONCLUSÕES

Após a realização do estudo e conforme os objetivos propostos e os resultados apresentados, concluiu-se que não se encontrou associação entre o uso materno de amoxicilina no primeiro trimestre da gravidez e fissuras de lábio e/ou palato não sindrômicas. Foi demonstrado que o uso de tabaco no primeiro trimestre de gestação tem associação com fissuras de lábio e/ou palato não sindrômicas, reforçando achados na literatura. A história familiar positiva para fissuras de lábio e/ou palato não sindrômicas é fator de risco para a má formação. Não foi encontrada associação entre o uso materno de álcool no primeiro trimestre de gestação e fissuras de lábio e/ou palato não sindrômicas.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As limitações do presente estudo foram o número limitado de gestantes que fizeram uso de amoxicilina no primeiro trimestre de gravidez. Estudos com amostras maiores são necessários para entender melhor as possíveis associações entre as fissuras de lábio e/ou palato não sindrômicas e o uso de amoxicilina no primeiro trimestre de gestação.

REFERÊNCIAS

- ALTMANN, E. B. C. **Fissuras labiopalatinas**. Carapicuíba: Pró-Fono, 1997.
- AQUINO, S. N.; PARANAÍBA, L. M. R.; MARTELLI, D. R. B.; SWERTS, M. S. O.; BARROS, L. M.; BONAN, P. R. F.; MARTELLI JÚNIOR, H. Study of patients with cleft lip and palate with consanguineous parents. **Braz J Otorhinolaryngol**. 2011; 77:19-22.
- BENDER, P. L. Genetics of cleft lip and palate. **J Pediatr Nurs**. 2000; 15:242-9.
- BIRNBAUM, S; REUTTER, H; MENDE, M; DE ASSIS, N. A; DIAZ-LACAVA, A; ERMS, S; *et al*. Further evidence for the involvement of MYH9 in the etiology of non-syndromic cleft lip with or without cleft palate. **Eur J Oral Sci**. 2009; 117:200-3.
- BRAND, R; ISSELHARD, D. **Anatomy of orofacial structures**. St. Louis: Mosby, 2003.
- BRIGGS, G. G; FRK; YAFFE, S. J. **Drugs in pregnancy and lactation: A reference guide to fetal and neonatal risk**. Philadelphia, PA: Lippincott Williams & Wilkins; 2005.
- CAPELOZZA, F. L; SILVA, F. O. G. Fissuras labiopalatais *In*: PETRELLI, E. **Ortodontia para fonoaudiologia**. Lovise, 1992.
- CARDOSO, M. S. O; CALDAS JÚNIOR, A. de F.; JOVINO-SILVEIRA, R. C. Saúde bucal e qualidade de vida em pacientes fissurados. **J Bras Odonto-Psicol Odontol Pacientes Espec**. 2005; 1:92-8.
- CARSTENS, M. Development of the facial midline. **J Craniofac Surg**. 2002; 13:129-187.
- CERQUEIRA, M. N; TEIXEIRA, S. C; NARESSI, S. C. M; FERREIRA, A. P. P. Ocorrência de fissuras labiopalatais na cidade de São José dos Campos. **Rev Bras Epidemiol**. 2005; 8:161-6.
- CHRISTENSEN, B. Which antibiotics are appropriate for treating bacteriuria in pregnancy? **J Antimicrob Chemother**. 2000, 46:29-34.
- COBOURNE, M. T. The complex genetics of cleft lip and palate. **Eur J Orthod**. 2004; 26:7-16.
- COOPER, W.O.; HERNANDEZ-DIAZ, S.; ARBOGAST, P. G.; DUDLEY, J. A.; DYER, S. M.; GIDEON, P. S.; HALL, K. S.; KALTENBACH, L.A.; RAY, W. A. Antibiotics potentially used in response to bioterrorism and the risk of major congenital malformations. **Paediatr Perinat Epidemiol**. 2009; 23:18–28.
- CUERVO, R; COVARRUBIAS, L. Death is the major fate of medial edge epithelial cells and the cause of basal lamina degradation during palatogenesis. **Development**. 2004; 131:15-24.

