

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS
ODONTOLÓGICAS

Jociana Boligon

**CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E MICROBIOLÓGICAS DE ADULTOS
JOVENS DE UMA AMOSTRA REPRESENTATIVA DA ÁREA RURAL
DO SUL DO BRASIL: ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO**

Santa Maria, RS
2017

Jociana Boligon

**CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E MICROBIOLÓGICAS DE ADULTOS
JOVENS DE UMA AMOSTRA REPRESENTATIVA DA ÁREA RURAL
DO SUL DO BRASIL: ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas, Área de Concentração em Odontologia, ênfase em Periodontia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Doutora em Ciências Odontológicas**.

Orientador: Prof. Dr. Carlos Heitor Cunha Moreira

Santa Maria, RS
2017

Ficha catalográfica elaborada através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Central da UFSM, com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Boligon, Jociana
CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E MICROBIOLÓGICAS DE ADULTOS
JOVENS DA ÁREA RURAL DE ROSÁRIO DO SUL - RS: ESTUDO
TRANSVERSAL / Jociana Boligon.- 2017.
101 f.; 30 cm

Orientador: Carlos Heitor Cunha Moreira
Tese (doutorado) - Universidade Federal de Santa
Maria, Centro de Ciências da Saúde, Programa de Pós-
Graduação em Ciências Odontológicas, RS, 2017

1. Checkerboard DNA Hybridization 2. Epidemiologia 3.
Periodontite agressiva 4. Prevalência 5. Microbiologia
I. Moreira, Carlos Heitor Cunha II. Título.

© 2017

Todos os direitos autorais reservados a Jociana Boligon. A reprodução de partes ou do todo deste trabalho só poderá ser feita mediante a citação da fonte.

E-mail: jociboligon@hotmail.com

Jociana Boligon

**CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E MICROBIOLÓGICAS DE ADULTOS
JOVENS DE UMA AMOSTRA REPRESENTATIVA DA ÁREA RURAL
DO SUL DO BRASIL: ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO**

Tese apresentada ao Curso de Doutorado do Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas, Área de Concentração em Odontologia, ênfase em Periodontia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do título de **Doutora em Ciências Odontológicas**.

Aprovado em 10 de agosto de 2017:

Carlos Heitor Cunha Moreira, Dr. (UFSM)
(Presidente/Orientadora)

Carina Maciel da Silva Boghossian, Dra. (UNIGRANRIO)

Jessye Melgarejo do Amaral Giordani, Dr. (UFSM)

Patrícia Daniela Melchiors Angst, Dr. (UFPEL)

Raquel Pippi Antoniazzi, Dra. (UNIFRA)

Santa Maria, RS
2017

DEDICATÓRIA

Aos meus queridos pais, Eli e Elba, toda a minha gratidão e o meu amor.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me proporcionar não apenas uma simples vida, mas uma repleta de muito amor, felicidade e realizações. À Nossa Senhora Medianeira, a qual recorro em todos os momentos de dúvidas e angústias, e também de agradecimentos. E ao meu anjo da guarda que cuida de mim com muito zelo: sinto-te sempre muito presente.

À minha família, sem dúvida, meu maior tesouro. Pai Eli e mãe Elba, incansáveis em me proporcionar educação e me transformar em uma pessoa melhor que pudesse “caminhar com as próprias pernas”, certamente conseguiram. A vocês toda minha gratidão, meu amor, meu respeito e a certeza que estarei ao lado de cada um até a eternidade. Amo vocês!

Ao meu mano Rodrigo, o qual me inspira a cada dia, como exemplo de ser humano honesto, pai amoroso, profissional comprometido que ama o que faz e, principalmente, por ser esse irmão tão presente. À minha cunhada Juliana, sem dúvida, é em você que me espelho por tamanha admiração que sinto por ti. És perfeita em tudo que fazes. E à minha pitoca e mais que amada Alice, que enche minha vida de luz, amor e graciosidade. A dinda sempre estará ao teu lado. Amor incondicional a vocês!

Ao meu namorado e amor Matheus. Encontramo-nos de uma maneira tão pura e sincera que nossos sentimentos chegaram naturalmente. Tua tranquilidade, teu carisma, teu bom humor me faz te admirar e amar cada dia mais. Nesses três anos de muito companheirismo e convivência percebo o quanto fomos feitos um para o outro e que estamos apenas iniciando uma bela história juntos. Te amo!

À minha segunda família, a Equipe Promaxi Clínica Odontológica, onde tive meu sonho de ter meu espaço de trabalho totalmente realizado. É onde realmente me encontrei e busco meu melhor. À minha sócia Renata R. Zago, obrigada pela oportunidade, confiança e por acreditar em mim. Além de excelente profissional és uma pessoa incrível com muita garra e determinação. Luciene, minha secretária de tudo e para tudo, que cuida de mim diariamente e na qual o coração pela clínica bate na mesma sintonia que o nosso. Obrigada por tudo. Nosso sucesso tem a tua total participação.

À minha amiga e irmã de coração Patricia Henke. Nossa amizade tão verdadeira e sincera transcende laços de sangue. Estar ao teu lado e saber que posso contar contigo me fortalece; e fazer parte da tua família é um orgulho para mim, sem contar no melhor presente que nossa amizade poderia me dar: minha afilhada amada Yasmin. Estarei sempre orando por vocês.

À Maísa Casarin, minha super dupla de exames clínicos na Unidade Móvel. És uma pessoa ao qual me identifiquei muito rapidamente, teus

princípios de vida e de família fizeram nos aproximar e nossa amizade ser tão pura. Estarei sempre torcendo pelas tuas conquistas pessoais e profissionais; obrigada de coração pelas conversas e por fazer meus dias um pouco mais leves longe de casa.

À toda equipe do levantamento epidemiológico: Ticiane Mário, Alessandra Grellmann e Silvia de David, onde juntas sofremos, choramos, trabalhamos exaustivamente, congelamos, derretemos e rimos. Melhor equipe que poderia ter na execução deste trabalho! Em especial à Janice Marin, Carlos Frederico Wolle e Carlos Alexandre Souza Bier, meus dias foram mais tranquilos e divertidos com vocês por perto. A comidinha da Janice e os chocolates dos professores diminuía a tensão... e as caronas eram sempre bem-vindas. Obrigada meus queridos por todo apoio incondicional!

Ao meu orientador Carlos Heitor Cunha Moreira. Nesses nove anos de parceria, muitos foram os momentos de aprendizado e troca de ideias. Um grande incentivador da pesquisa científica me despertou a vontade de seguir no doutorado e concluir com muito êxito esta etapa brilhante em minha vida profissional. Muito competente e um bom ser humano acima de tudo. Obrigada por todos ensinamentos, por momentos, apesar de difíceis, sempre tranquilos e que nossa parceria perdure ao longo dos anos. A você Prof., minha eterna gratidão!

Às queridas Tatiana Militz, Sara Fraga, Camila Sfredo e Juliana Maier. Mesmo com a correria do dia a dia, nem sempre estive tão presente com cada uma de vocês, porém o carinho e o cuidado ao nos encontrarmos são de uma sinceridade plena. Sucesso meninas e obrigada por tudo. Adoro vocês!

À Dra. Fátima Terezinha Deitos. Profissional excelente que me acompanha há quase dez anos e, sem dúvida, me trouxe total qualidade de vida com seus cuidados. Obrigada imensamente por me transformar nesta “moça” (como você sempre me chama) que sou hoje. Deus continue a te abençoar sempre!

À agente comunitária de saúde de Rosário do Sul, Gislaina da Silva. Com certeza a mais prazerosa e importante ajuda que tive naquele “fim de mundo de interior” (risos). Ser humano incrível e de um coração enorme. Jamais me esquecerei do teu carinho, teu cuidado e tuas músicas gospel. Toda minha gratidão por me acolher em tua casa!

À secretária do PPGCO, Jessica Dalcin da Silva. Obrigada, minha querida, pela competência e ajuda sempre que lhe foi solicitada. Sempre com um sorriso no rosto e uma Melissa nos pezinhos resolvia rapidamente nossas dúvidas e angústias. Certamente você faz parte do sucesso da nossa Pós-Graduação. Sentirei saudades!!

Aos professores Fabrício B. Zanatta, Thiago M. Ardenghi e José Mariano da Rocha. Incansáveis a cada reunião, na preocupação conosco, em trazer notícias de alívio e juntos acreditarmos neste projeto. Minha gratidão por todo apoio e ajuda durante o levantamento epidemiológico e, principalmente, no período de ausência do meu orientador. Muito sucesso a vocês!

À toda equipe do Laboratório de Microbiologia Paulo de Góes da Universidade Federal do Rio de Janeiro-UFRJ, em especial à querida Prof. Ana Paula Vieira Colombo. Um prazer enorme trabalhar com esta equipe. Receberam-me de braços abertos.

Enfim, à Universidade Federal de Santa Maria, a qual me proporcionou uma formação profissional de excelência. Imenso orgulho em ter a UFSM em meu currículo e sempre irei fazer jus a este nome como ser humano e profissional.

Sonho realizado! Dificuldades: todas! Mas a realização transcende qualquer obstáculo.

*“Não é sobre ter todas as pessoas do mundo pra si
É sobre saber que em algum lugar, alguém zela por ti [...]
Não é sobre chegar no topo do mundo e saber que venceu
É sobre escalar e sentir que o caminho te fortaleceu [...]
Segura teu filho no colo
Sorria e abrace teus pais enquanto estão aqui
Que a vida é trem bala, parceiro
E a gente é só passageiro prestes a partir”.*

(Trem bala – Ana Vilela)

RESUMO

CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS E MICROBIOLÓGICAS DE ADULTOS JOVENS DE UMA AMOSTRA REPRESENTATIVA DA ÁREA RURAL DO SUL DO BRASIL: ESTUDO EPIDEMIOLÓGICO

AUTORA: Jociana Boligon
ORIENTADOR: Carlos Heitor Cunha Moreira

A presente tese é composta por dois artigos científicos, cujo tema principal refere-se à doença periodontal em adultos jovens de uma área rural brasileira. Artigo 1: Periodontite em adultos jovens residentes na área rural do Sul do Brasil: um estudo transversal. Este trabalho teve como objetivo descrever a prevalência, extensão e gravidade da periodontite em adultos jovens de uma amostra representativa de 171 indivíduos, com idades entre 15 e 35 anos, residentes rurais. Seis sítios por dentes foram avaliados clinicamente. Três critérios diagnósticos foram utilizados para classificar os indivíduos quanto a sua condição periodontal. Maior percentual de fator retentivo de placa ($31,07 \pm 3,15$), média de nível clínico de inserção ($2,08 \pm 0,14$), perda dental e fumantes (16,6%) foram observados em indivíduos mais velhos (26-35 anos). A prevalência e a extensão de doença periodontal, quando esta foi avaliada de acordo com a gravidade, foi duas vezes maior em indivíduos com periodontite severa ($7,42 \pm 1,03$), em comparação à forma moderada ($3,28 \pm 0,54$) ou leve ($3,74 \pm 0,27$). A raça ($p = 0,022$) e o hábito de fumar ($p = 0,012$) foram associados com o aumento da prevalência de periodontite agressiva. Neste estudo, os resultados mostram uma alta prevalência de periodontite afetando adultos jovens não brancos e fumantes que residem na área rural do Sul do Brasil. Artigo 2: Perfil da microbiota subgengival em indivíduos adultos jovens residentes na área rural do Sul do Brasil: um estudo transversal. Esse trabalho objetivou descrever o perfil microbiológico subgengival de adultos jovens baseados nos critérios de diagnóstico periodontal do CDC/AAP modificado. Cento e dez indivíduos entre 15-30 anos de idade passaram por exame clínico periodontal completo, e amostras de biofilme subgengival foram coletadas em quatro sítios por indivíduo. Análises para detecção de 45 espécies bacterianas bucais e não bucais foram realizadas pela técnica do *Checkerboard DNA DNA hybridization*. Alta frequência e contagens de espécies microbianas orais e não orais foram observadas na amostra, independentemente do diagnóstico clínico periodontal. As contagens microbianas foram mais elevadas em sítios profundos do que rasos; no entanto, sítios com a presença de sangramento à sondagem apresentaram maior porcentagem de bactérias dos complexos laranja e vermelho e de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

Palavras-chave: Análise microbiológica. Epidemiologia. Periodontite agressiva. Prevalência. Microbiologia

ABSTRACT

CLINICAL AND MICROBIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF A REPRESENTATIVE SAMPLE OF THE RURAL AREA OF SOUTHERN BRAZIL: AN EPIDEMIOLOGICAL STUDY

AUTHOR: Jociana Boligon
ADVISOR: Carlos Heitor Cunha Moreira

The present thesis is composed by two scientific articles, whose main theme refers to the periodontal disease in young adults of a Brazilian rural area. Article 1: Periodontitis in young adults living in the rural area of southern Brazil: a cross-sectional study. The objective of this study was to describe the prevalence, extent and severity of periodontitis in young adults from a representative sample of 171 individuals, aged 15-35 years, rural residents. Six sites per tooth were clinically evaluated. Three diagnostic criteria were used to classify individuals as to their periodontal condition. The highest percentage of plaque retentive factor (31.07 ± 3.15), mean clinical insertion level (2.08 ± 0.14), dental loss and smokers (16.6%) were observed in older individuals (26-35 years). The prevalence and extent of periodontal disease when assessed according to severity was twice as high in subjects with severe periodontitis (7.42 ± 1.03) compared to the moderate form (3.28 ± 0.54) or mild (3.74 ± 0.27). Race ($p = 0.022$) and smoking ($p=0.012$) were associated with increased prevalence of aggressive periodontitis. In this study, the results show a high prevalence of periodontitis affecting non-white young adults and smokers living in rural areas of southern Brazil. Article 2: Profile of subgingival microbiota in young adults living in rural areas of southern Brazil: a cross-sectional study. This work aimed to describe the subgingival microbiological profile of young adults based on the criteria of periodontal diagnosis of the modified CDC / AAP. One hundred and ten individuals aged 15-30 years underwent complete periodontal clinical examination, and subgingival biofilm samples were collected at four sites per individual. Analyzes for the detection of 45 oral and non-buccal bacterial species were performed by the *Checkerboard DNA DNA hybridization* technique. High frequency and counts of oral and non-oral microbial species were observed in the sample, regardless of periodontal clinical diagnosis. Microbial counts were higher at sites deep than shallow; However, sites with bleeding probing showed a higher percentage of bacteria of the orange and red complexes and of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*.

Keywords: Microbiological analysis. Epidemiology. Aggressive periodontitis. Prevalence. Microbiology

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO 1

Figure 1. Percentage of teeth by thresholds of attachment loss, tooth type, bleeding on probing, and age group53

ARTIGO 2

Figure 1. Microbial prevalence in different periodontal status in shallow and deep sites77

Figure 2. Mean counts of all bacteria evaluated in the different periodontal clinical diagnoses, in shallow and deep sites78

Figure 3. Percentual of bacteria in certain complexes, in shallow and deep sites associated or not with bleeding according to periodontal clinical diagnosis81

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Table 1. Demographic, socioeconomical and clinical parameters of the individuals included in this study	49
Table 2. Distribution of subjects and teeth affected by AgP according to the diagnostic criteria in total and according to age.....	50
Table 3. Prevalence of at least one affected site and extent (proportion) of affected sites and teeth per mouth by degree of clinical attachment loss (CAL, cut-offs ≥ 3 and 5 mm) or pocket probing depth (PPD, cut-offs ≥ 4 and 6 mm) and Mean in total and according to age.....	51
Table 4. Risk indicators associated with the diagnosis of aggressive periodontitis...	52

ARTIGO 2

Table 1. Clinical characteristics of the sites in which microbiological samples were collected and according to the diagnostic criteria of Eke et al modified.....	76
Table 1S. Microbial strains used for development of whole genomic DNA probes tested against subgingival biofilm samples	80

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACROGRAMAS

EMATER/RS – Empresa de Assistência Técnica e Extensão Rural do Rio Grande do Sul

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

UFSM – Universidade Federal de Santa Maria

UFRJ – Universidade Federal Do Rio de Janeiro

CNS – Conselho Nacional de Saúde

BIOLOGIA

DNA – Ácido Desoxirribonucléico

RNA – Ácido Ribonucléico

PARÂMETROS CLÍNICOS E DE DIAGNÓSTICOS NA PERIODONTIA

IPV – Índice de placa visível

ISG – Índice de sangramento gengival

FRP- Fator retentivo de placa

PS – Profundidade de Sondagem

NIC – Nível Clínico de Inserção

SS- Sangramento a Sondagem

PA – Periodontite Agressiva

PAL – Periodontite Agressiva Localizada

PAG – Periodontite Agressiva Generalizada

AAP – Academia Americana de Periodontologia

CDC- Centro para controle e prevenção de doenças

FÍSICA E UNIDADES

° – graus

% –porcentagem

µL – microlitro

C – Celsius

cm – centímetros

M – molar

mg/mL – miligrama por mililitro

min – minutos

mL – mililitro

mm – milímetros

mM – milimolar

ng/ mL – nanograma por mililitro

h – hora

MICROBIOLOGIA

A. actinomycetemcomitans - *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

A. baumannii - *Acinetobacter baumannii*

C. albicans - *Candida albicans*

C. matruchotti - *Corynebacterium matruchotii*

C. difficile - *Clostridium difficile*

D. pneumosintes - *Dialister pneumosintes*

E. corrodens - *Eikenella corrodeans*
E. faecalis - *Enterococcus faecalis*
F. alocis - *Filifactor alocis*
F. nucleatum - *Fusobacterium nucleatum*
F. periodonticum - *Fusobacterium periodonticum*
H. alvei - *Hafnia alvei*
H. influenza - *Haemophilus influenzae*
H. pylori - *Helicobacter pylori*
L. buccalis - *Leptotrichia buccalis*
N. mucosa - *Neisseria mucosa*
P. acnes - *Propionibacterium acnes*
P. aeruginosa - *Pseudomonas aeruginosa*
P. anaerobius - *Peptostreptococcus anaerobius*
P. gingivalis - *Porphyromonas gingivalis*
P. micra - *Parvimonas micra*
R. dentocariosa - *Rothia dentocariosa*
S. aureus - *Staphylococcus aureus*
S. enteric typhi - *Salmonella enteric typhi*
S. noxia - *Selenomonas noxia*
S. salivarius - *Streptococcus salivarius*
T. denticola - *Treponema denticola*
T. forsythia - *Tannerella forsythia*
T. socranskii – *Treponema socranskii*
V. parvula - *Veillonella parvula*

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1	PERIODONTITE AGRESSIVA	18
2.1.1	Terminologia e classificação.....	18
2.1.2	Características clínicas.....	19
2.1.3	Perfil microbiológico.....	20
2.1.4	Epidemiologia e fatores de risco.....	24
2.1.5	Crítérios de diagnóstico.....	28
3	ARTIGO 1 - PERIODONTITE EM ADULTOS JOVENS RESIDENTES NA	
	ÁREA RURAL DO SUL DO BRASIL: UM ESTUDO TRANSVERSAL	30
4	ARTIGO 2 - PERFIL DA MICROBIOTA SUBGENGIVAL EM INDIVÍDUOS	
	ADULTOS JOVENS RESIDENTES NA ÁREA RURAL DO SUL DO BRASIL: UM	
	ESTUDO TRANSVERSAL.....	55
5	DISCUSSÃO	82
6	CONCLUSÃO.....	85
	REFERÊNCIAS.....	86
	ANEXO A - PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP.....	94
	ANEXO B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA	
	MAIORES DE 18 ANOS	98
	ANEXO C - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA	
	MENORES DE 18 ANOS.....	100

1 INTRODUÇÃO

Doenças periodontais são altamente prevalentes em indivíduos a partir da quinta década de vida, tanto em países desenvolvidos quanto em desenvolvimento (LINDHE, 1997). A partir dessa idade, uma parcela significativa de perdas dentais e associações com diferentes condições sistêmicas vêm sendo observadas (FRENCKEN et al., 2017). Dentre as doenças bucais, a periodontite severa é a que tem maior impacto em sujeitos edêntulos analisados (MARCENES et al., 2013). Com a taxa de progressão lenta, suas consequências associadas à perda de função e limitações estéticas demoram anos para serem observadas (LINDHE et al., 1999). Diferentemente, as periodontites, quando acometem indivíduos jovens, podem apresentar uma taxa de progressão bem mais rápida, sendo classificadas atualmente como periodontites agressivas (PA) (ARMITAGE, 1999). Sua prevalência durante a puberdade e as segundas e terceiras décadas de vida tem sido relatada com estimativas bem menores quando comparados a periodontite crônica, embora com discrepâncias entre os estudos (ALBANDAR; TINOCO, 2002; SUSIN; ALBANDAR, 2005). Hipóteses que relacionam a presença de PA dizem respeito às infecções com microrganismos específicos ou devido à alta suscetibilidade dos indivíduos (GENCO; BORGNAKKE, 2013; SCHAEFER et al., 2014).