- CZEIZEL, A. E.; ROCKENBAUER, M.; SORENSEN, H. T.; OLSEN, J. Augmentin treatment during pregnancy and the prevalence of congenital abnormalities: a population-based case-control teratologic study. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.** 2001; 97:188-192.
- CZEIZEL, A. E.; ROCKENBAUER, M.; SORENSEN, H. T.; OLSEN, J. Teratogenic evaluation of oxacillin. **Scand J Infect Dis.** 1999; 31:311-2.
- CZEIZEL, A. E.; ROCKENBAUER, M.; OLSEN, J. Use of antibiotics during pregnancy. **Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.** 1998, 81:1-8.
- CZEIZEL, A.E.; ROCKENBAUER, M.; SORENSEN, H. T.; OLSEN, J. A population-based case-control teratologic study of ampicillin treatment during pregnancy. **Am J Obstet Gynecol.** 2001; 185:140-7.
- DASHE, J. S; GILSTRAP, L. C. Antibiotic use in pregnancy. **Obstet Gynecol Clin North Am.** 1997; 24:617-29.
- DAVIS, J. S; RITCHIE, H. F. **Classification of congenital clefts of the lip and palate.** Dent Cosmos, 1923; 65:661.
- DE BAERE, S., CHERLET, M. *et al*; Quantitative analysis of amoxicillin and its major metabolites in animal tissues by liquid chromatography combined with electrospray ionization tandem mass spectrometry. **Anal Chem.** 2002; 74:1393-401.
- DIEWART, V; SHIOTA, K. Morphological observations in normal primary palate and cleft lip embryos in the Kyoto collection. **Teratology.** 1990; 41:663-77.
- DIXON, M. J; MARAZITA, M. L; BEATY, H. T; MURRAY, J. C; Cleft lip and palate: understanding genetic and environmental influences. **Nature.** 2011; 12:167–78.
- DONAHUE; R. F. Birth variables and the incidence of cleft palate. **Cleft Palate Craniofac J.** 1965; 2:282-90.
- DUARTE, R; LEAL; M. J. Leque das malformações congênicas associadas às fissuras lábio alvéolo palatinas. **Acta Med Portuguesa.** 1999; 12:147-54.
- EMANUEL, I; CULVER, B. H; ERICKSON, J. D. The further epidemiological differentiation cleft and palate: a population of clefts in King Country Washington, 1956-1965. **Teratology.** 1973; 7:271-81.
- FAGERQUIST, C. K., LIGHTFIELD, A. R.; Confirmatory analysis of b-lactam antibiotics in kidney tissue by liquid chromatography/electrospray ionization selective reaction monitoring ion trap tandem mass spectrometry. **Rap Communic Mass Spectrometry.** 2003; 17:660-71.
- FERGUSON, C. A; TUCKER, A. S; SHARPE, P. T. Temporospacial cell interactions regulating mandibular and maxillary arch patterning. **Development.** 2000; 127:403-12.