Atualmente sabe-se que a PA é uma doença periodontal infecto-inflamatória destrutiva caracterizada por uma pronunciada perda de tecido de suporte periodontal e de rápida progressão, em indivíduos saudáveis jovens (ARMITAGE, 1999). Até então, subdividida em localizada (PAL) ou generalizada (PAG) baseada na extensão, severidade e tipo de dente afetado (ALBANDAR, 1993; ALBANDAR, 2014).

Clinicamente, em indivíduos com PA, pode-se observar a existência de pequena quantidade de placa bacteriana formando uma fina película sobre o dente e que raramente se mineraliza a ponto de formar cálculos (ARMITAGE, 1999). Os sinais clínicos iniciais mais comuns são a mobilidade e a migração dos primeiros molares e dos incisivos permanentes (OH; EBER; WANG, 2002; SUSIN; ALBANDAR 2005).

Em nível microbiológico, estudos de organismos patogênicos têm sugerido a presença de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (atual *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*) como papel importante na etiologia da PA. Essa espécie cultivável tem sido encontrada predominantemente entre 67% a 90% dos sítios com PAL (ZAMBON, 1994; ÁVILA-CAMPOS; CARVALHO; ZELANTE, 1995). Deve-se

notar, no entanto, que nem todos os estudos suportam essa associação, já que esse organismo também é encontrado em indivíduos saudáveis, embora em número reduzido, e em pacientes com periodontite crônica, sugerindo ser um membro da flora microbiana saudável (GAFAN, et al., 2004). Outras espécies, tais como *Porphyromonas gingivalis*, também têm sido encontradas em níveis elevados em certos casos de PAL (KORNMAN, et., al 1995).

Critérios relacionados aos diagnósticos clínicos, aos fatores etiológicos e aos discriminantes biológicos são usados para classificação das doenças periodontais. Entretanto, devido a lacunas relacionadas ao conhecimento incompleto da patogênese dessas doenças, o critério de diagnóstico clínico, até o momento, é a melhor alternativa encontrada (ALBANDAR; TINOCO, 2002). Assim, a medição clínica da perda de inserção periodontal e/ou avaliação radiográfica do osso alveolar em um determinado período e/ou longitudinalmente bem como a idade do início da doença são critérios usados na maioria dos estudos clínicos e populacionais (ALBANDAR et al., 1997, BAER, 1971; GENCO; CHRISTERSSON; ZAMBON, 1986).

Critérios para definição de PA, propostos por Susin e Albandar (2005), Demmer e Papapanou (2010) e Eke et al. (2012), contemplam as melhores definições de doença, no que diz respeito a utilização de dados clínicos atuais, histórico de doença, condições inflamatórias e estratos de idade para estudos epidemiológicos.

No entanto, uma revisão sistemática de estudos epidemiológicos a respeito da periodontite agressiva encontrou alta variabilidade nas estimativas de prevalência dessa doença em diferentes populações. Esses achados podem estar relacionados principalmente a metodologias inconsistentes (SUSIN; HAAS; ALBANDAR, 2014) relacionadas à falta de uniformidade na definição de periodontite (BORRELL; PAPAPANOU, 2005; PAPAPANOU, 1994; PAPAPANOU; LINDHE, 2008). Contudo, a PA tem alta correlação com a menor quantidade de fatores locais, como placa dental, cálculo supra gengival (ALBANDAR et al., 1996), baixo nível socioeconômico (ALBANDAR et al., 1997) e aumento da idade (ALBANDAR; MURANGA; RAMS, 2002; LÓPEZ, 1992). Em relação ao gênero, os estudos mostram controvérsias de resultados (HORMAND; FRANDSEN, 1979; MELVIN; SANDIFER; GRAY, 1991; BAER, 1971; KRONOVER et al., 1986; SUSIN; HAAS; ALBANDAR, 2014) e, ao comparar-se as etnias, a PA é mais observada entre os africanos e menos prevalente entre caucasianos da Europa e da América do Norte (SUSIN; HAAS; ALBANDAR, 2014).

Porém, essas prevalências estão associadas à descrição de populações urbanas a nível epidemiológico. Estudos para avaliar as condições periodontais em indivíduos jovens e adultos que residem em áreas rurais desprovidos de atendimento odontológicos locais e distantes da área urbana são poucos descritos na literatura (BAELUM; FEJERSKOV, 1986; BAELUM; FEJERSKOV; KARRING, 1986; MANJI; BAELUM; FEJERSKOV, 1988). Assim, novos e atuais estudos avaliando esse tipo de população são necessários e, principalmente, associados a critérios diagnósticos compatíveis com a metodologia estipulada. Logo, novas prevalências de PA serão estabelecidas e resultados discutidos, no que diz respeito a possíveis diferenciações no desenvolvimento e progressão desta doença.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 PERIODONTITE AGRESSIVA

2.1.1 Terminologia e classificação

Aspectos relacionados à classificação e terminologia das doenças periodontais foram se alterando ao longo dos séculos XIX e parte do século XX devido aos avanços e entendimentos quanto à etiopatogenia dessas doenças.

Atualmente sabe-se que a periodontite agressiva (PA) é uma doença periodontal inflamatória destrutiva caracterizada por uma pronunciada perda de tecido de suporte periodontal e de rápida progressão, em indivíduos jovens saudáveis (ALBANDAR, 1993; ALBANDAR, 2014; ARMITAGE 1999). Mas essa caracterização nem sempre foi assim, inicialmente termos como periodontite de início precoce, contemplando as subdivisões de periodontite juvenil e de periodontite de rápida progressão foram introduzidos em 1969 e 1989, respectivamente, e amplamente utilizados nas últimas três décadas do século XX (BUTLER, 1969; AAP, 1989).

Gottlieb, em 1923, foi pioneiro ao descrever a perda severa de inserção periodontal em adolescentes, relatando ser uma “atrofia difusa do osso alveolar”, não inflamatória e de desordem degenerativa. Descrição essa, se levando em consideração a hipótese de que a doença era causada por uma falta de barreira de cimento eficaz (cementopatia), que poderia levar a recessão gengival, perda óssea alveolar e formação de bolsa (GOTTLIEB, 1923). Essas características foram mantidas por Orban e Weinman (1942) através do termo “periodontosis” para descrever as alterações periodontais em adultos jovens; e definidas em 1950 como uma doença degenerativa não inflamatória com destruição do periodonto primário de uma ou mais estruturas periodontais, caracterizada por migração e afrouxamento dos dentes na presença ou ausência de proliferação epitelial secundária e formação de bolsa ou doença gengival secundária (LYONS; KERR; HINE, 1950).

Em contrapartida, Baer (1971) a descreveu como “doença do periodonto ocorrida em um adolescente saudável e caracterizada por uma rápida perda do osso alveolar em mais de um dente, na dentição permanente”, porém, ele claramente acreditava não ser de natureza degenerativa, mas sim inflamatória.

Devido principalmente a uma considerável incerteza sobre a definição de limites de idade para o início da doença e o fato de considerá-la como um critério

preliminar para a classificação, em 1999, no Workshop Internacional de Classificação das Condições e Doenças Periodontais, o termo “periodontite de início precoce” foi substituído unicamente por “periodontite agressiva” (LANG et al., 1999). Todos os casos nos quais não se enquadravam nas características dessa classificação deveriam ser considerados periodontite crônica.

A PA, até então, tem sido subdividida em localizada (PAL) ou generalizada (PAG) baseada na extensão, severidade e tipo de dente afetado (ALBANDAR, 1993; ALBANDAR, 2014).

2.1.2 Características clínicas

A periodontite agressiva inicial é caracterizada pela falta de sinais clínicos evidentes de inflamação, apesar de a presença de bolsas periodontais infra ósseas profundas.

Clinicamente, pode-se observar a existência de pequena quantidade de placa bacteriana formando uma fina película sobre o dente e que raramente se mineraliza a ponto de formar cálculos (ARMITAGE, 1999). Waerhaug (1976; 1977) em seus estudos de dentes extraídos e espécimes de indivíduos com PA reafirmou que a placa subgingival era muito fina e tinha ocasionalmente calcificações em forma de cálculo dentário. Esses achados sugerem que a presença de placa bacteriana é um pré-requisito para a ocorrência da perda de inserção de PA, embora sozinha não seja suficiente para explicar a quantidade e as taxas de perda de tecido periodontal nos sujeitos afetados (WAERHAUG, 1976; WAERHAUG, 1977).

Os sinais iniciais mais comuns são a mobilidade e a migração dos primeiros molares e dos incisivos permanentes (OH; EBER; WANG, 2002; SUSIN; ALBANDAR, 2005). Geralmente, observa-se migração disto-vestibular dos incisivos superiores com surgimento de diastema. Os incisivos inferiores parecem ter uma propensão menor para migrar do que os superiores. Padrões oclusais e a pressão da língua podem modificar a quantidade e o tipo de migração. Além disso, há aumento aparente no tamanho da coroa clínica, presença de recessão gengival, acúmulo de placa, surgindo, então, clinicamente, a inflamação. Dependendo da progressão da doença, outros sinais e sintomas podem surgir, como a exposição das superfícies radiculares, dores durante a mastigação, podendo ocorrer também a formação de abscessos periodontais (CARRANZA; NEWMAN, 1997).

A PAL é caracterizada pela perda de inserção de quatro milímetros ou mais em primeiros molares e incisivos permanentes, com perda de osso alveolar de suporte em não mais que dois dentes, que não sejam primeiros molares e incisivos. Ademais, deve haver ausência de fatores locais, como restaurações subgingivais ou coroas protéticas fixas mal adaptadas, nas áreas de destruição periodontal. Na PAG ocorre perda de inserção óssea de quatro milímetros ou mais, em pelo menos três dentes, que não sejam os primeiros molares e incisivos permanentes e, da mesma forma que a anterior, deve haver ausência de fatores locais, como os citados anteriormente (PAGE et al., 1985; LINDHE; LILJENBERG, 1984).

Radiograficamente, o padrão das lesões periodontais é evidenciado através da perda vertical de osso alveolar, inicialmente em superfícies proximais dos primeiros molares e incisivos permanentes, em jovens saudáveis, sendo um sinal de provável PA (OH; EBER; WANG, 2002; SUSIN; ALBANDAR, 2005; CARRANZA; NEWMAN, 1997; PAGE et al., 1985; GUSTKE; 1998). Outros achados radiográficos incluem a “perda em forma de arco do osso alveolar, estendendo-se da superfície distal do segundo pré-molar até a superfície mesial do segundo molar” (CARRANZA; NEWMAN, 1997). Contudo, em incisivos, o padrão de perda óssea geralmente é horizontal pela presença da cortical óssea mais fina quando comparado aos molares (ALBANDAR, 2014).

2.1.3 Perfil microbiológico

As doenças periodontais são o resultado da resposta inflamatória local e/ou sistêmica frente a microrganismos complexos presentes no biofilme dental. Pode estar confinada aos tecidos gengivais ou progredir, levando a uma perda de inserção de suporte periodontal (PAGE; KORNAM, 1997). A complexidade da doença está relacionada ao envolvimento de diferentes fatores que possibilitam o estabelecimento de biofilmes em dois ambientes com características diferenciadas: supra e subgingivais (LISTGARTEN, 1976; SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2002). A presença contínua desses biofilmes estimula a resposta imunoinflamatória do hospedeiro que pode alterar de maneira significativa as espécies microbianas presentes.

Na busca pelos agentes etiológicos da doença periodontal, vários patógenos, assim como espécies associadas à saúde periodontal, foram identificadas através de estudos a nível epidemiológico e molecular (DZINK; SOCRANSKY; HAFFAJEE, 1988;

CHRISTERSSON; ZAMBON; GENCO, 1991). Porém, o diagnóstico microbiano no caso de infecções periodontais se torna desafiador uma vez que o início e a progressão da doença não estão relacionados apenas com a presença de um microrganismo específico, mas sim com o desequilíbrio entre níveis e proporções de patógenos periodontais e as espécies benéficas em diferentes sítios da boca (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2005). Alta heterogeneidade entre espécies bacterianas são encontradas em estudos que avaliam pacientes saudáveis e diferentes condições de doença periodontal, demonstrando que poucas espécies diferem significativamente entre os grupos (LOURENÇO et al., 2014; HELLER et al., 2012).

Embora aproximadamente 1000 espécies bacterianas habitem a cavidade oral (WADE, 2013) somente um pequeno número parece estar relacionado à destruição periodontal (AAS et al., 2005). Socransky et al. (1998) utilizaram sondas genômicas de DNA para detectar a presença de 40 espécies bacterianas no biofilme dental subgingival de indivíduos com doença periodontal e verificaram como essas comunidades microbianas se organizavam dentro deste biofilme. Os mesmos observaram a formação de seis grandes complexos microbianos, compostos por determinadas espécies bacterianas que estavam presentes simultaneamente com maior frequência e organizadas de forma bastante ordenada, tanto em relação ao tempo de colonização quanto à disposição espacial. Algumas espécies/complexos foram associadas com a saúde periodontal, tais como os complexos amarelo (espécies de *Streptococcus*) e roxo (*Veillonella parvulae*, *Actinomyces odontolyticus*), enquanto outros foram intimamente associados com a doença, tal como o vermelho (*Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*) e o laranja (espécie *Fusobacterium*, *Prevotella* e *Campylobacter*). Diante disso, estudos de associação têm confirmado o envolvimento dos três membros do complexo vermelho e alguns membros do complexo laranja, como *Prevotella intermedia*, *Parvimonas micra*, *Fusobacterium nucleatum*, *Eubacterium nodatum*, e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, com a etiologia de diversas condições periodontais relacionadas à alta prevalência, contagens e proporções em indivíduos portadores de doença periodontal (TELES, 2013).

A microbiota oral é extremamente complexa e dinâmica sendo afetada diretamente por mudanças ambientais e pressões seletivas mediadas pelo hospedeiro. Além disso, os microrganismos do biofilme vivem em condições difíceis de serem estudadas constituindo comunidades polimicrobianas organizadas e

adaptadas a fim de sobreviver nos múltiplos micro-ecossistemas da cavidade oral (ARMITAGE; CULLINAN; SEYMOUR, 2010). O quadro microbiológico da periodontite agressiva é ainda mais complexo pelo fato de que apenas cerca de 50-60% da microbiota subgengival ser cultivada em laboratório usando técnicas de cultivo. O restante da microbiota está em um meio ainda não cultivado (FAVERI et al., 2008, PASTER; DEWHIRST, 2009).

Como relatado anteriormente, a característica clássica clínica da PA é que a quantidade de destruição manifestada não é proporcional à quantidade de irritantes locais presentes (BAER, 1971). Essa característica refere-se ao biofilme bastante fino e a falta de cálculo dental observado em alguns pacientes com a doença (BAER, 1971; LILJENBERG; LINDHE, 1980). O exame microscópico eletrônico de dentes extraídos por PAL revelou depósitos relativamente simples, finos, não calcificados comparados com os biofilmes espessos e complexos associados à periodontite crônica (LISTGARTEN, 1976).

Em relação à periodontite agressiva, os estudos têm sugerido o *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (atual *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*-Aa) como um organismo importante na sua etiologia (CORTELLI et al., 2005; SLOTS; TING, 1999), inclusive ao ser analisado em análises imunocitoquímicas (BERTHOLD; LISTGARTEN, 1986). Essa espécie cultivável tem sido encontrada predominantemente entre 67% a 90% dos sítios com periodontite agressiva localizada (ZAMBON, 1994; ÁVILA-CAMPOS; CARVALHO; ZELANTE, 1995). Deve-se notar, no entanto, que nem todos os estudos suportam essa associação já que esse organismo também é encontrado em indivíduos saudáveis, embora em número reduzido, sugerindo ser membro da flora microbiana saudável (GAFAN et al., 2004).

O papel etiológico de algumas cepas desse microrganismo é explicado, uma vez que sua presença está associada à conversão do estado de saúde periodontal para à periodontite agressiva localizada (BUENO; MAYER; DIRIENZO, 1998; FINE et al., 2007; HAUBEK et al., 2004; HAUBEK et al., 2008). Estudos longitudinais demonstraram que algumas cepas de Aa estão associadas a um maior risco de desenvolvimento de periodontite do que indivíduos que não possuem esses microrganismos (FINE et al., 2007; HAUBEK et al., 2008). Em um desses estudos, portadores deste microrganismo (n = 38) periodontalmente saudáveis foram comparados por idade, sexo e etnia com indivíduos que não abriga este organismo. Após acompanhamento de um ano, 80% dos indivíduos portadores de Aa tiveram o

desenvolvimento da periodontite (definida como três bolsas ± 5 mm), enquanto que apenas 10% dos indivíduos negativos tinham essa quantidade de doença (FINE et al., 2007).