- FILÉZIO, M. R.; PINTO, E. B.; AQUINO, S. N.; MARTELLI JÚNIOR, H.; SWERTS, M. S. O.; GRANER, E; COLETTA, R. D.; PARANAÍBA, L. M. R. Polymorphisms in GABRB3 and oral clefting in the Brazilian population. **DNA and Cell Biology**. 2013; 32:125-9.
- FOGH-ANDERSEN, P. **Inheritance of harelip and cleft palate contribution to the education of the etiology of the congenital clefts of the face**. Copenhagen: Munksgaard, 1942.
- FONSECA, E. P; REZENDE, J. V. R. Incidência das malformações do lábio e do palato. **Rev Fac Odontol**. São Paulo. 1971; 1:45-58.
- FONSECA, M. R. C. C; FONSECA, E; BERGSTEN-MENDES, G. Prevalence of drug use during pregnancy: a pharmacoepidemiological approach. **Rev Saúde Públ**. 2002; 36:205-12.
- GEDDES, A. M., KLUGMAN, K. P., ROLINSON, G. N. Introduction: historical perspective and development of amoxicillin/clavulanate. **Intl Journal Antimicrob Agents**. 2007; 30:109-12.
- GOMES, K. R; MORON, A. F; SILVA, R; SIQUEIRA, A. A. Prevalence of use of medicines during pregnancy and its relationship to maternal factors. **Rev Saúde Públ**. 1999; 33:246-54.
- GOODMAN; GILMAN. **As bases farmacológicas da terapêutica**. 12^a Ed. Rio de Janeiro: McGraw-Hill, 2012.
- GROSEN, D.; BILLE, C.; PEDERSEN, J. K.; SKYTTE, A.; MURRAY, J. C.; CHRISTENSEN, K. Recurrence risk for offspring of twins discordant for oral cleft: a population based cohort study of the Danish 1936 2004 cleft twin cohort. **Am J Med Genet A**. 2010; 152:2468-74.
- HONEIN, M.A.; RASMUSSEN, S. A.; REEFHUIS, J.; ROMITTI, P. A.; LAMMER, E. J.; SUN, L.; CORREA, A. Maternal smoking and environmental tobacco smoke exposure and the risk of orofacial clefts. **Epidemiology**. 2007; 18:226–33.
- HUANG, J. J; HOU, J. W; TAN, Y. C; CHEN, K. T; LO, L. J; CHEN, Y. R. Van der Woude Syndrome: Clinical Presentation in 64 Patients. **Cleft Palate Craniofac J**. 2007; 44:649-52.
- ITIKALA, P. R.; WATKINS, M. L., MULINARE, J. Maternal multivitamin use and orofacial clefts in offspring. **Teratology**. 2001; 63:79-86.
- ITO, Y; YEO, J. Y; CHYTIL, A; HAN, J; BRINGAS, P; NAKAJIMA, A. Conditional inactivation of Tgfb2 in cranial neural crest causes cleft palate and calvaria defects. **Dev Dis**. 2003; 130:5269-80.
- JEPSEN, P.; SKRIVER, M. V.; FLOYD, A.; LIPWORTH, L.; SCHONHEYDER, H. C.; SORENSEN, H. T. A population-based study of maternal use of amoxicillin and pregnancy outcome in Denmark. **Br J Clin Pharmacol**. 2003; 55:216-21.

- JORDAN, R.; WILSON, J.; SCHUNACHER, H. Embryotoxicity of the folate antagonist methotrexate in rats and rabbits. **Teratology**. 1977; 15:73-80.
- KANAAN, Z. M.; MAHFOUZ, R.; TAMIM, H. The prevalence of consanguineous marriages in an underserved area in Lebanon and its association with congenital anomalies. **Genet Test**. 2008; 12:367-72.
- KERNAHAN, D. A. Classification of cleft lip and palate. *In*: Kernahan DA; Rosenstein SW; Dado DV. (Eds.). **Cleft lip and palate: a system of management**. Baltimore: Williams & Wilkins, 1990.
- KERRIGAN, J; MANSELL, J; SENGUPTA, A; BROWN, N; SANDY, J. Palatogenesis and potential mechanisms for clefting. **J R Coll Surg Edinb**. 2000; 45:351-58.
- KOT, M; KRUK-JEROMINI, J. Analysis of family incidence of cleft lip and/or palate. **Med Sci Monit**. 2007; 13:231-4.
- KRIENS, O. Documentation of cleft lip, alveolus, and palate. *In*: Bardach J; Morris HL. (Ed). **Multidisciplinary management of cleft lip and palate**. Philadelphia: W. B. Saunders, 1990.
- LANGMAN, J. **Abrégé d'Embriologie Medical**. Masson: Montreal, 1982.
- LARSEN, H; NIELSEN, G. L; SORENSEN, H. T; MOLLER, M; OLSEN, J; SCHONHEYDER, H. C. A follow-up study of birth outcome in users of pivampicillin during pregnancy. **Acta Obstet Gynecol Scand**. 2000; 79:379-83.
- LEITE, G. I. C; PAUMGARTEN, R.J.F.; KOIFMAN, S. Oral clefts in the newborn and medical intakes and maternal health conditions: a case-control study in the city of Rio de Janeiro, Brasil. **Rev Bras Saúde Matern Infant**. 2005; 5:35-43.
- LIDRAL, A. C; MORENO, L. M. Progress towards discerning the genetics of cleft lip. **Curr Opin Pediatr**. 2005; 17:731-9.
- LIGON, B. L. Penicillin: Its discovery and early development. **Seminars in Pediatric Infections Diseases**. 2004b; 15:52-7.
- LIGON, B. L; Sir Howard Walter Florey – The force behind the development of Penicillin. **Seminars in Pediatric Infections Diseases**. 2004a; 15:109-14.
- LIN, K. J; MITCHELL. A. A; Yau W. P.; LOUIK, C; HERNÁNDEZ-DIAZ, S. Maternal exposure to amoxicillin and the risk of oral clefts. **Epidemiology**. 2012;23:699-705.
- LITTLE, J.; CARDY, A.; MUNGER, R. G. Tobacco smoking and oral clefts: A meta-analysis. **Bull World Health Organ**. 2004; 82:213–8.
- LOEBSTEIN, R; LALKIN, A; KOREN, G. Pharmacokinetic changes during pregnancy and their clinical relevance. **Clin Pharmacokinet**. 1997; 33:328-43.