Outras espécies, tais como *Porphyromonas gingivalis*, *Eikenella corrodens*, e *Campylobacter rectus*, têm sido encontradas em níveis elevados em certos casos de PAL (KORNMAN et al., 1995). Mombelli, Casagni e Medianos (2002) realizaram uma revisão sistemática na tentativa de distinguir entre indivíduos com periodontite crônica e agressiva, a presença ou a ausência de patógenos periodontais (isto é, *Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Tanerella forsythia* e *Campylobacter rectus*). Contudo, na maioria dos estudos incluídos, os critérios diagnósticos utilizados para classificação das categorias de doenças não foram claramente especificadas. No entanto, verificou-se que a periodontite agressiva foi mais frequente em pacientes positivos para Aa (MOMBELLI; CASAGNI; MADIANOS, 2002).

Em um estudo comparando a composição da microbiota subgingival na periodontite agressiva vs. periodontite crônica baseado nas frequências de isolamento e na porcentagem média de contagens totais, a associação com *Porphyromonas gingivalis* e *Parvimonas micra* foram encontrados tanto para periodontite crônica quanto para periodontite agressiva. A única diferença estatisticamente significativa ($p = 0,036$) foi para *Campylobacter rectus*, com frequências de isolamento de 23,5% (4/17) para periodontite crônica e 50% (3/6) para periodontite agressiva generalizada (GAJARDO et al., 2005). Entretanto, Lafaurie et al. (2007), com os mesmos propósitos do estudo anterior, não encontraram diferenças significativas na porcentagem de pacientes portadores de *Porphyromonas Gingivalis*, *Tanerella Forsythia*, *Campylobacter rectus* e *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans*.

Estudos voltados para a caracterização da microbiota subgingival e identificação dos agentes etiológicos das diversas formas de doenças periodontais encontram uma série de limitações, tais como: dificuldades técnicas, complexidade da microbiota endógena, dificuldades no diagnóstico clínico de tipos distintos de doença, bem como o grau de atividade em diferentes sítios e/ou indivíduos e dificuldades na interpretação e análise dos dados (HAFFAJEE; SOCRANSKY, 1994).

O desenvolvimento de novas técnicas moleculares que permitiram identificação e quantificação de um grande número de microrganismos e amostras foi muito importante no estabelecimento de perfis microbianos específicos (SOCRANSKY et al.,

1994; PASTER et al., 2001). A quantificação é essencial porque as diferenças na microbiota entre saúde e doença periodontal, e entre pré e pós terapia, são mais quantitativas do que qualitativas. Assim, a técnica do “*checkerboard DNA-DNA hybridization*” emprega o uso de sondas de DNA e permite a identificação e quantificação de até 45 espécies de microrganismos em até 28 amostras de biofilme de uma única vez. Apesar de existirem técnicas mais sensíveis e específicas na detecção microbiana, quando comparado ao checkerboard, o alto custo e dificuldade de acesso impossibilitam, muitas vezes, seu uso.

Logo, o grande número de amostras que pode ser processado em um curto espaço de tempo, a sensibilidade em detectar rotineiramente 10^4 espécies de uma dada amostra e o relativo baixo custo do “*checkerboard DNA-DNA hybridization*” tem possibilitado aos pesquisadores expandir e aperfeiçoar estudos envolvidos com a etiologia microbiana das doenças orais. Entretanto, o uso de sondas genômicas não permite a sua utilização para espécies que ainda não foram cultivadas, mas somente espécies para qual a sonda de DNA foi preparada (SOCRANSKY, et al., 2004).

2.1.4 Epidemiologia e fatores de risco

Uma revisão sistemática de estudos epidemiológicos a respeito de periodontite agressiva encontrou alta variabilidade nas estimativas de prevalência desta doença em diferentes populações. Estes achados podem estar relacionados a metodologias inconsistentes que ao utilizar apenas exames clínicos com baixas taxas de perda de inserção, sem exames radiográficos, acabam por não confirmar padrão distinto de perda óssea. Além disso, exames clínicos parciais de parâmetros periodontais, principalmente quando da avaliação de periodontite localizada pode subestimar prevalências da doença (SUSIN; HAAS; ALBANDAR, 2014).

Assim, a maior dificuldade encontrada na literatura é a ausência de definição de casos universalmente aceitos que possam ser usados por investigadores que desejam estudar epidemiologia, etiologia, patogênese e tratamento dessas doenças (DEMMER; PAPAPANOU, 2010; ALBANDAR; RAMS, 2002); o que dificulta fazer comparações válidas de um estudo para outro. Estas diferentes definições de doença acarretam alterações na prevalência de periodontite que pode variar de 10 a 65% quando da utilização, respectivamente de quatro e seis critérios diagnósticos diferenciados (COSTA et al., 2009; LOPEZ; BAELUM, 2003).

Porém, ao longo dos anos, tem-se tentado aprimorar os estudos relacionados aos possíveis fatores de risco associados ao surgimento e progressão da PA, em detrimento apenas da utilização de diferentes diagnósticos de doença.

Neste caso, o sexo dependente na doença periodontal agressiva tem sido uma controvérsia entre os estudos; há estudos mostrando uma alta prevalência em mulheres em relação aos homens, com taxas podendo chegar a 3:1 (HORMAND; FRANDSEN, 1979; MELVIN; SANDIFER; GRAY, 1991; BAER, 1971), outros mostrando inconsistências (KRONOVER et al., 1986) e os mais recentes demonstram prevalência comparável em ambos os gêneros (SUSIN; HAAS; ALBANDAR, 2014). Em adultos, os homens estão em maior risco de desenvolver periodontite do que as mulheres. No entanto, os dados referentes a adolescentes e crianças são menos consistentes e há desacordo sobre se realmente o gênero é um fator de risco. Há décadas, Hørmann & Frandsen (1979) mostraram que a razão entre os gêneros na prevalência de periodontite agressiva pode variar dependendo da idade dos sujeitos estudados. Concluiu-se, assim, que a maior prevalência de doença em mulheres se dá nas faixas etária mais jovem relacionada à erupção mais precoce de primeiros molares e incisivos quando comparado aos homens. Consequentemente, efeito do gênero como um fator de risco para periodontite agressiva e o modo exato de herança da doença permanecem obscuros.

De um modo geral, a prevalência de PA tem alta correlação com a menor quantidade de fatores locais, como placa dental e cálculo supra gengival (ALBANDAR et al., 1996), fatores comportamentais, higiene oral e o nível socioeconômico (ALBANDAR et al., 1997).

Ao tratar-se de doença periodontal em geral, dois estudos epidemiológicos em adolescentes indicaram que a inflamação gengival e os fatores locais são fortemente associados ao início precoce da doença (CLEREHUGH et al., 1995; ALBANDAR et al., 1996). Já em um estudo clínico de seis anos de acompanhamento em indivíduos com periodontite de início precoce, as presenças de inflamação gengival, placa e cálculo subgengivais demonstraram, nesse período, a formação de novas lesões no periodonto à progressão da doença e maior perda dental quando comparado a sítios sem essa condição. Isso sugere que há uma associação significativa entre estes três fatores e o desenvolvimento e progressão da periodontite de início precoce (ALBANDAR et al., 1998).

Contudo, existem disparidades significativas no nível de periodontite entre jovens, adultos e idosos no mundo. Albandar et al. (1997) mostraram que a taxa de prevalência da periodontite agressiva é duas vezes maior em adolescentes de 16 a 17 anos do que em crianças de 13 a 15 anos. Além disso, Løe e Brown (1991) estimaram que crianças acima de 15 anos de idade eram até 3,3 vezes mais propensas a ter PA em comparação a crianças de 14 anos de idade. Em uma pesquisa populacional realizada em escolares, Lopez et al. (2001) encontraram uma correlação entre a idade e a presença de perda de inserção de 3 mm ou mais. Eles estimaram que indivíduos com idade entre 15-17 anos e 18-21 anos, respectivamente, tiveram 1,6 e 3 vezes mais probabilidades de ter perda de inserção do que crianças de 12 a 14 anos (LOPEZ et al., 2001). Albandar e Rams (2002) estudaram o estado periodontal de um grupo de alunos ugandeses e descobriram que o percentual de indivíduos com perda de inserção clínica de 4 mm foi de 27% em 12-16 anos e 29% entre 17-19 anos de idade, e este aumentou para 35% em indivíduos 20-25 anos de idade. Esse padrão de correlação positiva entre a prevalência de periodontite e a idade parece ser semelhante para a periodontite agressiva e crônica, e também semelhante ao padrão de correlação entre periodontite crônica e idade observada em adultos (ALBANDAR; BRUNELLE; KINGMAN, 1999; ALBANDAR, 2002a; ALBANDAR, 2002b).

Além da idade, a etnia contribui fortemente na prevalência das doenças periodontais. Løe & Brown (1991) apresentaram um aumento significativo no risco de PA em negros, e estimaram que na idade de 14-17 anos tinham 15-16 vezes mais probabilidade de serem diagnosticados com PAL ou PAG do que os brancos. Hispânicos, por outro lado, foram quatro vezes mais propensos a ter PAL em relação aos adolescentes não-hispânicos. Assim, quando compara-se a etnia, PA é mais observada entre os africanos e menos prevalente entre caucasianos na Europa e América do Norte (SUSIN; HAAS; ALBANDAR, 2014).

As disparidades nas condições periodontais parecem ocorrer em grande parte entre os diferentes fatores de renda. Populações com baixo nível socioeconômico carecem financeiramente de atitudes e comportamentos saudáveis para a saúde bucal, bem como para a saúde sistêmica. Além disso, a susceptibilidade a doença periodontal é agravada ainda mais pela aparente ocorrência nestas populações de certos fatores de risco biológicos e microbiológicos que aumentam ainda mais sua

predisposição a doenças periodontais (ALBANDAR; RAMS, 2002; ALBANDAR, 2002a).

Vários estudos relataram uma forte associação entre um baixo nível socioeconômico e um alto risco de doenças periodontais. Drury, Garcia e Adesanya (1999) ao usar dados da US NHANES III encontraram uma prevalência significativamente maior de sangramento gengival e perda de inserção de 4 mm em grupos com níveis socioeconômicos mais baixos. Aass et al. (1988) ao examinarem escolares noruegueses observaram uma maior prevalência de perda óssea radiográfica em crianças de grupos socioeconômicos mais baixos do que os mais elevados. Um achado semelhante foi relatado em estudantes chilenos no qual a baixa renda foi associada a uma maior prevalência de perda de inserção de 3mm (LOPEZ et al., 2001).

Em contrapartida, os fatores genéticos podem exercer um papel significativo na patogênese da periodontite agressiva assim como na periodontite crônica (PERRY; NEWMAN, 1990), e estes podem ser atribuídos à importância do sistema imune inato do hospedeiro (MULLALLY; BREEN; LINDEN, 1999). Uma resposta deficiente do hospedeiro à infecção periodontal, isto é, certos polimorfismos genéticos podem tornar o sistema imunológico defeituoso, o que poderá acarretar um aumento na susceptibilidade à periodontite agressividade (MENG et al., 2007; Yang et al., 2009). Estudos sugerem que os defeitos na quimiotaxia e função nos neutrófilos podem ser fatores etiológicos chave na patogênese da periodontite agressiva já que estes defeitos impedem a resposta do sistema imune e assim contribuem para a perda pronunciada de tecido periodontal (RYDER, 2010).

Visto à interferência dos fatores genéticos na PA, a agregação familiar também surge como uma característica da doença e um fator determinante no diagnóstico do caso. Em 1969, Butler descreveu os achados periodontais em uma família, onde dois dos cinco irmãos tinham características clínicas e radiográficas de periodontite agressiva, a mãe das crianças tinha perdido todos os dentes em sua adolescência, e uma tia e o avô maternos dos irmãos tinham perdido os dentes em uma idade precoce. Outros estudos também descrevem casos de periodontite agressiva agrupados em famílias, sugerindo uma contribuição genética significativa através de uma herdabilidade estimada em aproximadamente 30% (HOFFMANN, 1983; SAXEN, 1980; VANDESTEEN, 1984; VOGEL; DEASY, 1980; DIEHL et al., 2005).

Porém, estas prevalências estão associadas à descrição de populações urbanas a nível epidemiológico. Estudos para avaliar as condições periodontais em indivíduos jovens que residem em áreas rurais desprovidos de atendimento odontológicos locais e distantes da área urbana não são descritos na literatura. Logo, uma lacuna em relação à prevalência de PA é estabelecida, bem como se há alguma diferenciação no desenvolvimento e progressão desta doença.

2.1.5 Critérios de diagnóstico

Critérios relacionados aos diagnósticos clínicos, aos fatores etiológicos e aos discriminantes biológicos são usados para classificação das doenças periodontais. No entanto, devido a lacunas relacionadas ao conhecimento incompleto da patogênese dessas doenças, o critério de diagnóstico clínico, até o momento, é a melhor alternativa encontrada (ALBANDAR; TINOCO, 2002).

Assim, a medição clínica da perda de inserção periodontal e/ou avaliação radiográfica do osso alveolar em um determinado período e/ou longitudinalmente bem como a idade do início da doença são critérios usados na maioria dos estudos clínicos e populacionais (ALBANDAR et al., 1997; BAER, 1971; GENCO et al., 1986).

Além das variações metodológicas, a extensão de doença gera grandes alterações entre os estudos (DEMMER; PAPAPANOU, 2010). Uma recente revisão de definições de periodontite usando estudos epidemiológicos (SAVAGE et al., 2009) relatou aumento de PS variando de ≥ 3 a ≥ 6 mm, e NIC de ≥ 1 a ≥ 6 mm. Já em relação a dentes e sítios afetados a variação ocorre de no mínimo um ou mais dentes (ARBES; AGÚSTSDÓTTIR; SLADE, 2001) a $>30\%$ dos sítios na dentição, respectivamente.

Baer, em 1971, foi o precursor ao definir a classificação de PA e os possíveis critérios diagnósticos da mesma. Estava relacionada idade inicial, padrão radiográfico de perda óssea alveolar, taxa de progressão de doença, dentição afetada, fatores locais, gênero predominante e a caracterização de agregação familiar (BAER, 1971).

Definição de casos associados a estudos epidemiológicos vem demonstrando falta de uniformidade na definição de periodontite e os resultados substanciais variam as estimativas de prevalência global devido às inconsistências metodológicas (10, 39, 40). A fim de tentar amenizar esses problemas, Susin e Albandar 2005 utilizaram do critério de idade e de perda de inserção para a classificação dos indivíduos. Aqueles

com idade entre 14-19 anos deveriam ter quatro ou mais dentes com NIC ≥ 4 mm, enquanto os de 20-29 anos de idade deveriam ter quatro ou mais dentes com NIC ≥ 5 mm para serem classificados com PA (SUSIN; ALBANDAR, 2005).

Com objetivo de melhor utilização dos dados clínicos, Page e Eke, em 2007, definiram clinicamente a periodontite baseados na combinação de profundidade de sondagem e medidas de nível clínico de inserção. Avaliação esta exclusiva em faces interproximais a fim de facilitar distinção entre periodontite e perda de inserção casual, porém sem incorporar a condição inflamatória atual do indivíduo e a idade (PAGE; EKE, 2007).

Entretanto, diante da necessidade de contemplar todos os critérios clínicos já utilizados, Demmer e Papapanou (2010) propuseram uma adaptação da classificação acima descrita incorporando além de sinais inflamatórios, a medida de perda de tecido periodontal em relação à idade.

3 ARTIGO 1 - PERIODONTITE EM ADULTOS JOVENS RESIDENTES NA ÁREA RURAL DO SUL DO BRASIL: UM ESTUDO TRANSVERSAL

Este artigo será submetido ao periódico *Journal of Clinical Periodontology*, ISSN: 1600-051X, Fator de impacto = 3.915; Qualis A1.

Periodontitis in young adults living in the rural area of Southern Brazil: a cross-sectional study

Jociana Boligon¹, Ticiane G. Mário¹, Maísa Casarin¹, Alessandra Grellmann¹, Silvia C. David¹, Fabricio B. Zanatta², Carlos H. C. Moreira²

¹ PhD Student, Post-Graduate Program in Dental Science, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil.

² Adjunct Professor, discipline of Periodontics, Department of Stomatology, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil.

Corresponding author: Carlos Heitor Cunha Moreira. Marechal Floriano Peixoto St., 1184, 97015-372, Santa Maria, RS, Brazil. Tel./Fax: +55 55 3220.9284. E-mail address: carlosheitormoreira@gmail.com.

Clinical Relevance

Scientific reasons for the study: Presence of disparities in the literature related to the prevalence of aggressive periodontitis in young adults and the little evidence these characteristics in those individuals living in the rural area.

Main findings: High prevalence of aggressive periodontitis in the sample. Smoking habit and race were considered risk indicators for the increase in the prevalence of the aggressive periodontitis.

Practical implications: Needs of an oral health strategy that contemplates dental care in rural areas isolated and distant from large centers.

ABSTRACT

Aim: To describe the prevalence, extent and severity of periodontitis in young adults of a representative sample in the rural population.

Material & Methods: A representative sample of 171 individuals aged 15-35 years were clinically assessed, per two examiners trained and calibrated, for periodontal clinical parameters at six sites per tooth. Three different clinical periodontal diagnostics criteria were used to classify individuals with aggressive periodontitis.

Results: Higher presence of plaque retentive factor (31.07 ± 3.15), mean insercion attachment level (CAL) (2.08 ± 0.14), tooth loss in smokers (16.6%) and ex-smokers (21.7%) was observed in older individuals (26-35 years). Prevalence and number of affected teeth, when periodontitis was evaluated according to severity, was twice as high in individuals with severe periodontitis (7.42 ± 1.03) compare to moderate (3.28 ± 0.54) or mild (3.74 ± 0.27). Higher proportions of teeth and affected sites with aggressive periodontitis were observed on CAL and probing deepth ≥ 3 and ≥ 4 mm respectively. Race ($p=0.022$) and smoking habit ($p=0.012$) were considered risk indicators for the increase in the prevalence of aggressive periodontitis.

Conclusions: In the present study, the results showed a high prevalence of periodontitis affecting young adults residing in rural areas of rural Brazil. This prevalence was more observed in non-white, smokers and older individuals.

Keywords: periodontitis, aggressive, epidemiology, prevalence.

INTRODUCTION

Periodontitis, chronic and aggressive, can affect young adults. However, their prevalence is lower compare to older individuals, and their presence is associated with greater susceptibility, leading to greater dental morbidity and mortality in the future (Albandar & Tinoco 2002). High variability in prevalence of the periodontal disease has been reported in different populations (Melvin et al. 1991, Albandar et al. 2002, Susin & Albandar 2005). These differences may be related to methodological issues such as sample selection, number of teeth / sites examined and definitions used to define a case of periodontitis (Lopez & Baelum 2003, Costa et al. 2009). Biological, behavioral and socioeconomic differences may also be responsible for differences in estimates (Albandar & Rams 2002). Within this context, rural and urban populations may have different characteristics that may expose individuals to different risk factors as well as access to health services that enable early diagnosis and appropriate treatment of different pathological conditions that may affect the oral cavity.

At the global level, studies evaluating representative samples of the urban population describe a low prevalence of periodontal diseases affecting young adults. In Europe, a prevalence of 0.1% has been reported (Kronauer et al. 1986), in North America there a variation of 0.4% to 0.8% (Albandar et al. 1997), in South America the prevalence of disease is between 0.32% and 5.5% (Lopez et al. 1991), in Asia between 0.13% and 0.6% (Eres et al. 2009, Sadeghi 2010), while in Africa this percentage arrives at 3.4% (Elamin et al. 2010).

Epidemiological studies that describe the prevalence of periodontitis in adolescents and young adults in Brazil are reduced (Gjeramo et al. 1984, Tinoco et al 1997, Costa et al. 2000, Susin & Albandar 2005). When we stipulate the occurrence of this condition in rural areas, distant from large centers and without dental care, there

is little information available (Baelum & Fejerskov 1986, Baelum et al. 1986, Manji et al. 1988) while there are no studies in the Brazilian population.

Data on the determinants of periodontal risk are scarce and still not conclusive, pointing to the presence of multiple factors. Genetic predisposition (Albandar & Rams 2002, Kinane & Hart 2003) and specific microbiota (Tinoco et al. 1997) have been shown to increase the risk of disease occurrence. Age (Albandar 2002), certain ethnic groups (Albandar et al. 1997), low socioeconomic status (Susin & Albandar 2002, Albandar & Rams 2002), poor oral hygiene (Lopez et al. 2001), calculus presence (Susin & Albandar 2002)² and smokers status (Susin & Albandar 2002, Hashim et al. 2002) were also associated with destructive periodontal disease in young individuals.

Studies in samples with limited access to health services, using full mouth periodontal exams that describe the prevalence, extent and severity of periodontitis aggressive comparing the impact of the different criteria for the definition of periodontitis are not available in the literature. A better understanding of the impact that the presence of periodontitis and treatment needs are important for the planning health`s strategies.

The aim is to describe the prevalence, extent and severity of periodontitis in young adults of a representative sample of individuals living in a rural area.

MATERIALS AND METHODS

Study Design

This study had a cross-sectional design of a representative sample of the rural area of Rosario do Sul - RS, South of Brazil. For this study, it was analyzed a subsample that included individuals with age among 15-35 years old.

Sample Size

For the calculation of the sample size of the epidemiological survey, it was considered a rural population resident of 15 years or more, of 4000 inhabitants (IBGE 2010), a prevalence of 50% of periodontal disease (worst case scenario), absolute precision of 4% and delineation of 1.3. At a 95% confidence interval, the estimated sample was of 679 individuals. Also, with correction for finite populations, using the formula " $N_{set} = n / 1 + (n / N)$ " (where "n" is the calculated size and "N" is the size of the population), 580 participants would be needed.

Sampling Procedures

A population-weighted draw was carried out, based on information provided by IBGE (IBGE 2010). According to the IBGE, there are 6 districts and 36 rural sectors. Six sectors, which had no data from individuals with 15 years of age or older by sector was not included. The remaining 30 sectors were initially grouped in three strata (small, medium and large) according with the number of households (small: 6-35, medium: 36-61, large: 62-189). Three randomized sequences were generated in the program Research Randomizer (available at <http://www.randomizer.org/form.htm>) for selection of 17 sectors (3 small, 7 medium and 7 large) allowing the 6 districts were evaluated. The number of individuals examined in each sector should be weighed against the total number of households and individuals living in this sector (IBGE 2010). In the sectors where community health workers were present, the place to be examined were allocated according to the list of households. In sectors without this performance, densely populated areas were established through maps provided by the IBGE, being this place previously confirmed by the researchers to be the starting point for the selection of households and individuals. From the point of view of departure, all houses on the right and left straight (main road) were until the pre-determined number of

households or been contacted. When the numbers of households or individuals were not obtained with this strategy, secondary roads were accessed up to 5 kilometers right or left of the main road, in order to evaluate the number of individuals required.

Study population

Individuals aged 15-35 living in the rural area of the municipality of Rosario do Sul-RS (Brazil) were eligible to participate in the study. Exclusion criteria were: individuals with systemic diseases that contraindicated the clinical examination, as well those who needed antimicrobial prophylaxis to perform the tests and diagnosed with psychiatric or drug intoxication problems.

Ethical Considerations

Eligible subjects provided informed consent. This study was performed in accordance with the Declaration of Helsinki and was approved by the Ethics Committee in Research of the Federal University of Santa Maria, RS, Brazil (CAAE: 37862414.5.0000.5346).

Operational Procedures

All the clinical examination was performed in a mobile unit that consisted of a trailer equipped with a complete dental unit (dental chair, light, compressor, dental x-ray, and others basic equipment's). The unit was moved to a central point in each rural sector according to survey schedule. Two examiners performed the clinical examination between March 2015 and May 2016.

Clinical Examination

All permanent fully erupted teeth excluding third molars, were examined with a manual periodontal probe with mm markings (Williams, Neumar, São Paulo, SP, Brazil). Six sites per tooth were assessed: mesiobuccal, mid-buccal, distobuccal,

distolingual, mid-lingual and mesiolingual sites. Visible plaque index (VPI) (Ainamo & Bay 1975), gingival bleeding index (GBI) (Ainamo & Bay 1975) and bleeding on probing (BoP) were collected as presence/absence. Plaque retentive factors were considered as the presence of calculus, residual roots, presence of poorly adapted restorations and caries (cavities). Probing depth (PD) was defined as the distance from the free gingival margin to the bottom of the pocket/sulcus. Periodontal attachment loss (CAL) was defined as the distance from the CEJ to the bottom of the pocket/sulcus and was calculated as the sum of the probing depth and gingival recession measurements. Measurements were made in mm and were rounded to the lower whole mm.

Measurement Reproducibility

Two examiners (JB and MC) were trained for clinical data VPI, GBI and BOP. A calibration was performed for PD and CAL, and intra-examiner reproducibility was measured by repeated examinations. An experienced examiner was considered as the gold standard for inter-examiner calibration. The training and calibration procedures were performed until satisfactory reproducibility was obtained, defined as a minimum of 80% agreement between repeated measurements [ICC > 0.80]. The exams were performed before and during the study. Where it resulted in the intra-examiner analysis in an intraclass correlation coefficient for PD of 0.926 / CAL of 0.915 (before) and PD of 0.887 / CAL of 0.879 (during) for the examiner 1. For the examiner 2, PD of 0.958 / CAL of 0.931 and PD of 0.900 / CAL of 0.895 (during). The results of the inter-examiner exam were 0.889 for PD and 0.845 for CAL before the study and 0.956 for PD and 0.914 for CAL during the study.

Data Analysis

For the statistics analyses of clinical data, mean and standard errors was used. Analysis of complex samples used to insert the effects of the design (weight of the

sector) in each individual examined. Three different diagnostic criteria for aggressive periodontitis were performed (Susin & Albandar 2005, Demmer & Papapapou 2010, Eke et al. 2012).

Race was scored as white or nonwhite. The age strata were selected based on the criteria for the diagnosis of aggressive periodontitis. Socioeconomic level was defined based on the value of the national salary in the year 2015 (\$ 250.00) and stratified according to tertiles. The study subjects were classified according to the self-reported pattern of dental visits during the last years and use of interdental devices. Third molars were only used to count the total number of teeth. Educational level was reported in continuous and stratified study years according to percentiles of 50%.

The descriptive analysis of the data was performed through means, medians, standard errors and interquartile ranges for continuous variables and distributions of frequencies for categorical variables. The percentages of sites per person with visible dental plaque, gingival bleeding or supragingival calculus were calculated by dividing the number of sites with each of these variables, by the total number of sites within the subject. Significant differences among groups were tested by Test t de Student, Chi-square and Fisher's exact tests. All statistical tests were performed using Statistical Package for the Social Sciences (SPSS) software, version 21.0 (IBM, São Paulo, SP, Brazil). The level of significance for all analyses was 5%.

RESULTS

Of a total of 688 individuals clinically examined in the whole epidemiological survey, 171 individuals were between 15-35 years of age. Such as non-response rate, of those eligible individuals in this age group, 84 were not examined for reasons including refusal and displacement problems.

Table 1 summarizes demographic, socioeconomic and clinical characteristics from baseline of the included subjects. No statistically significant differences were observed for gender, race, socioeconomic and educational level, brushing frequency, interproximal cleaning and dental visit in the last year, in the respective age stratum evaluated. A greater number of smokers and ex-smokers were observed in individuals older in both strata. Individuals older had higher tooth loss, higher depth of probing, greater loss of insertion and bleeding on probing (between 20-29 years). When it was evaluated, stratum between 26-35 years was observed a higher presence of FRP, mean CAL and teeth loss. Supragingival parameters were not different (VPI and GBI) in all strata evaluated.

The total prevalence of aggressive periodontitis increases on stratum which individuals were older according to the criteria of Susin & Albandar and Eke et al (Susin & Albandar 2005, Eke et al. 2012). For Demmer & Papapanou criteria periodontitis prevalence was more on 15-25 years strata (Demmer & Papapanou 2010). The number of teeth involved when evaluated criteria proposed by Susin & Albandar and Demmer & Papapanou on different strata of individuals were not different (table 2) (Susin et al. 2005, Demmer & Papapanou 2010). In contrast, prevalence and number affected teeth when periodontitis was evaluated according to severity was twice as higher in individuals with severe periodontitis compared to moderate or mild.

All parameters increased following the age stratus. The higher sites and teeth proportion were observed on CAL and PPD ≥ 3 and ≥ 4 mm respectively (table 3).

In this sample, when we observed data according to criteria of Demmer & Papapanou (Demmer & Papapanou 2010), race and smoking habit were considered risk indicators for the increase in the prevalence of aggressive periodontitis (table 4).

Lower incisors and molar of both arches presented greater loss of insertion with increasing age (figure 1), whereas the less affected teeth were canines and premolars.

DISCUSSION

In the present study, a high prevalence of periodontitis affecting young adults residing in rural areas was observed using three criteria to define periodontitis. Higher prevalence was associated with non-white, smokers and older individuals.

Different methodologies have been outlined in studies worldwide to estimate periodontitis prevalence affecting young individuals. These differences lead to significant variability in the estimates, in function this is difficult to compare them. In this study, three criteria were used to define a case of periodontitis. The CDC / AAP criterion (Eke et al. 2012) for assessing different stages of severity in CAL levels and being highly recommended for estimating prevalence in epidemiological studies (Holtfreter et al. 2015). Demmer and Papapanou, which evaluates the inflammatory characteristics in different age and severity strata considering only interproximal surfaces (Demmer & Papapanou 2010), eliminating possible CAL due to non-inflammatory reasons on free surfaces and criteria proposed by Susin & Albandar by similar methodology (Susin & Albandar 2005).

In this study, a total prevalence of aggressive periodontitis in the sample was 13.51% in the 15-19 year old and 20.89% in the 20-29 year old group. These findings were higher than those reported by Susin & Albandar, in which, for the same age groups, the prevalence was 2.5% and 14.2%, respectively (Susin & Albandar 2005). These differences may be related to the different characteristics of our sample. In contrast to individuals living in urban area with more access to dental care and health information, our sample was strictly rural residents, distant from dental treatment

services and in which approximately half of the individuals reported not having gone to the dentist in the last year.

Individual's family owned with low educational and socioeconomic levels composed our sample. This has been considered a risk factor for progression of attachment loss (Haas et al. 2012, Susin et al. 2014, Haas et al. 2014). The community context can influence many behaviors and inequalities can difficult access to health care and others basic amenities. This population depends on almost exclusively on public services for their health needs. Once a year, attendance with physician, nurse and dentist, which are done in these rural areas in the mobile unit, do not enough to treat diseases and effectively promote health. Many cases of periodontal disease are not diagnostics or receive treatment, and then diseases follow their natural history.

Our data concerning the prevalence of disease were higher than the results found by other authors such as Loe & Brown who observed 2.6% (Loe & Brown 1991), Nassar et al. (1994) found 0.42% (Nassar et al. 1994), Tinoco et al. reported a prevalence of 0.3% (Tinoco et al. 1997), Gjermo et al., in which, of the 304 individuals examined, 3.7% had characteristics of aggressive periodontitis (Gjermo et al.1984), Elamin et al. who demonstrated a prevalence of 3.4% (Elamin et al. 2010) and Albandar et al. who found a prevalence of 1.8% (Albandar et al. 1991). These differences can be explained initially by the mean age of the studied population, in which the studies cited were around 15 years, while in this study it was almost double (26 years old). Different criteria for classification of periodontal disease used, as well as partial protocols of periodontal exams can also considerably distort the true prevalence estimates. In our study, we prioritized the use of diagnostic criteria already used in other studies and periodontal examinations completed at six sites per tooth with only two trained and calibrated examiners before and during the examinations to

avoid possible biases and to underestimate disease particularly in Populations with low occurrence of the disease (Kingman & Albandar 2002).

Aggressive periodontitis is initially characterized by loss of insertion and loss of alveolar bone on interproximal surfaces and permanent first molars (Oh et al. 2002, Susin & Albandar 2005). In our study, these findings were also observed, with the greatest loss of insertion associated with the inflammatory condition of bleeding were verified in these teeth, as well as increasing along with age.

Aggressive periodontitis progresses with increasing age and this may lead to significant periodontal tissue loss (Brown et al. 1996). Therefore, the characteristic periodontal lesions, which are typical of this disease may be more easily identified in the older age groups. Individuals with higher prevalence of depth of probing and clinical level of insertion were observed as age increased corroborating with the data from other studies (Löe & Brown 1991, Albandar et al. 1991).

With increased age, also verified by the different strata, increased the proportion of individuals classified as a case of periodontitis. Similarly, other studies have shown that, despite aggressive periodontitis affecting young adults, older adults had higher disease rates (Löe & Brown 1991, Albandar et al. 1991).

Increased estimates of aggressive periodontitis are observed in African-American and Hispanic individuals than in whites (Löe & Brown 1991), and the prevalence associated with race is closely related to the different geographic locations studied (Susin et al. 2014). In this population, the skin color played a significant role as a risk indicator for AgP, the percentage of individuals with AgP being twice as high among non-whites than in whites.

The effects of smoking on chronic periodontitis in adults is already strongly elucidated in the literature (Haas et al. 2014). In relation to young individuals, although

studies show that smoking is considered an indicator of risk for the development of aggressive periodontitis (Hashin et al. 2001, Susin & Albandar 2005). Fully elucidated in the literature. Findings in our study corroborate with the previously cited studies in which smokers and former smokers had a higher risk of developing aggressive periodontitis than never smokers. Will be necessary plan strategies to diagnostic and do treatment early periodontitis or individuals in this population will have many loss teeth associate with periodontitis progression.

This study showed a high prevalence of AgP in this rural Brazilian population of adolescents and young adults. Individuals older had higher tooth loss, higher depth of probing, greater loss of insertion and bleeding on probing risk indicators for AgP were smoke and race. Strategic plans in health that seek to meet rural populations regarding their periodontal needs will be important to reduce morbidity and dental loss.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors state that there are no potential conflicts of interest.

REFERENCES

- Ainamo, J. & Bay, I. (1975) Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J* **25** (Suppl. 4), 229-235.
- Albandar, J.M. (2002) Global risk factors and risk indicators for periodontal diseases. *Periodontol 2000* **29**, 177-206.
- Albandar, J.M., Baghdady, V.S. & Ghose, L.J. (1991) Periodontal disease progression in teenagers with no preventive dental care provisions. *J Clin Periodontol* **18**,300-304.
- Albandar, J.M., Brown, L.J. & Løe, H. (1997) Clinical features of early-on-set periodontitis. *J Am Dent Assoc* **128**, 1393-1399.
- Albandar, J.M., Muranga, M.B. & Rams, T.E. (2002) Prevalence of aggressive periodontitis in school attendees in Uganda. *J Clin Periodontol* **29** (Suppl.9), 823-831.

- Albandar, J.M. & Rams, T.E. (2002) Risk factors for periodontitis in children and Young persons. *Periodontol 2000* **29**, 207-222.
- Albandar, J.M. & Tinoco, E.M.B. (2002) Global epidemiology of periodontal diseases in children and young persons. *Periodontology 2000* **29** (Suppl.1), 153-176.
- Baelum, V. & Fejerskov, O. (1986) Tooth Loss as Related to Dental Caries and Periodontal Breakdown in Adult Tanzanians. *Community Dent Oral Epidemiol* **14**, 353-357.
- Baelum, V., Fejerskov, O. & Karring, T. (1986) Oral Hygiene, Gingivitis and Periodontal Breakdown in Adult Tanzanians. *J Periodont Res* **21**, 221-232.
- Brown, L.J., Albandar, J.M., Brunelle, J.A & Løe, H. (1996) Early-onset periodontitis: progression of attachment loss during 6 years. *J Periodontol* **67** (Suppl. 10), 968-975.
- Costa, F.O., Guimaraes, A.N., Cota, L.O., et al. (2009) Impact of different periodontitis case definitions on periodontal research. *J Oral Sci* **51**, 199-206.
- Costa, F.O., Marcos, B., Costa, J.E. & Lima, L.C. (2000) Prevalência de doença periodontal de início precoce em crianças e adolescentes de uma escola pública em Belo Horizonte. *Rev CROMG* **6**, 53-62.
- Demmer, R.T. & Papapanou, P.N. (2010) Epidemiologic patterns of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontol 2000* **53**, 28-44.
- Eke, P.I., Page, R.C., Wei, L., Thornton-Evans, G. & Genco, R.J. (2012) Update of the Case Definitions for Population-Based Surveillance of Periodontitis. *J Periodontol* **83**, 1449-1454.
- Elamin, A.M., Skaug, N., Ali, R.W., Bakken, V. & Albandar, J.M. (2010) Ethnic disparities in the prevalence of periodontitis among high school students in Sudan. *J Periodontol* **81**, 891-896.