- LOFFREDO, L. C. M.; SOUZA, J. M. P.; FREITAS, J. A. S.; MOSSEY, P. A. Oral clefts and vitamin supplementation. **Cleft Palate Craniofac J.** 2001; 38:76-83.
- MANTOVANI A, CALAMANDREI G. Delayed developmental effects following prenatal exposure to drugs. **Curr Pharm Des.** 2001; 7:859-80.
- MARTELLI, D. R. B.; BONAN, P. R. F.; SOARES, M. C.; PARANAÍBA, L. M.; MARTELLI-JÚNIOR, H. Analysis of familial incidence of non-syndromic cleft lip and palate in a Brazilian population. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal.** 2010; 15:898-901.
- MARTELLI, D. R. B; CRUZ, K. M; BARROS, L. M; SILVEIRA, M; SWERTS, M. S. O; MARTELLI-JÚNIOR, H. Maternal and paternal age, birth order and interpregnancy interval evaluation for cleft lip-palate. **Braz J Otorhinolaryngol.** 2010; 76:107-12.
- MARTELLI-JUNIOR, H; CHAVES, M. R; SWERTS, M. S. M; MIRANDA, R. T; BONAN, P. R. F; COLETTA, R. D. Clinical and Genetic Features of Van der Woude Syndrome in Two Large Families in Brazil. **Cleft Palate Craniofac J.** 2006; 44:33-7.
- MARTELLI-JÚNIOR, H; PORTO, L. C; MARTELLI, D. R. B; BONAN, P. R; FREITAS, A. B. COLETTA, R. D. Prevalence of nonsyndromic oral clefts in a reference hospital in Minas Gerais State, between 2000-2005. **Braz Oral Research.** 2007; 21:314-7.
- MARTINEZ-ALVAREZ, C; TUDELA, C; PEREZ-MIGUELSANZ, J; O'KANE, S; PUERTA, J.; FERGUSON, M. Medial edge epithelial cell fate during palatal fusion. **Dev Biol.** 2000; 220:343-57.
- MELNICK, M.; BIXLER, D.; FOGH-ANDERSEN, P.; CONNEALLY, P. M. Cleft lip+-cleft palate: an overview of the literature and an analysis of Danish cases born between 1941 and 1968. **Am J Med Genet.** 1980; 6:83-97.
- MENEZES, V. A. **Aspectos epidemiológicos das malformações congênitas labiopalatais, no Estado de Pernambuco.** Camaragibe, 1988.
- MENGUE, S. S; SCHENKEL, E. P; DUNCAN, B. B; SCHMIDT, M. I. Drug use by pregnant women in six Brazilian cities. **Rev Saúde Públ.** 2001; 35:415-20.
- MILLARD JR., R. **Cleft Craft: the evolution of its surgery.** I. The unilateral deformity. Boston: Little, Brown and Company; 1976.
- Missouri Monthly Vital Statistics. Missouri Department Health. **Center for Health information Management and Epidemiology.** Jefferson City, Missouri. 2000; 34-41.
- MITCHELL, A. A.; GILBOA, S. M; WERLER, M. M.; KELLEY, K. E.; LOUIK, C.; HERNANDEZ-DIAZ, S. Medication use during pregnancy, with particular focus on prescription drugs: 1976–2008. **Am J Obstet Gynecol.** 2011; 205:51-8.