Eres, G., Saribay, A. & Akkaya, M. (2009) Periodontal treatment needs and prevalence of localized aggressive periodontitis in a young Turkish population. *J Periodontol* **80**, 940-944.

Gjeramo, P., Bellini, H.T., Pereira Santos, V., Martins, J.G. & Ferracyoli, J.R. (1984) Prevalence of bone loss in a group of Brazilian teenagers assessed on bite-wing radiographs. *J Clin Periodontol* **11**, 104-113.

Haas, A.N., Gaio, E.J., Oppermann, R.V., Rösing, C.K., Albandar, J.M. & Susin, C. (2012) Pattern and rate of progression of periodontal attachment loss in an urban population of South Brazil: a 5-years population-based prospective study. *J Clin Periodontol* **39** (Suppl. 1), 1-9.

Haas, A.N., Wagner, M.C., Oppermann, R.V., Rösing, C.K., Albandar, J.M. & Susin, C. (2014) Risk factors for the progression of periodontal attachment loss: a 5-year population-based study in South Brazil. *J Clin Periodontol*; **41** (Suppl. 3), 215-223.

Hashim, R., Thomson, W.M. & Pack, A.R.C. (2001) Smoking in adolescence as a predictor of early loss of periodontal attachment. *Community Dent Oral Epidemiol* **29**, 130-135.

Holtfreter, B., Albandar, J.M., Dietrich, T., et al. (2015) Standards for reporting chronic periodontitis prevalence and severity in epidemiologic studies: Proposed standards from the Joint EU/USA Periodontal Epidemiology Working Group. *J Clin Periodontol* **42** (Suppl. 5), 407-412.

IBGE. (2010) Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/censo2010/default.shtm>.

Acessado em 25 de janeiro de 2017.

Kinane, D.F. & Hart, T.C. (2003) Genes and gene polymorphisms associated with periodontal disease. *Crit Rev Oral Biol Med* **14** (Suppl. 6), 430-449.

- Kingman, A. & Albandar, J.M. (2002) Methodological aspects of epidemiological studies of periodontal diseases. *Periodontol 2000* **29**, 11-30.
- Kronauer, E., Borsa, G. & Lang, N.P. (1986) Prevalence of incipient juvenile periodontitis at age 16 years in Switzerland. *J Clin Periodontol* **13**, 103-108.
- Löe, H. & Brown, L.J. (1991) Early onset periodontitis in the United States of America. *J Periodontol* **62**, 608–616.
- Lopez, R. & Baelum, V. (2003) Classifying periodontitis among adolescents: implications for epidemiological research. *Community Dent Oral Epidemiol* **31**, 136-143.
- Lopez, R., et al. (2001) Epidemiology of clinical attachment loss in Chilean adolescents. *Journal of Periodontology* **72**, 1666-1672.
- Lopez, N.J., Rios, V., Pareja, M.A. & Fernandez, O. (1991) Prevalence of juvenile periodontitis in Chile. *J Clin Periodontol* **18**, 529-533.
- Manji, F., Baelum, V. & Fejerskov, O. (1988) Tooth Mortality in an Adult Rural Population in Kenya. *J Dent Res* **67** (Suppl. 2), 496-500.
- Melvin, W.L., Sandifer, J.B. & Gray, J.L. (1991) The prevalence and sex ratio of juvenile periodontitis in a young racially mixed population. *J Periodontol* **62** (Suppl. 5), 330-334.
- Nassar, M.M., Afifi, O. & Deprez, R.D. (1994) The prevalence of localized juvenile periodontitis in Saudi subjects. *J Periodontol* **65**, 698-701.
- Oh, T.J., Eber, R. & Wang, H.L. (2002) Periodontal diseases in the child and adolescent. *J Clin Periodontol* **29** (Suppl. 5), 400-410.
- Sadeghi, R. (2010) Prevalence of aggressive periodontitis in 15–18 year old school-children in Tehran, Iran. *Community Dent Health* **27**, 57-59.
- Susin, C. & Albandar, J.M. (2005) Aggressive periodontitis in an urban population in southern Brazil. *J Periodontol* **76**, 468-475.

Susin, C., Haas, A.N. & Albandar, J.M. (2014) Epidemiology and demographics of aggressive periodontitis. *Periodontol 2000* **65** (Suppl. 1), 27-45.

Tinoco, E.M., Beldi, M.I., Lourenço, C.A., et al. (1997) Localized juvenile periodontitis and *A. actinomycetemcomitans* in a Brazilian population. *Eur J Oral Sci* **105**,109-114.

Table 1. Demographic, socioeconomical and clinical parameters of the individuals included in this study.

	15 - 19 years	20 - 29 years	<i>p</i>	15 - 25 years	26 - 35 years	<i>p</i>
Numbers of subjects	n=37	n=67		n=72	n=99	
Age ($\mu\pm SE$)	16.61 \pm 0.11	24.58 \pm 0.44		19.56 \pm 0.40	30.98 \pm 0.24	
Gender n(%)			<i>p</i> =0.74			<i>p</i> =0.16
Male	20(51.2)	34(52.3)		41 (56.4)	38 (39.8)	
Female	17 (48.8)	33(47.7)		31 (43.6)	61 (60.2)	
Race n(%)			<i>p</i> =0.23			<i>p</i> =0.77
White	27 (71.1)	41(60.6)		45 (61.9)	64 (59.2)	
Non-White	10 (28.9)	26(39.4)		27 (38.1)	35 (40.8)	
Socioeconomic level n(%)			<i>p</i> =0.72			<i>p</i> =0.83
\leq R\$ 750,00	10 (24.8)	19(26.5)		17 (20.3)	27 (27.0)	
>R\$ 750,00 the \leq R\$ 1.125,00	15 (39.9)	24(33.6)		26 (35.9)	38 (37.6)	
> R\$ 1.125,00	10 (28.7)	24(39.9)		27 (40.5)	34 (35.4)	
No answer	2 (6.6)	0(0.0)		2 (3.2)	0 (0.0)	
Educational Level n(%)			<i>p</i> =0.52			<i>p</i> =0.69
\leq 8 years of study	18 (47.4)	37(50.5)		40 (51.9)	58 (59.6)	
> 8 years of study	19 (52.6)	30(49.5)		32 (48.1)	41 (40.4)	
Smoking status n(%)			<i>p</i> =0.00			<i>p</i> =0.17
Never smokers	35 (95.9)	45(62.4)		56 (75.1)	64 (61.7)	
Former smokers	2(4.1)	9(17.8)		8 (12.0)	19 (21.7)	
Current smokers	0(0.0)	13(19.8)		8 (12.8)	16 (16.6)	
Tooth brushing frequency n(%)			<i>p</i> =0.92			<i>p</i> =0.97
\leq 2 times/day	14 (37.9)	26(37.2)		26 (35.5)	36 (35.9)	
> 2 times/day	23 (62.1)	41(62.8)		46 (64.5)	63 (64.1)	
Use of interdental care devices n(%)			<i>p</i> =0.10			<i>p</i> =0.58
No	5 (16.0)	9(12.7)		10 (15.3)	11 (10.6)	
Yes	32 (84.0)	58(87.3)		62 (84.7)	88 (89.4)	
Last dental visit n(%)			<i>p</i> =0.09			<i>p</i> =0.88
No	14 (40.8)	37(56.7)		35 (48.5)	47 (50.7)	
Yes	23 (59.2)	30(43.3)		37 (51.5)	52 (49.3)	
Tooth count* $\mu\pm dp$	27.39 \pm 0.16	26.42 \pm 0.24	<i>p</i> =0.00	27.17 \pm 0.13	25.65 \pm 0.32	<i>p</i> =0.00
Tooth count in dentates** $\mu\pm dp$	27.86 \pm 0.20	28.86 \pm 0.34	<i>p</i> =0.00	28.60 \pm 0.28	28.12 \pm 0.33	<i>p</i> =0.90
VPI $\mu\pm dp$	54.65 \pm 4.63	51.02 \pm 3.94	<i>p</i> =0.35	54.52 \pm 3.74	52.73 \pm 2.81	<i>p</i> =0.76
GBI $\mu\pm dp$	22.95 \pm 2.77	23.48 \pm 2.39	<i>p</i> =0.37	23.85 \pm 1.93	22.80 \pm 1.66	<i>p</i> =0.82
FRP $\mu\pm dp$	20.01 \pm 3.31	25.95 \pm 3.16	<i>p</i> =0.06	23.83 \pm 2.56	31.07 \pm 3.15	<i>p</i> =0.02
PD $\mu\pm dp$	2.02 \pm 0.08	2.28 \pm 0.11	<i>p</i> =0.00	2.20 \pm 0.09	2.26 \pm 0.11	<i>p</i> =0.35
CAL $\mu\pm dp$	1.18 \pm 0.12	1.82 \pm 0.16	<i>p</i> =0.00	1.54 \pm 0.16	2.08 \pm 0.14	<i>p</i> =0.00
BOP $\mu\pm dp$	34.20 \pm 4.32	39.72 \pm 2.57	<i>p</i> =0.01	37.79 \pm 3.11	36.20 \pm 2.49	<i>p</i> =0.60

*excluding third molars; **including third molars. All clinical data are presented as means \pm standard error, SE. Demographic and socioeconomic data are presented as numbers (percentages). VPI, plaque index; GBI, gingival index; PD, probing depth; CAL, clinical attachment level, BOP, bleeding on probing. Last dental visit: represents data from last year. The significance of differences among strata of age was assessed using the Mann Whitney test, Test t de Student, Exact fisher test and Crosstabs.

Table 2. Distribution of subjects and teeth affected by AgP according to the diagnostic criteria in total and according to age.

Classification of Periodontitis	Individuals (n%)	Teeth (x±SE)
1. Susin & Albandar 2005		
15-19 years (n=37)	5 (13.51)	9.71±2.85
20-29 years (n=67)	14 (20.89)	10.09±2.26
2. Demmer & Papapanou 2010		
15-25 years (n=72)	23 (31.94)	7.58±1.19
26-35 years (n=99)	18 (18.18)	6.38±0.96
3. Eke et al 2012		
15-25 years (n=72)		
No periodontitis	47 (65.28)	
Mild periodontitis	10 (13.89)	3.28±0.67
Moderate periodontitis	9 (12.50)	4.80±0.58
Severe periodontitis	6 (8.33)	6.09±1.73
26-35 years (n=99)		
No periodontitis	41 (41.41)	
Mild periodontitis	28 (28.28)	3.74±0.27
Moderate periodontitis	15 (15.15)	3.28±0.54
Severe periodontitis	15 (15.15)	7.42±1.03

Data of teeth are presented as mean ± (standard error SE) and data of individuals are presented as numbers (percentagens).

Table 3. Prevalence of at least one affected site and extent (proportion) of affected sites and teeth per mouth by degree of clinical attachment loss (CAL, cut-offs ≥ 3 and 5 mm) or pocket probing depth (PPD, cut-offs ≥ 4 and 6 mm) and Mean in total and according to age.

Measure of periodontitis	Age, years			
	15 - 19	20 - 29	15 - 25	26 - 35
CAL measures ($\mu \pm SE$)	n=37	n=67	n=72	n=99
Prevalence CAL ≥ 3 mm	9.44 \pm 2.94	24.70 \pm 5.12	17.75 \pm 4.76	31.32 \pm 3.78
Prevalence CAL ≥ 5 mm	0.66 \pm 0.43	3.96 \pm 1.89	2.80 \pm 1.32	6.99 \pm 1.97
Proportion of sites/mouth CAL ≥ 3 mm	11.56 \pm 3.81	25.72 \pm 5.03	20.30 \pm 4.99	31.66 \pm 3.74
Proportion of sites/mouth CAL ≥ 5 mm	4.82 \pm 2.19	8.46 \pm 2.91	9.52 \pm 2.87	13.74 \pm 2.44
Proportion of teeth/mouth CAL ≥ 3 mm	27.36 \pm 6.09	49.86 \pm 5.94	39.90 \pm 6.30	59.20 \pm 4.01
Proportion of teeth/mouth CAL ≥ 5 mm	17.32 \pm 6.59	22.07 \pm 6.10	26.16 \pm 6.87	29.27 \pm 4.34
Mean CAL (mm)	1.18 \pm 0.12	1.82 \pm 0.16	1.54 \pm 0.16	2.08 \pm 0.14
PPD measures ($\mu \pm SE$)				
Prevalence PPD ≥ 4 mm	5.08 \pm 1.94	8.63 \pm 2.34	7.83 \pm 2.05	9.67 \pm 1.89
Prevalence PPD ≥ 6 mm	0.32 \pm 0.28	0.71 \pm 0.33	0.72 \pm 0.33	1.08 \pm 0.45
Proportion of sites/mouth PPD ≥ 4 mm	7.85 \pm 2.76	9.43 \pm 2.46	10.16 \pm 2.53	11.08 \pm 1.92
Proportion of sites/mouth PPD ≥ 6 mm	3.48 \pm 2.09	3.28 \pm 0.40	3.94 \pm 0.94	4.12 \pm 0.68
Proportion of teeth/mouth PPD ≥ 4 mm	23.26 \pm 5.32	28.32 \pm 5.45	29.30 \pm 5.40	31.42 \pm 4.
Proportion of teeth/mouth PPD ≥ 6 mm	13.18 \pm 8.26	13.97 \pm 1.86	16.08 \pm 4.02	16.74 \pm 2.14
Mean PPD (mm)	2.02 \pm 0.08	2.28 \pm 0.11	2.20 \pm 0.09	2.26 \pm 0.11

CAL, Clinical attachment loss. PPD, pocket probing depth. Data are presented as means \pm standard error, SE.

Table 4. Risk indicators associated with the diagnosis of aggressive periodontitis.

	15-25 years		<i>p</i>	26-35 years		<i>p</i>
Numbers of subjects	n=72			n=99		
	No AgP	AgP		No AgP	AgP	
Gender (n)			<i>p=0.420</i>			<i>p=0.372</i>
Male	27	14		30	8	
Femine	22	9		51	10	
Race (n)			<i>p=0.022</i>			<i>p=0.013</i>
White	35	10		57	7	
Non-White	14	13		24	11	
Smoking status (n)			<i>p=0.012</i>			<i>p=0.000</i>
Never smokers	43	13		60	4	
Former smokers	3	5		13	6	
Current smokers	3	5		8	8	

No AgP= healthy individuals and AgP= individuals considered diseased.

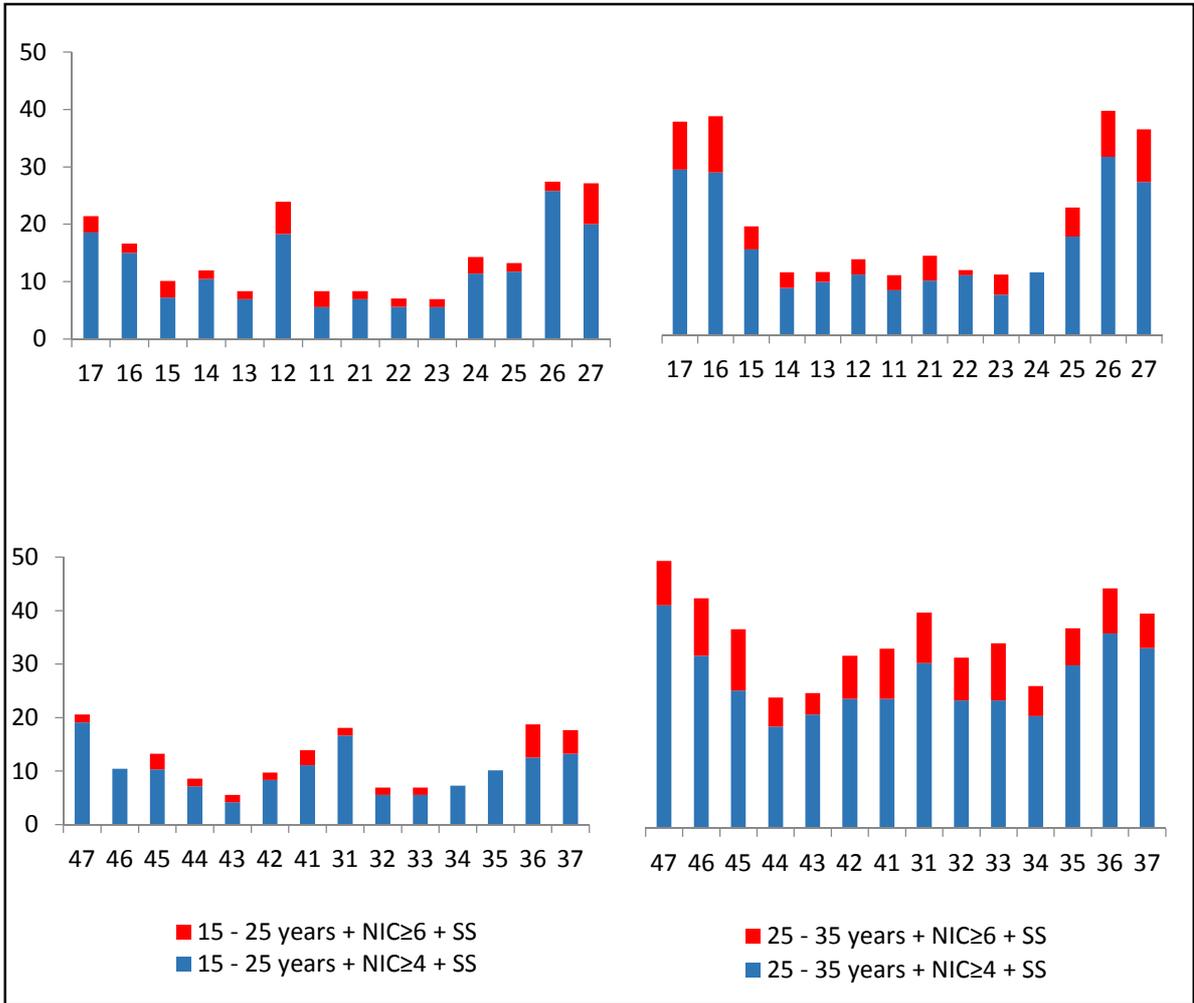


Figure 1. Percentage of teeth by thresholds of attachment loss, tooth type, bleeding on probing, and age group.

APPENDIX

Criteria for the diagnosis of aggressive periodontitis according to the authors:

1. Susin & Albandar 2005:

Two classification criteria of AgP were used depending on the age of the subject. In the 14- to 19-year group, subjects with four or more teeth with attachment loss ≥ 4 mm were defined as having AgP. In the older group (20 to 29 years), cases were defined as those with four or more teeth with attachment loss ≥ 5 mm. Since attachment loss at the mid-buccal surface of teeth can also be caused by factors not related to periodontal inflammation, attachment loss measurements at mid-buccal sites were excluded when classifying the subjects by AgP status.

2. Demmer & Papapanou 2010:

In individuals ≤ 25 years of age, the presence of two or more interproximal, nonadjacent sites with attachment loss of ≥ 4 mm occurring at a minimum of two different teeth and accompanied by bleeding on probing, will signify aggressive periodontitis.

In individuals between 26 and 35 years of age, a diagnosis of aggressive periodontitis will require the presence of two or more interproximal, nonadjacent sites with attachment loss of ≥ 6 mm occurring at a minimum of two different teeth and accompanied by bleeding on probing.

3. Eke et al 2012:

No periodontitis: No evidence of mild, moderate, or severe periodontitis;

Mild periodontitis: ≥ 2 interproximal sites with AL ≥ 3 mm, and ≥ 2 interproximal sites with PD ≥ 4 mm (not on same tooth) or one site with PD ≥ 5 mm;

Moderate periodontitis: ≥ 2 interproximal sites with AL ≥ 4 mm (not on same tooth), or ≥ 2 interproximal sites with PD ≥ 5 mm (not on same tooth);

Severe periodontitis: ≥ 2 interproximal sites with AL ≥ 6 mm (not on same tooth) and ≥ 1 interproximal site with PD ≥ 5 mm.

4 ARTIGO 2 - PERFIL DA MICROBIOTA SUBGENGIVAL EM INDIVÍDUOS ADULTOS JOVENS RESIDENTES NA ÁREA RURAL DO SUL DO BRASIL: UM ESTUDO TRANSVERSAL

Este artigo será submetido ao periódico *Journal of Clinical Periodontology*, ISSN: 1600-051X, Fator de impacto = 3.915; Qualis A1.

Profile of the subgingival microbiota in young adults living in rural areas of southern Brazil: a cross-sectional study

Jociana Boligon¹, Máisa Casarin¹, José M. da Rocha², Ana Paula V. Colombo³,
Carlos H. C. Moreira⁴

¹ PhD Student, Post-Graduate Program in Dental Science, Federal University of Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil.

² PostDoc Student, Post-Graduate Program in Dental Science, Federal University of Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil.

³ Adjunct Professor, Department of Dental Clinics, School of Dentistry and Research of Institute of Microbiology, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brazil.

⁴ Adjunct Professor, Discipline of Periodontics, Department of Stomatology, Federal University of Santa Maria, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil.

Corresponding author: Carlos Heitor Cunha Moreira. Marechal Floriano Peixoto St., 1184, 97015-372, Santa Maria, RS, Brazil. Tel./Fax: +55 55 3220.9284. E-mail address: carlosheitormoreira@gmail.com.

Clinical Relevance

Scientific reasons for the study: Absence of studies evaluating the subgingival microbiological profile in young adults with periodontal clinical diagnosis according to CDC / AAP criteria and associated with different depth on probing and characteristics inflammatory.

Main findings: High frequency and counts of oral and non-oral microbial species in the sample, regardless of the periodontal clinical diagnosis. Microbial counts were more elevated in deep than shallow sites; however, bleeding sites had more percentage of *A.actinomycentecomitans*, orange and red complex.

Practical implications: To improve understanding of the etiopathogenesis of periodontal diseases by relating them to health and periodontal disease in different clinical conditions (shallow and deep sites / bleeding on probing). Also, evaluate the impact of the absence of health services in the rural area on the microbiological profile of these individuals.

ABSTRACT

Aim: To describe the microbiological profile of young adults based on the CDC / AAP periodontal clinical diagnostic criteria.

Material & Methods One hundred and ten individuals with range age between 15-30 years received complete periodontal clinical examination and subgingival biofilm sample was collected at four sites per subject (two shallower and two deeper). Analyzes of 45 microbial trains were performed by the Checkerboard DNA hybridization technique. The prevalence and counts of each species were averaged for the whole sample population. Percentage of each bacterial species was performed for both the shallow and deep sites collected. Microbiological comparisons between shallow and deep sites with or without bleeding for the respective periodontal diagnoses were also performed.

Results: bacterial associated the health and periodontal disease were described in high prevalence and counts. However, deep sites presented statistically significant values in comparison to shallow sites. While in sites with bleeding probing, red complex bacteria had their highest levels and disease when compared to periodontal health.

Conclusions: We observed high frequency and counts of oral and non-oral bacterial species and no microbial complex or species were able to distinguish between health and periodontal disease

Keywords: aggressive periodontitis, checkerboard DNA hybridization, bacteria, periodontal diagnostic.

INTRODUCTION

Periodontitis affecting young adults is a bacterial infection associated with a complex microbiota of the dental biofilm composed predominantly by anaerobic Gram-negative species which inducing a local and systemic inflammatory response, leads to the destruction of periodontal tissue (Socransky & Haffajee 1998, Paster et al. 2006). There are a lot of differences on prevalence estimates through populations, these differences are too observed in microbial associate to them (Contreras et al. 2015). Usually, it is difficult differentiate chronic and aggressive periodontitis because patterns clinic, immunological and same microbiological are not specifically unique for each disease. In function this, age usually is used to estimate different disease progression patterns. Because of its multifactorial etiology, its onset and progression require the participation of several factors, including the presence of subgingival bacteria (Socransky & Haffajee 1998). To explain different rates of progression in tissue destruction of the periodontium, one of the associated factors can be the presence of specific bacterial groups (Sanz et al. 2017).

A large diversity in the prevalence of different groups of pathogens and even specific bacteria has been reported in individuals with aggressive periodontitis (AgP) (Contreras et al. 2015). *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) is a strongly associated bacterial species (Cortelli et al. 2005, Fine et al. 2007, Faveri et al. 2009), although *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *E. corrodens* and *C. rectus* were also found in proportions Higher in aggressive periodontitis than in chronic or periodontal health (Kornman & Robertson 1985).

Early studies already showed that diseased sites in the same individual exhibited microbial forms distinct from those observed in healthy sites, conferring a disease specificity character (Listgarten & Socransky 1965, Tanner et al. 1979). This

condition is decisive when determining the clinical and inflammatory characteristics of the sites collected. *Aa* is related to the onset of disease, however, the deepening of the resulting periodontal pockets in an anaerobic environment may favor the growth of other pathogens, such as the strict anaerobic species of the red complex (Lang et al. 1990, Klein & Gonçalves 2003). As for subgingival bleeding characteristics, several microbiological studies have reported a range of gram-negative species at bleeding sites (Gmur et al. 1989, Tanner et al. 1996, Tanner et al. 1998). In addition, it was recognized that the three species of the red complex (*T. Forsythia*, *P. gingivalis*, *T. denticola*) and several species of the orange complex are related to the presence of SS (Haffajee et al. 1998, Socransky & Hafajee 2005).

Although molecular techniques have been used to compare subgingival biofilms in health individuals and those with oral diseases such as periodontitis, few studies have investigated the profile of the oral microbiota associated with different pocket depths and inflammatory conditions in young adults living in rural areas. Thus, the objective of this study was to describe the microbiological profile of young adults based on the CDC / AAP diagnostic criteria.

MATERIALS AND METHODS

Study Design

This study was a cross-sectional of a representative sample of the rural area of Rosario do Sul - RS, Brazil.

Sample Size

For the calculation of the sample size, it was considered a rural population resident of 15 years or more, of 4000 inhabitants (IBGE 2010), prevalence of 50% of periodontal disease (worst case scenario), absolute precision of 4% and delineation of

1.3. At a 95% confidence interval, the estimated sample was of 679 individuals. Also, with correction for finite populations, using the formula " $N_{set} = n / 1 + (n / N)$ " (where "n" is the calculated size and "N" is the size of the population), 580 participants would be needed.

Sample selection or Sampling Procedures

A population-weighted draw was carried out, based on information provided by IBGE.¹⁸ According to the IBGE, in there are 6 districts and 36 rural sectors. Six sectors had their data unbiased and were excluded (IBGE 2010). The remaining 30 sectors were initially grouped in three strata (small, medium and large) according to the tertiles of the number of households (small: 6-35, medium: 36-61, large: 62-189). Three randomized sequences were generated in the program Research Randomizer (available at <http://www.randomizer.org/form.htm>) for selection of 17 sectors (56.7%) (3 small, 7 medium and 7 large) allowing the 6 districts were evaluated. The number of individuals examined in each sector should be weighed against the total number of households and individuals these sectors (IBGE 2010). In the sectors where health, the households to be examined were drawn according to listing of households in these places. In sectors without this performance, densely populated areas were established through maps provided by the IBGE, being this place previously confirmed by the researchers to be the starting point for the selection of households and individuals. From the point of view of departure, all houses on the right and left straight (main road) were until the pre-determined number of households or been contacted. When the number of households or individuals were not obtained with this strategy, secondary roads were accessed up to 5 kilometers right or left of the main road, in order to evaluate the number of individuals required.

Study population

Individuals aged 15-30 years, with at least four teeth in the mouth, living in the rural area of the municipality of Rosario do Sul - RS (Brazil) were eligible to participate in the study. Exclusion criteria were: edentulous individuals, use of antibiotics in the last six months, individuals with systemic diseases that contraindicated the preview clinical examination, as well as individuals who needed antimicrobial prophylaxis to perform the tests and diagnosed with psychiatric or drug intoxication problems.

Ethical Considerations

Eligible subjects provided informed consent. This study was performed in accordance with the Declaration of Helsinki and was approved by the Ethics Committee in Research of the Federal University of Santa Maria, RS, Brazil (CAAE: 37862414.5.0000.5346).

Operational Procedures and clinical examinations

Clinical examination was performed in a mobile unit that consisted of a trailer equipped with a complete dental unit (dental chair, light, compressor, dental x-ray, and others basic amenities). The unit was moved to a central point in each rural sector according to survey schedule. Two examiners performed the clinical examination between March 2015 and May 2016.

Microbiological Assessment

Microbial analyses were carried out by whole genomic probes and the checkerboard DNA-DNA hybridization technique (Socransky et al. 1994), with modifications (Heller et al. 2012). Individual subgingival plaque samples were taken from four sites per subject, two shallow and two deep sites. To avoid contamination of the subgingival biofilm samples with saliva, only vestibular sites were selected

(mesiobuccal, mid-buccal, distobuccal). Case there is more than one site with the same probing depth (PD), randomization will be moment prior to collection through the *Random Allocation* program. The supragingival plaque was removed with sterile gauze and subgingival samples were taken with individual sterile Gracey Mini Five curettes (Millenium).

The samples were placed in individual microtubes (1.5 ml) already containing 150 µl of tris-EDTA buffer (TE, 10 mM Tris HCl, 1 mM EDTA, pH 7.6), lysed by adding 0.5 M NaOH (fresh) and boiling for 10 min. Desnaturated DNA was neutralized with 5 M C₂H₃O₂NH₄ and fixed in individual lanes on a nylon membrane (Hybond-Np, GE Healthcare Life Sciences, Piscataway, NJ) using the Minislot 30 (Immuntics, Cambridge, MA). The Miniblotter 45 apparatus (Immuntics) was used to hybridized samples against 45 whole genomic DNA probes (Table 1), labeled with digoxigenin ("Random Primer Digoxigenin Labeling Kit", Roche Molecular Systems, Alameda, CA, USA).

DNA from serotypes a, b and c of *A. actinomycetemcomitans* was pooled in one probe, as well as *Propionibacterium acnes* types I and II. Likewise, DNA from *Enterobacter agglomerans*, *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter gergoviae*, *Enterobacter sakazakii*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella oxytoca*, and *Klebsiella pneumonia* was combined in an "Enteric" probe. Other probes were grouped in genera using equal concentrations of species-specific probes as indicated in table 1S. Bound probes were detected using anti-digoxigenin phosphatase conjugated antibody (Roche Molecular Systems) and fluorescence (AttoPhos®, Promega Corporation, Madison, WI) by an imaging capture system (Storm TM 860 and ImageQuant version 5.2, Molecular Dynamics, GE Healthcare Life Sciences).

Signals captured on the computer were evaluated visually by comparison with the standards at 10^5 and 10^6 cells for the test species on the same membrane. They were recorded as: 0 = not detected; 1 = $<10^5$ cells; 2 = $\sim 10^5$; 3 = 10^5 - 10^6 cells; 4 = $\sim 10^6$; 5 = $>10^6$ cells. The sensitivity of this assay was adjusted to permit detection of 10^4 cells of a given species by adjusting the concentration of each DNA probe. This procedure was carried out in order to provide the same sensitivity of detection for each species. Failure to detect a signal was recorded as zero, although conceivably, counts in the 1 to 1,000 range could have been present.

Statistical analysis

For the statistics of clinical data from mean and standard errors was used the value of the delineation analysis using analysis of complex samples.

Diagnostic criteria for aggressive periodontitis for the clinical and microbiological comparisons used were by Eke et al. (subdivision between health, mild, moderate and severe periodontitis) (Eke et al. 2012).

Data entry in a database was carried out by a junior investigator (JB) and checked by a second one (APVC). Furthermore, data entry was error-proofed throughout the entry process by a senior investigator (JB). A statistical program (SPSS, Statistical Package for the Social Sciences, version 21.0, Chicago, IL, USA) was used for all analyses.

Microbial data were presented as mean prevalence (presence or absence) and mean levels (bacterial cells) of the tested species. The frequency (prevalence) of each species in the four sites was computed for each patient. The levels of each species were calculated by transforming the scores 0 to 5 in counts, and the mean counts were computed for each patient. The prevalence and counts of each species were averaged for the whole sample population. Percentage of each bacterial species was performed

for both the shallow and deep sites collected. Microbiological comparisons between shallow and deep sites with or without bleeding for the respective periodontal diagnoses were also performed. Adjustments for multiple comparisons of bacterial species were made as described by Socransky et al (Socransky et al. 1991). In brief, an overall p of $0.05 = 1 - (1 - k)^{45}$ was computed. Significance of differences in levels of each subgingival species in relation the periodontal clinical diagnostic on the same sites as determined by the Friedman test, while for different between shallow and deep sites Kruskal Wallis test.

RESULTS

One hundred and ten individuals with range age between 15-30 years received complete periodontal clinical examination and subgingival biofilm sample was collected at four sites per subject.

Entire parameters were higher in deep sites, independent of periodontal diagnosis criteria. High percentages of BoP were found in deep pockets of subjects with mild, moderate/severe periodontitis, which were least the double of observed health ones. (table 1).

High prevalence of oral and non-oral microbial strain were found in the sample, independent of the periodontal clinical diagnosis. Higher percentages of the red complex are present in individuals with moderate/severe periodontitis in deep sites. The highest prevalence in the microbial percentage levels of whole evaluated species are present in the orange complex and associated with moderate/severe periodontitis, especially species *Prevotella spp* (figure 1).

Microbial counts were more elevated in deep than shallow sites. Not specific strain/complex counts higher/lower could be associated with specific clinical diagnosis criteria. When count microbial were compared in deep sites on three periodontal

clinical status only *S. mutans* ($p=0.043$) was statistically significant. In shallow sites differences in counts microbial were not observed. Microbial count in shallow and deep sites were statistically different ($p\leq 0.05$) when health individuals were compared with individuals with periodontal diseases. Statistically differences between shallow and deep sites were observed to red complex, *Aa*, *Prevotella spp*, *S. milleri*, *S. sanguinis* e *Actinomyces* on moderate/severe periodontitis. These differences were not find when comparisons were done on mild periodontitis individuals (figure 2).

Higher percentages of bacteria were found in deep sites independent of periodontal status. Usually bleeding sites had more percentage of *Aa*, orange and red complex. This was consistent find to red complex in both, shallow and deep sites (figure 3).

DISCUSSION

Etiology of periodontal diseases is well established and their presence is associated with complex polymicrobial biofilm, denominated dental plaque (Socransky & Haffajee 1998). The ecological conditions of the habitats supragingival and subgingival differ greatly, leading to different microbial communities (Marsh & Devine 2011). In the same way, it observed differences in the composition of the subgingival microbiota in shallow and deep sites. Worthwhile, inflammatory status evaluated by bleeding on probing may be one factor responsible for those differences and is usually considered in the decision making regarding treatment need to be performed. The results of the present cross-sectional study demonstrated a high prevalence and bacterial counts of oral and non-oral bacteria independent of clinical periodontal status. Deep sites with bleeding on probing were the ones that showed the most differences in the profile compared with shallow sites.

These findings are in agreement with some Brazilian studies (Tinoco et al. 1997, Cortelli et al. 2005) that demonstrated high presence of bacterial species especially in cases of untreated aggressive periodontitis. Haffajee et al. (1998) (Haffajee et al. 1998) demonstrated through their microbial complexes that high proportions of species of *Streptococcus spp* and *Actinomyces spp* (60% and 80%) were associated with health. Colombo et al. (2009) (Colombo et al. 2009), following the same purpose of evaluation of the microbiota in healthy individuals, found variations of prevalence very similar to the previous study beside a decrease of these bacterial counts when individuals had periodontal disease. Our findings corroborate these studies regarding the prevalence; however, we observed higher counts of these bacteria in health, such as in individuals with periodontal disease.

As well as previous studies (Heller et al. 2012, Chahboun et al. 2015), when microbial complex usually associated with periodontal disease were evaluated, we were not found distinct pattern on prevalence and counts that might be specifically associated with health or periodontal disease status. *P. gingivalis*, *T. denticola* and *T. forshytia* were in greater proportions in disease than periodontal health individuals, who related in several studies (Colombo et al. 2002, Silva-Boghossian et al. 2011). The bacteria of the orange complex, *Prevotella spp*, *P. micra* and *Camphylobacter spp* presented higher prevalence in individuals with moderate/severe periodontitis. However, the counts showed similarities with the further periodontal clinical diagnoses. Of all subgingival samples evaluated, a percentage detected above 90% refers to the species *Prevotella spp* in individuals with severe periodontitis. Although it is not clear the relationship of this pathogen with the onset of periodontal disease, its presence is strongly associated with the destruction of the periodontium (Paster et al. 2001).