- MONTANDON, E. M.; DUARTE, R. C.; FURTADO, P. G. C. Prevalência de doenças bucais em crianças portadoras de fissuras labiopalatinas. **J Bras Odontopediatr Odontol Bebê**. 2001; 4:68-73.
- MOORE, K. L. **Embriologia básica**. 8ª Ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.
- MOORE, K.; PERSAUD T. **Before we are born: essentials of embryology and birth defects**. Philadelphia: W. B. Saunders Company, 1990.
- MOSSEY, P; LITTLE, J. Epidemiology of oral clefts: an international perspective. *In*: WYSZYNSKI, D. F. **Cleft lip and palate: from origin to treatment**. New York: Oxford University Press, 2002.
- MUNGER, R. G.; ROMITTA, P. A.; DAACK-HIRSCH, S.; BURNS, T. L.; MURRAY, J. C.; HANSON, J. Maternal alcohol use and risk of orofacial cleft birth defects. **Teratology**. 1996; 54:27-33.
- MURRAY, J. C., *et al*. Mutations in IRF6 cause Van der Woude and Popliteal pterygium syndromes. **Nat Genet**. 2002; 32:285-9.
- NAGELE, E., MORITZ, R.; Structure elucidation of degradation products of antibiotic drug amoxicillin, Part I: Examination of the degraded drug products by fragmentation with ion trap MSⁿ. **Agilent Technologies**. 2005a.
- NAGELE, E., MORITZ, R.; Structure elucidation of degradation products of antibiotic drug amoxicillin, Part II: Identification and confirmation by accurate mass measurement with ESI TOF of the compound ions and the fragments after CID. **Agilent Technologies**. 2005b.
- NAGELE, E., MORITZ, R.; Structure elucidation of degradation products of the antibiotic amoxicillin with ion trap MSⁿ and accurate mass determination by ESI TOF. **Aml Soc Mass Spectrometry**. 2005c; 16:1670-6.
- NATHANSON, S.; MOREAU, E.; MERLET-BENICHO, C.; GILBERT, T. In utero and in vitro exposure to betalactams impair kidney development in the rat. **J Am Soc Nephrol**. 2000; 11:874–84.
- NATSUME, N.; KAWAI, T.; OGI, N.; YOSHIDA, W. Maternal risk factors in cleft lip and palate: case control study. **Br J Oral Maxillofac Surg**. 2000; 38:23-5.
- NEVILLE, B. W; DANM, D. D; ALLEN, C. M; BOUQUOT, J. E. **Patologia Oral e Maxilofacial**. 2 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.
- PARANAÍBA, L. M. R; ALMEIDA, H; BARROS, L. M; MARTELLI, D. R. B; ORSI-JÚNIOR, J. D; MARTELLI-JÚNIOR, H. Técnicas cirúrgicas correntes para fissuras lábio-palatinas, em Minas Gerais, Brasil. **Rev Bras Otorrinolaringol**. São Paulo. 2009; 75:839-43.