In addition, when evaluating non-oral microorganisms in our sample, e.g., *C. albicans*, *S. aureus*, *H. influenzae*, *H. alvei*, *Neisseria spp*, *O. uli*, *P. anaerobius* and *P. aeruginosa*, the frequencies and counts of the same ranged from 70% to 100% and 10^4 to 10^6 . The statistical differences found between health and disease were only in the comparison between the shallow and deep sites. Colombo et al. 2015 (Colombo et al. 2015) also found differences in these microorganisms, however, prevalence was extremely low, which can be explained by the cultural, behavioral and geographic location of the samples studied.

Given the importance of some bacteria in the development and progression of periodontal diseases, reported in the literature, more attention should be paid to them. The positive correlation showed between "established" periodontopathogens and periodontal clinical parameters corroborate results published by Socransky et al. 1998 (Socransky et al. 1998); in which DNA probes hybridized by the Checkerboard DNA-DNA hybridization technique, observed that the "red complex" species were strongly related the deep pockets and sites with bleeding on probing (BoP). Our results are according once red complex presented high prevalence when evaluated shallow and deep sites in relation the others bacterial. Deeper and BoP associated sites are those with the highest chance of harboring *P. gingivalis* and *A. actinomycetemcomitans* (Mombelli et al. 1991a, Mombelli et al. 1991b, Mombelli et al. 1994a, Mombelli et al. 1994b). In sites with BoP, the chances of detecting *P. gingivalis* are up to 4-fold higher than in non-bleeding sites (Mombelli et al. 1991a, Mombelli et al. 1991b). Our results corroborate these findings in which red complex, including *P. gingivalis*, for all periodontal clinical diagnoses, were more frequent in deeper sites with BoP. However, when evaluated *A. actinomycetemcomitans* we only observed this relation for moderate/severe periodontitis.

Studies have shown the *A. actinomycetemcomitans* as a significant bacteria in the etiology of AgP, and it was more associated with the localized AgP (Zambon 1994, Mombelli et al. 1994b). This species was cultivated between 67% and 90% of sites with AgP (Avila-Campos et al. 1995, Tinoco et al. 1997). Put together, these data support the concept which *A. actinomycetemcomitans* is early involved with the periodontal disease. However, the increase in depth periodontal pockets results in an anaerobic environment which may favor the growth of other pathogens, such as, strict anaerobic species like red complex. It should be noted, however, that not all studies support this association, since this organism is not always found in sites of disease. In addition, it has been diagnosed in healthy children, although in small numbers, suggesting that it is a member of the healthy microbial flora (Gafan et al. 2004). Our findings showed a high prevalence of a ranging from 35 to 100% in the sites of individuals diagnosed with periodontitis and 48 to 78% in healthy subjects, which corroborates that this species is more find in individuals with periodontal disease, but too that this bacterial can be find in health status. In addition, when evaluating the *Aa* count, its highest percentage was associated with the presence of this species in moderate/severe periodontitis.

Results obtained from the microbiological profiles not depend only on the correct selection and processing technique but also on the sampling strategy of sites collected (Casas et al. 2007). In this case, although there are more sensitive and specific methods for microbial detection, when compared to the DNA-DNA checkerboard Hybridization, the high cost and access often make it difficult to ample use. Therefore, the large number of samples that can be processed in one short time and the sensitivity in detecting species associated with health/disease periodontal clinical status of a given sample and the relatively low cost were determining factors in the choice of this

technique for our study. Furthermore, subgingival samples were collected only on four sites per individual may have limited us to assess the representativeness of the subject's mouth more accurately.

Over the years, studies have been carried out to detect what periodontal pathogens are more prevalent in different periodontal status (Darby & Curtos 2001, Contreras et al. 2015). Conditions are taking into account different diagnostic criteria. This study evaluated the association between the various bacterial species of subgingival biofilm samples from young adults according to criteria strongly recommended for epidemiological studies (Eke et al. 2012). Thus, possible biases related to the definition and extension of disease were lower.

In summary and within the limitations of this study, our data indicate that, even with a high prevalence and counts of this rather complex microbiota, few known species can be distinguishing between healthy and diseased individuals. However, our results showed that, according to the increase in depth of probing, bacteria considered more pathogenic in the development of periodontal diseases presented higher prevalence and counts mainly in the greater severity status of the periodontal disease.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors state that there are no potential conflicts of interest.

REFERENCES

- Avila-Campos, M.J., Carvalho, M.A. & Zelante, F. (1995) Distribution of biotypes and antimicrobial susceptibility of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Oral Microbiol Immunol* **10**, 382-384.
- Casas, A., Herrera, D., Martín-Carnes, J., Gonzalez, I., O'Connor, A. & Sanz, M. (2007) Influence of Sampling Strategy on Microbiologic Results Before and After Periodontal Treatment. *J Periodontol* **78** (Suppl. 6), 1103-1112.

- Contreras, A., Moreno, S.M., Jaramillo, A., et al. (2015) Periodontal microbiology in Latin America. *Periodontology 2000* **67**, 58-86.
- Chahboun, H., Arnau, M.M., Herrera, D., Sanz, M. & Ennibi, O.K. (2015) Bacterial profile of aggressive periodontitis in Morocco: a cross-sectional study. *BMC Oral Health* **24**,15-25.
- Colombo, A.P.V., Boches, S.K., Cotton, S.L., et al. (2009) Comparisons of Subgingival Microbial Profiles of Refractory Periodontitis, Severe Periodontitis and Periodontal Health using the Human Oral Microbe Identification Microarray (HOMIM). *Periodontol* **80** (Suppl. 9),1421–1432.
- Colombo, A.P.V., Magalhaes, C.B., Hartenbach, F.A.R.R. et al. (2016) Periodontal-disease-associated biofilm: A reservoir for pathogens of medical importance. *Microbial Pathogenesis* **94**, 27-34.
- Colombo, A.P.V., Teles, R.P., Torres, M.C. et al. (2002) Subgingival microbiota of Brazilian subjects with untreated chronic periodontitis. *J Periodontol* **73** (Suppl. 4), 360-369.
- Cortelli, J.R., Cortelli, S.C., Jordan, S., Haraszthy, V.I. & Zambon, J.J. (2005) Prevalence of periodontal pathogens in Brazilians with aggressive or chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* **32**, 860-866.
- Darby, I. & Curtis, M. (2001) Microbiology of periodontal disease in children and young adults. *Periodontology 2000* **26**, 33-53.
- Eke, P.I., Page, R.C., Wei, L., Thornton-Evans, G. & Genco, R.J. (2012) Update of the case definitions for population-based surveillance of periodontitis. *J Periodontol* **83** (Suppl. 12), 1449-1454.

Faveri, M., Figueiredo, L.S., Duarte, P.M., Mestnik, M.J., Mayer, M.P. & Feres, M. (2009) Microbiological profile of untreated subjects with localized aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol* **36**, 739-749.

Fine, D.H. et al. (2007) *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and its relationship to initiation of localized aggressive periodontitis: longitudinal cohort study of initially healthy adolescents. *J Clin Microbiol* **45**, 3859-3869.

Gafan, G.P., Lucas, V.S., Roberts, G.J. et al. (2004) Prevalence of periodontal pathogens in dental plaque of children. *J Clin Microbiol* **42**, 4141-4146.

Gmuür, R., Strub, J.R. & Guggenheim, B. (1989) Prevalence of *Bacteroides forsythus* and *Bacteroides gingivalis* in subgingival plaque of prosthodontically treated patients on short recall. *J Periodontal Res* **24**, 113-120.

Haffajee, A.D., Bogren, A., Hasturk, H., Feres, M., Lopez, N.J. & Socransky, S.S. (2004) Subgingival microbiota of chronic periodontitis subjects from different geographic locations. *J Clin Periodontol* **31** (Suppl. 11), 996-1002.

Haffajee, A.D., Cugini, M.A., Tanner, A. et al. (1998) Subgingival microbiota in healthy, well-maintained elder and periodontitis subjects. *J Clin Periodontol* **25**, 346-353.

Haraszthy, V.I., Hariharan, G., Tinoco, E.M. et al. (2000) Evidence for the role of highly leukotoxic *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in the pathogenesis of localized juvenile and other forms of early-onset periodontitis. *J Periodontol* **71**, 912-922.

Heller, D., Silva-Boghossian, C.M., Souto, R.M. & Colombo, A.P.V. (2012) Subgingival microbial profiles of generalized aggressive and chronic periodontal diseases. *Arch Oral Biol* **57** (Suppl.7), 973-980.

IBGE. (2010) Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Censo. Disponível em: <http://www.ibge.gov.br/home/estatistica/populacao/censo2010/default.shtm>.

Acessado em 25 de janeiro de 2017.

- Klein, M.I. & Gonçalves, R.B. (2003) Detection of *Tannerella forsythensis* (*Bacteroides forsythus*) and *Porphyromonas gingivalis* by polymerase chain reaction in subjects with different periodontal status. *J Periodontol* **74**, 798-802.
- Kornman, K.S. & Robertson, P.B. (1985) Clinical and microbiological evaluation of therapy for juvenile periodontitis. *J Periodontol* **56**, 443-446.
- Lang, N.P., Adler, R., Joss, A. & Nyman, S. (1990) Absence of bleeding on probing. An indicator of periodontal stability. *J Clin Periodontol* **17**, 714-721.
- Listgarten, M.A. & Socransky, S.S. (1965) Electron Microscopy as an Aid in the Taxonomic Differentiation of Oral Spirochetes. *Arch Oral Biol* **10**, 127-138.
- Marsh, P.D. & Devine, D.A. (2011) How is the development of dental biofilms influenced by the host? *J Clin Periodontol*. **38** (Suppl. 11), 28-35.
- Mombelli, A., Gmuür, R., Gobbi, C. & Lang, N.P. (1994a) *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in adult periodontitis. I. Topographic distribution before and after treatment. *J Periodontol* **65**, 820-826.
- Mombelli, A., Gmuür, R., Gobbi, C. & Lang, N.P. (1994b) *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in adult periodontitis. II. Characterization of isolated strains and effect of mechanical periodontal treatment. *J Periodontol* **65**, 827-834.
- Mombelli, A., McNabb, H. & Lang, N.P. (1991a) Black-pigmenting Gram-negative bacteria in periodontal disease. I. Topographic distribution in the human dentition. *J Periodontal Res* **26**, 301-307.
- Mombelli, A., McNabb, H. & Lang, N.P. (1991b) Black-pigmenting Gram-negative bacteria in periodontal disease. II. Screening strategies for detection of *P. gingivalis*. *J Periodontal Res* **26**, 308-313.
- Paster, B.J. et al. (2001) Bacterial diversity in human subgingival plaque. *J Bacteriol* **183** (Suppl. 12): 3770-3783.

Paster, B.J., Olsen, I., Aas, J.A. & Dewhirst, F.E. (2006) The breadth of bacterial diversity in the human periodontal pocket and other oral sites. *Periodontol 2000* **42**, 80-87.

Sanz, M., Beighton, D., Curtis, M.A. et al. (2017) Role of microbial biofilms in the maintenance of oral health and in the development of dental caries and periodontal diseases. Consensus report of group 1 of the Joint EFP/ORCA workshop on the boundaries between caries and periodontal disease. *J Clin Periodontol* **44** (Suppl. 18), S5-S11.

Silva-Boghossian, C.M., Souto, R.M., Luiz, R.R. & Colombo, A.P.V. (2011) Association of red complex, *A. actinomycetemcomitans* and non-oral bacteria with periodontal diseases. *Arch Oral Biol* **56** (Suppl.9), 899-906.

Socransky, S.S. et al. (1994) "Checkerboard" DNA-DNA hybridization. *Biotechniques* **17** (Suppl. 4), 788-792.

Socransky, S.S. & Haffajee, A.D. (2005) Periodontal microbial ecology. *Periodontol 2000* **38**, 135-187.

Socransky, S.S., Haffajee, A.D., Cugini, M.A., Smith, C. & Kent, R.L. Jr. (1998) Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* **25** (Suppl, 2),134-144.

Socransky, S.S., Haffajee, A.D., Smith, C. & Dibart, S. (1991) Relation of counts of microbial species to clinical status at the sampled site. *J Clin Periodontol* **18** (Suppl.10), 766-775.

Tanner, A.C. et al. (1979) A study of the bacteria associated with advancing periodontitis in man. *J Clin Periodontol* **6** (Suppl. 5), 278-307.

Tanner, A., Kent, R., Maiden, M.F. & Taubman, M.A. (1996) Clinical, microbiological and immunological profile of healthy, gingivitis and putative active periodontal subjects. *J Periodontal Res* **31**, 195-204.

Tanner, A., Maiden, M.F., Macuch, P.J., Murray, L.L. & Kent, R.L. Jr. (1998) Microbiota of health, gingivitis, and initial periodontitis. *J Clin Periodontol* **25**, 85-98.

Tinoco, E.M., Beldi, M.I., Loureiro, C.A. et al. (1997) Localized juvenile periodontitis and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in a Brazilian population. *Eur J Oral Sci* **105**, 9-14.

Zambon, J.J. (1994) *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in adult periodontitis. *J Periodontol* **65**, 892-893.

Table 1. Clinical characteristics of the sites in which microbiological samples were collected and according to the diagnostic criteria of Eke et al modified.

Sites	VPI		GBI		PD		BOP		CAL	
	shallow	deep	shallow	deep	shallow	deep	shallow	deep	shallow	deep
Health (n=61)	29.39±4.48	50.69±4.08	8.58±2.21	15.14±3.25	1.04±0.01	3.15±0.06	15.67±2.94	37.37±8.02	0.98±0.15	1.40±0.13
Mild periodontitis (n=25)	26.95±5.26	62.27±8.48	14.56±2.51	31.46±6.05	1.08±0.05	3.77±0.10	31.50±9.31	72.51±5.17	1.49±0.17	2.55±0.15
Moderate/severe periodontitis (n=24)	40.43±8.39	77.29±6.27	20.23±6.62	50.98±7.69	1.27±0.11	5.76±0.27	44.78±9.28	81.75±5.85	2.03±0.20	4.58±0.38
Total*	45.04±3.51		19.37±1.82		2.47±0.09		39.98±4.06		1.82±0.18	

*mean±SE of all sites examined (six sites per tooth) of all individuals. All clinical data are presented as means± standard error, SE. VPI, plaque index; GBI, gingival index; PD, probing depth; CAL, clinical attachment level; BOP, bleeding on probing.



Figure 1. Microbial prevalence in different periodontal status in shallow and deep sites.

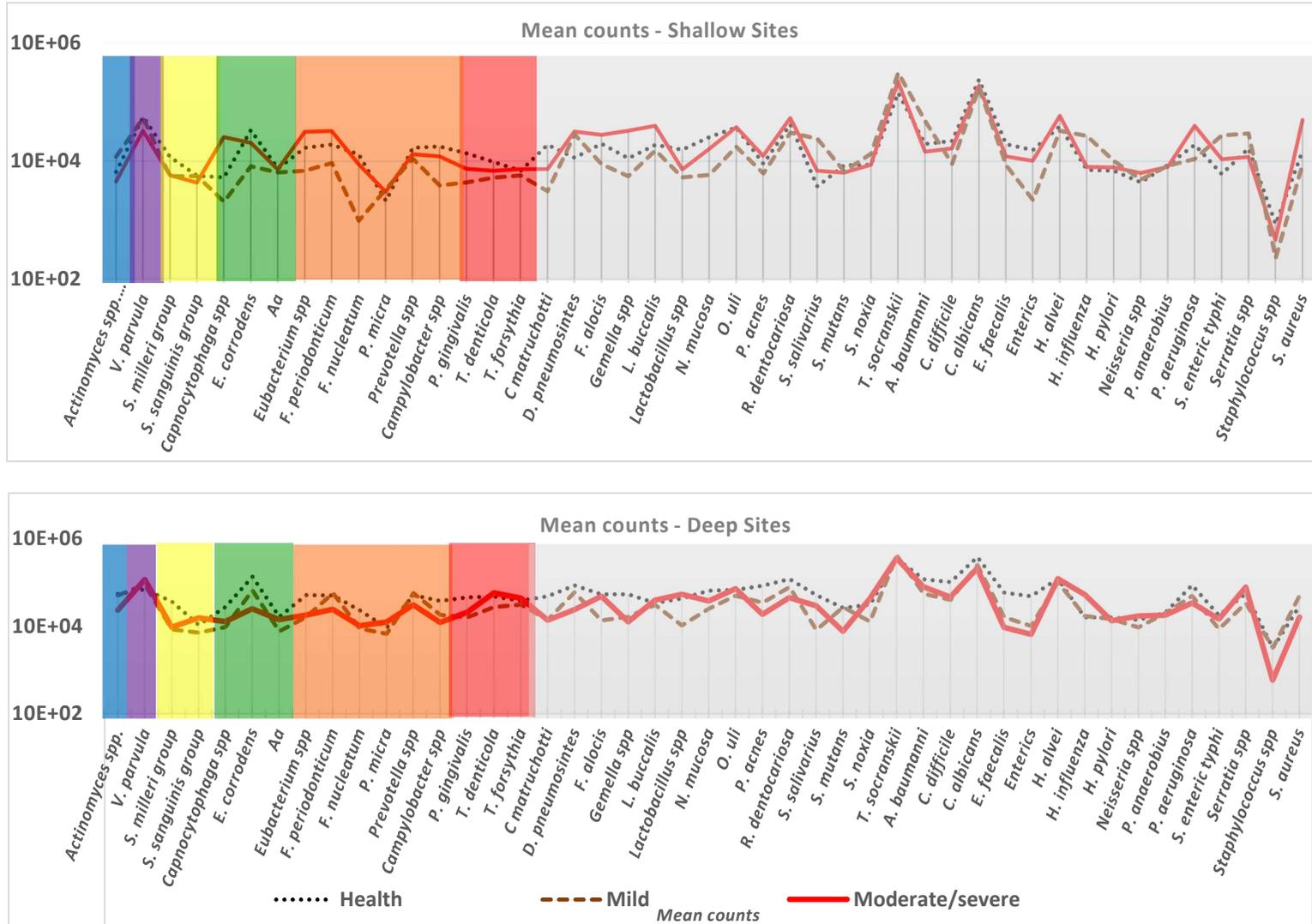
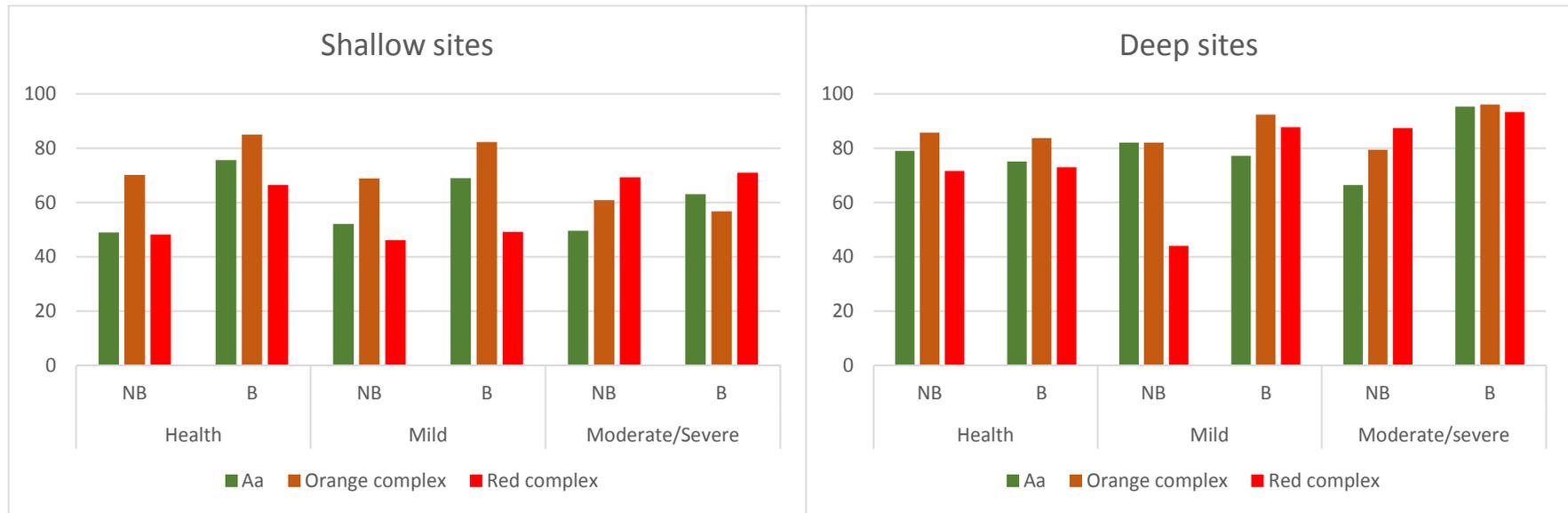


Figure 2. Mean counts of all bacteria evaluated in the different periodontal clinical diagnoses, in shallow and deep sites.