- PRESCOTT, N. J, WINTER, R. M., MALCOLM, S. Nonsyndromic cleft lip and palate: complex genetics and environmental effects. **Ann Hum Genet.** 2001; 65:505-15.
- PSAUMÉ, J. **Le traitement du bec-de-lievre.** Paris: Mason, 1966.
- REYNS, T, DE BAERE, S. *et al.* Determination of clavulanic acid in calf plasma by liquid chromatography tandem mass spectrometry. **J Mass Spectrometry.** 2006; 41: 1414-20.
- REYNS, T, DE BAERE, S. *et al.*; Rapid method for the quantification of amoxicillin and its major metabolites in pig tissues by liquid chromatography- tandem mass spectrometry with emphasis on stability issues. **J Chromatography B.** 2008; 861: 108-16.
- RIBEIRO, M. P. A., PÁDUA, T.F. *et al.* Multivariate calibration methods applied to the monitoring of the enzymatic synthesis of ampicillin. **Chem Int Lab Systems.** 2008; 90:169-77.
- RITTLER, M; LOPEZ-CAMELO, J; CASTILLA, E. E. Sex ratio and associated risk factors for 50 congenital anomaly types: clues for causal heterogeneity. *Birth Defects Res. A Clin Mol Teratol.* 2004; 70:13-9.
- ROLINSON, G. N., GEDDES, A.M.; The 50th anniversary of the discovery of 6-APA. **Intl J Antimicrob Agents.** 2007; 29:3-8.
- SA DEL FIOL, F; ROCHA DE MATTOS FILHO, T; GROPPPO, F. C. Evaluation in an animal model and in vitro of the combination clavulanic acid and cephalosporins against beta-lactamase producing and nonproducing *Staphylococcus aureus* strains. **Braz J Infect Dis.** 2000; 4:36-42.
- SAXÉN, I. Cleft lip and palate in Finland: parental histories, course of pregnancy and select environmental factors. **Intl J Epidemiol.** 1974; 3:263-70.
- SILVA, A. L. **Análise de genes candidatos para fissuras orais não sindrômicas em famílias com recorrência.** Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista. Botucatu, 2007.
- SIVERTSEN, A.; WILCOX, A. J.; SKJAERVEN, R.; VINDENES, H. A.; ABYHOLM, F.; HARVILLE, E. Familial risk of oral clefts by morphological type and severity: population based cohort study of first degree relatives. **BMJ.** 2008; 336:432-4.
- SOUSA, J. C. de. **Manual de Antibióticos Antibacterianos.** Fundação Fernando Pessoa, edições Fernando Pessoa, Lisboa. 2006; 23-24.
- SPINA, V. A proposed modification for the classification of cleft lip and palate. **Cleft Palate J.** 1973; 10:251-2.
- SPINA, V; PSILLAKIS, J. M; LAPA, F. S; FERREIRA, M. C. Classificação das fissuras lábio-palatinas. **Rev Hosp Clin.** Fac Med. S. Paulo. 1972; 27:5-6.

- TAKAHARA, S; TAKIGAWA, T; SHIOTA, K. Programmed cell death is not a necessary prerequisite for fusion of the mouse palate. **Intl J Dev Biol.** 2004; 48:39-46.
- TAMBURINI, A. B. F.; BARROS, L. M.; PARANAÍBA, L. M. R.; BONAN, P. R. F.; POLITANO, G. T.; MARTELLI, D. R. B.; MARTELLI JÚNIOR, H. Risk factors associated with nonsyndromic oral clefts in a Brazilian population: a case-control study. **Rev Odontol UNESP.** 2012; 41:203-8.
- THOMPSON, J. S; THOMPSON, M. W. **Genética Médica.** 7ª Ed. Rio de Janeiro: Atheneu, 2008.
- TOBIASEN, J. M. Psychosocial adjustment to cleft lip and palate. *In:* BARDACH, J; MORRIS, H. L. **Multidisciplinary management of cleft lip and palate.** Philadelphia: W. B. Saunders, 1990.
- TOLAROVÁ, M. M; CERVENKA, J. Classification and birth prevalence of orofacial clefts. **Am J Med Genet.** 1998; 75:126-37.
- TOLAROVA, M.; HARRIS, J. Reduced recurrence of orofacial clefts after periconceptional supplementation with high-dose folic acid and multivitamins. **Teratology.** 1995; 51:71-8.
- VALVO, L., CIRANNI, E. *et al.*; Development of a simple liquid chromatography method with UV and mass spectrometric detection for the separation of substances related to amoxicillin sodium. **J Chromatography A.** 1998; 797:311-6.
- VEAU, V. Classification of cleft lip and palate. **Cleft lip and palate: surgical dental and speech aspects.** Little & Brown. 1971; 13:66.
- VIEIRA, A. R. Unraveling human cleft lip and palate research. **J Dent Res.** 2008; 87:119-25.
- VIEIRA, A. R; ORIOLI, I. M; MURRAY, J. C. Maternal age and oral clefts: a reappraisal. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol Endod.** 2002; 94:530-5.
- WANTIA, N.; RETTINGER, G. The current understanding of cleft lip malformations. **Facial Plast Surg.** 2002; 18:147-53.
- WYSZYNSKI, D. F; BEATY, T. H. Review of the role of potential teratogens in the origin of human nonsyndromic oral clefts. **Teratology.** 1996; 53:309-17.
- ZEIGER, J. S.; BEATY, T. H. Is there a relationship between risk factors for oral clefts? **Teratology.** 2002; 66:201-72.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA PARTICIPAÇÃO EM PESQUISA

Título da pesquisa: **Avaliação de antibióticos como fatores de risco para fissuras labiopalatinas não sindrômicas.**

Atenção: Antes de aceitar participar ou autorizar a participação nessa pesquisa, é importante que você leia e compreenda a seguinte explicação sobre os procedimentos propostos. Essa declaração descreve o objetivo, metodologia/procedimentos, justificativa, benefícios, desconfortos e riscos e danos do estudo. Também descreve os procedimentos alternativos que estão disponíveis a você e o seu direito de sair do estudo a qualquer momento. Nenhuma garantia ou promessa pode ser feita sobre os resultados do estudo.

1-Objetivo: Avaliar o uso de medicamentos como fatores de risco associados à ocorrência de fissuras labiopalatinas não sindrômicas.

2-Metodologia/procedimentos: Serão aplicados questionários aos pais das crianças ao final do atendimento clínico e as crianças serão avaliadas por examinadores treinados e calibrados, que irão classificar o tipo de fissura.

3-Justificativa: O desenvolvimento de estudos que busquem conhecer melhor a etiologia de doenças e agravos por meio da identificação dos fatores associados à ocorrência dos mesmos é justificada uma vez tais resultados podem servir de subsídio para sua prevenção.

4-Benefícios: Os resultados irão proporcionar um melhor conhecimento da etiopatogênese das fissuras labiopalatinas, contribuindo para a prevenção de novos casos.

5-Desconfortos e riscos: Será realizado um exame clínico na criança.

6-Danos: Não existem.

7-Metodologia/procedimentos alternativos disponíveis: Não existem.

8-Confidencialidade das informações: Os dados individuais não serão divulgados em nenhuma hipótese.

9-Compensação/indenização: Não se aplica.

10-Outras informações pertinentes: Não existem.

11-Consentimento: Li e entendi as informações precedentes. Tive oportunidade de fazer perguntas e todas as minhas dúvidas foram respondidas a contento. Este formulário está sendo assinado voluntariamente por mim, indicando meu consentimento para participar nesta pesquisa, até que eu decida o contrário. Receberei uma cópia assinada deste consentimento.

Nome do responsável

Assinatura responsável

Data

Nome da testemunha

Assinatura testemunha

Data

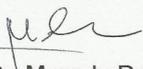
Pesquisador(a)

ANEXOS

ANEXO A – Aprovação no Comitê de Ética em Pesquisa.**PARECER Nº 73/2007**

O COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – CEP – da UNIFENAS, constituído de conformidade com a Portaria nº 32, de 19 de abril de 2001, da Reitoria, e nos termos da Resolução nº 196/96 do Conselho Nacional de Saúde, tendo analisado, vinte e dois de junho de 2007, o protocolo do projeto de pesquisa intitulado **AVALIAÇÃO DOS FATORES DE RISCO PARA A OCORRÊNCIA DE FISSURAS LÁBIO-PALATAIS, NÃO SINDRÔMICAS. ESTUDO DE CASO**, de autoria do Prof. Hercílio Martelli Júnior, resolveu enquadrá-lo na categoria de aprovado.

Alfenas, 27 de agosto de 2013.


Prof. Dr. Marcelo Reis da Costa
Coordenador do CEP