NB, no bleeding; B, bleeding. Orange complex: *Prevotella spp*, *E. nodatum*, *P. micra*, *F. periodonticum*, *F. nucleatum*, *Camphylobacter*. Red complex: *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*.

Figure 3. Percentual of bacteria in certain complexes, in shallow and deep sites associated or not with bleeding according to periodontal clinical diagnosis.

Appendix

Table 1S. Microbial strains used for development of whole genomic DNA probes tested against subgingival biofilm samples.

Taxa	Strain*	Taxa	Strain*
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans a</i>	43718	<i>Lactobacillus</i> spp.	
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans b</i>	29523	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	4356
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans c</i>	625**	<i>Lactobacillus casei</i>	7469
<i>Actinomyces</i> spp.		<i>Lactobacillus oris</i>	49062
<i>Actinomyces gerensceriae</i>	23860	<i>Neisseria mucosa</i>	19696
<i>Actinomyces israelii</i>	12102	<i>Neisseria</i> spp.	
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	17929	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	21824
<i>Actinomyces naeslundii I</i>	12104	<i>Neisseria subflava</i>	49275
<i>Actinomyces oris (A. naeslundii II)</i>	43146	<i>Neisseria polysaccharea</i>	43768
<i>Actinomyces meyeri</i>	35568	<i>Neisseria meningitides</i>	13077
<i>Acinetobacter baumannii</i>	19606	<i>Neisseria lactamica</i>	23970
<i>Campylobacter</i> spp.		<i>Neisseria sicca</i>	29256
<i>Campylobacter rectus</i>	33238	<i>Olsenella uli</i>	49627
<i>Campylobacter concisus</i>	484**	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	27337
<i>Campylobacter gracilis</i>	1084**	<i>Parvimonas micra</i>	33270
<i>Campylobacter showae</i>	51146	<i>Propionibacterium acnes I</i>	11827
<i>Capnocytophaga</i> spp.		<i>Propionibacterium acnes II</i>	43541
<i>Capnocytophaga gingivalis</i>	33624	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10145
<i>Capnocytophaga ochracea</i>	33596	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	33277
<i>Capnocytophaga sputigena</i>	33612	<i>Prevotella</i> spp.	
<i>Candida albicans</i>	10231	<i>Prevotella melaninogenica</i>	25845
<i>Clostridium difficile</i>	98689	<i>Prevotella intermedia</i>	25611
<i>Corynebacterium matruchotii</i>	14266	<i>Prevotella nigrescens</i>	33563
<i>Dialister pneumosintes</i>	33048	<i>Prevotella tanneriae</i>	51259
<i>Eubacterium</i> spp.		<i>Rothia dentocariosa</i>	17931
<i>Eubacterium nodatum</i>	33099	<i>Salmonella enterica</i> sorv. typhi	6539
<i>Eubacterium saphenum</i>	49989	<i>Selenomonas noxia</i>	33359
<i>Eubacterium saburreum</i>	33271	<i>Serratia</i> spp.	
<i>Eikenella corrodens</i>	23834	<i>Serratia liquefaciens</i>	11367

<i>Enterococcus faecalis</i>	10100	<i>Serratia marcescens</i>	13477
Enterics		<i>Streptococcus milleri</i> group	
<i>Enterobacter agglomerans</i>	27155	<i>Streptococcus intermedius</i>	27335
<i>Enterobacter cloacae</i>	10699	<i>Streptococcus anginosus</i>	33397
<i>Enterobacter gergoviae</i>	33028	<i>Streptococcus constellatus</i>	27823
<i>Enterobacter sakazakii</i>	12868	<i>Streptococcus oralis</i> group	
<i>Enterobacter aerogenes</i>	13048	<i>Streptococcus mitis</i>	49456
<i>Escherichia coli</i>	10799	<i>Streptococcus oralis</i>	35037
<i>Klebsiella oxytoca</i>	12833	<i>Streptococcus sanguinis</i>	10556
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10031	<i>Streptococcus gordonii</i>	10558
<i>Fusobacterium periodonticum</i>	33693	Streptococcus mutans group	
<i>Fusobacterium nucleatum</i>		<i>Streptococcus mutans</i>	25175
<i>Fusobacterium nuc ss. polymorphum</i>	10953	<i>Streptococcus sobrinus</i>	3347
<i>Fusobacterium nuc ss. vincentii</i>	49256	<i>Streptococcus salivarius</i>	27945
<i>Fusobacterium nuc ss. nucleatum</i>	25586	Staphylococcus CN group	
<i>Filifactor alocis</i>	35896	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	22228
<i>Gemella spp.</i>		<i>Staphylococcus warneri</i>	27836
<i>Gemella morbillorum</i>	27824	<i>Staphylococcus aureus ss. aureus</i>	33591
<i>Gemella haemolysans</i>	10379	<i>Tannerella forsythia</i>	43037
<i>Hafnia alvei</i>	11604	<i>Treponema denticola</i>	B1**
<i>Haemophilus influenzae</i>	33533	<i>Treponema socranskii</i>	S1**
<i>Helicobacter pylori</i>	43504	<i>Veillonella parvula</i>	10790
<i>Leptotrichia buccalis</i>	14201		

* ATCC (American Type Culture Collection, Rockville, MD); ** The Forsyth Institute, Cambridge MA.

5 DISCUSSÃO

A utilização de estudos epidemiológicos na pesquisa de prevalência, extensão e gravidade de doenças bucais vem sendo utilizados ao longo dos séculos. Indubitavelmente a doença periodontal se encarrega de uma parcela muito significativa desses trabalhos que apesar das dificuldades de execução mostra resultados, se bem executado metodologicamente, com um alto nível de evidência.

Porém não basta apenas ser um estudo epidemiológico, mas conseguir trazer a representatividade da população em estudo é o que se busca com êxito nestes trabalhos. Ter a possibilidade de extrapolar os resultados obtidos naquela amostra fornece resultados que certamente ajudarão a desenvolver condutas preventivas e terapêuticas adequadas para o bem-estar da população em geral.

Ao avaliar-se estruturalmente a literatura de doenças periodontais, acometendo adultos jovens, em relação a estudos epidemiológicos de representatividade populacional encontra-se trabalhos no Brasil e ao redor do mundo. Entretanto, ao adicionar-se a questão de indivíduos residentes em áreas rurais desprovidos de atendimento à saúde, há carência significativas de informações. Assim, visa-se nosso estudo em responder quais as condições periodontais que indivíduos adultos jovens desprovidos de atendimento odontológico se encontram atualmente e mostrar esses resultados de modo representativo. População semelhante à nossa pode ser observada nos estudos da população rural do Sri Lanka, apesar de ser amostras de conveniência.

Os resultados apresentados no artigo *“Periodontitis in young adults living in the rural area of Southern Brazil: a cross-sectional study”* indicaram uma alta prevalência de periodontite agressiva em adultos jovens sendo superiores aos relatados por Susin e Albandar (2005). Essas diferenças podem estar relacionadas às diferentes características da nossa amostra. Em contraste com os indivíduos que vivem em áreas urbanas com mais acesso aos cuidados dentários e à informação de saúde, nossa amostra era residente estritamente rural, distante dos serviços de tratamento dentário e em que aproximadamente metade dos indivíduos relatou não ter ido ao dentista no último ano.

A periodontite agressiva é inicialmente caracterizada pela perda de inserção e perda de osso alveolar em superfícies interproximais em incisivos superiores e primeiros molares permanentes (SUSIN; ALBANDAR, 2005; OH; EBER; WANG,

2002). Em nosso estudo, esses achados também foram observados, com a maior perda de inserção associada à condição inflamatória de sangramento e ao aumento de idade.

Entretanto um dos maiores pontos positivos deste trabalho diz respeito a utilização de critérios diagnósticos já utilizados e altamente sugerido em estudos epidemiológicos, evitando assim metodologias diferenciadas no qual leva a uma variabilidade significativa nas estimativas e a dificuldade de compará-las. Neste estudo, foram utilizados três critérios para definir um caso de periodontite. O critério CDC / AAP (EKE et al., 2012) para avaliar diferentes estágios de gravidade nos níveis de CAL e altamente recomendado para estimar a prevalência em estudos epidemiológicos (HOLTFRETER et al., 2015). Demmer e Papapanou (2010), que avalia as características inflamatórias em diferentes estratos de idade e severidade considerando apenas superfícies interproximais, eliminando possíveis causas de CAL due a não inflamatórias em superfícies livres e critérios propostos por Susin e Albandar (2005) por metodologia similar.

Este estudo mostrou alta prevalência de AgP nesta população rural brasileira de adolescentes e adultos jovens. Os indivíduos mais velhos tiveram maior perda dentária, maior profundidade de sondagem, maior perda de inserção e sangramento. Indicadores de risco para aumento da AgP eram fumo e etnia. Logo, sugerir criação de planos estratégicos em saúde que buscam atender populações rurais em relação às suas necessidades periodontais serão importantes para reduzir a morbidade e a perda dentária.

Os resultados apresentados no artigo *“Profile of the subgingival microbiota in young adults living in rural areas of southern Brazil: a cross-sectional study”* demonstraram alto percentual de bactérias orais e não orais encontradas na amostra, independentemente do diagnóstico periodontal. Esta pode ser uma das explicações nos altos índices de doença periodontal encontrada na amostra. Esses achados estão de acordo com alguns estudos (SILVA-BOGHOSSIAN et al., 2011; HAFFAJEE et al., 2004; COLOMBO et al., 2002) que determinam a presença do complexo vermelho e do Aa em indivíduos com periodontite em comparação com a saúde periodontal. Diferenças comportamentais e/ou fatores ambientais, perfil dos indivíduos estudados, idade, métodos de detecção e antecedentes genéticos podem explicar a variabilidade desses resultados.

Por ser um estudo transversal a coleta das amostras seguiu parâmetros que seriam os mais aceitáveis para se avaliar o perfil da microbiota subgingival destes indivíduos. Logo avaliar diferenças na microbiota entre os diferentes diagnósticos com saúde e doença associando a bolsas periodontais rasas e profundas seguidas ou não por sangramento foi utilizada.

Bolsas periodontais mais profundas e associadas a SS são aquelas com a maior chance de abrigar *Porphyromonas gingivalis* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (MOMBELLI; MCNABB; LANG, 1991a; MOMBELLI; MCNABB; LANG, 1991b; MOMBELLI et al., 1994a; MOMBELLI et al., 1994b). Em locais com sangramento, as chances de detectar *P. gingivalis* são até 4 vezes maiores do que em locais não sangrantes (MOMBELLI; MCNABB; LANG, 1991a; MOMBELLI; MCNABB; LANG, 1991b). Nossos achados corroboram todos esses estudos em que *P. gingivalis*, para todos os diagnósticos periodontais, eram mais frequentes em locais com sangramento. No entanto, para o caso Aa, observa-se apenas esta relação para a periodontite grave.

6 CONCLUSÃO

Com base nas investigações científicas apresentadas nessa tese, conclui-se que:

- a) Há uma alta prevalência de periodontite afetando adultos jovens residentes em áreas rurais no Sul do Brasil. Dados relatados a partir de três critérios diagnósticos de definição de periodontite, maior prevalência foi associada a não-brancos, fumantes e indivíduos com maior idade;
- b) Altas frequências e contagens de espécies bacterianas orais e não orais foram encontradas na amostra. Sítios profundos apresentaram maior percentual de bactérias patogênicas enquanto bactérias do complexo vermelho eram mais prevalentes em indivíduos com periodontite moderada/severa.

REFERÊNCIAS

- AAP. American Academy of Periodontology. **Proceedings of the World Workshop in Clinical Periodontics**. Chicago: American Academy of Periodontology, 1989.
- AAS, J. A. et al. Defining the normal bacteria flora of the oral cavity. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 43, n. 11, p. 5721-5732, nov. 2005.
- AASS, A. M et al. Variation in prevalence of radiographic alveolar bone loss in subgroups of 14-year-old schoolchildren in Oslo. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 15, p. 130-133, 1988.
- ALBANDAR, J. M. Aggressive periodontitis: case definition and diagnostic criteria. **Periodontology 2000**, v. 65, n .1, p. 13-26, 2014.
- ALBANDAR, J. M. Global risk factors and risk indicators for periodontal diseases. **Periodontology 2000**, v. 29, n. 1, p. 177-206, 2002a.
- ALBANDAR, J. M. Juvenile periodontitis: pattern of progression and relationship to clinical periodontal parameters. **Community Dentistry and Oral Epidemiology**, v. 21, n. 4, p. 185-189, ago. 1993.
- ALBANDAR, J. M. Periodontal diseases in North America. **Periodontology 2000**, v. 29, p. 31-69, 2002b.
- ALBANDAR, J. M. et al. Clinical classification of early-onset periodontitis in adolescents and young adults. **Journal of Periodontology**, v. 68, p. 545-555, 1997.
- ALBANDAR, J. M. et al. Gingival inflammation and subgingival calculus as determinants of disease progression in early-onset periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 25, p. 231-237, 1998.
- ALBANDAR, J. M. et al. Gingival state and dental calculus in early-onset periodontitis. **Journal of Feriodontology**, v. 67, n. 10, p. 953-959, out. 1996.
- ALBANDAR, J. M.; BROWN, L. J.; LÖE, H. Clinical features of early onset periodontitis. **Journal of the American Dental Association**, v. 128, p. 1393-1399, 1997.
- ALBANDAR, J. M.; BRUNELLE, J. A.; KINGMAN, A. Destructive periodontal disease in adults 30 years of age and older in the United States, 1988–1994. **Journal of Periodontology**, v. 70, p. 13-29, 1999.
- ALBANDAR, J. M.; MURANGA, M. B.; RAMS, T. E. Prevalence of aggressive periodontitis in school attendees in Uganda. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 29, 2002.
- ALBANDAR, J. M.; RAMS, T. E. Risk factors for periodontitis in children and young persons. **Periodontology 2000**, v. 29, p. 207-222, 2002.

ALBANDAR, J. M.; TINOCO, E. M. B. Global epidemiology of periodontal diseases in children and young persons. **Periodontology** 2000, v. 29, n. 1, p. 153-176, 2002.

ARBES, S. J.; AGÚSTSDÓTTIR, H.; SLADE, G. D. Environmental tobacco smoke and periodontal disease in the United States. **American Journal of Public Health**, v. 91, n. 2, p. 253-257, fev. 2001.

ARMITAGE, G. C. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. **Annals of Periodontology**, v. 4, n. 1, p. 01-06, dez. 1999.

ARMITAGE, G. C.; CULLINAN, M. P.; SEYMOUR, G. J. Comparative biology of chronic and aggressive periodontitis: introduction. **Periodontology** 2000, v. 53, p. 07-11, 2010.

AVILA-CAMPOS, M. J.; CARVALHO, M. A.; ZELANTE, F. Distribution of biotypes and antimicrobial susceptibility of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. **Oral Microbiology and Immunology**, v. 10, n. 6, p. 382-384, dez. 1995.

BAELUM, V.; FEJERSKOV, O. Tooth Loss as Related to Dental Caries and Periodontal Breakdown in Adult Tanzanians. **Community Dentistry and Oral Epidemiology**, v. 14, p. 353-357, 1986.

BAELUM, V.; FEJERSKOV, O.; KARRING, T. Oral Hygiene, Gingivitis and Periodontal Breakdown in Adult Tanzanians. **Journal of Periodontal Research**, v. 21, p. 221-232, 1986.

BAER, P. N. The case for periodontosis as a clinical entity. **Journal of Periodontology**, v. 42, n. 8, p. 516-520, ago. 1971.

BERTHOLD, P.; LISTGARTEN, M. A. Distribution of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in localized juvenile periodontitis plaque: an electron immunocytochemical study. **Journal of Periodontal Research**, v. 21, p. 473-485, 1986.

BORRELL, L. N.; PAPAPANOU, P. N. Analytical epidemiology of periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 32, n. 6, p. 132-158, 2005.

BUENO, L. C.; MAYER, M. P. A.; DI RIENZO, J. M. Relationship between of localized juvenile periodontitis-susceptible children from health to disease and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* leukotoxin promoter structure. **Journal of Periodontology**, v. 69, p. 998-1007, 1998.

BUTLER, J. H. A familial pattern of juvenile periodontitis (periodontosis). **Journal of Periodontology**, v. 40, n. 2, p. 115-118, fev. 1969.

CARRANZA, F. A.; NEWMAN, M. G. Periodontia clínica. **Guanabara Koogan**, v. 8, p. 68-362, 1997.

CHRISTERSSON, L. A.; ZAMBON, J. J.; GENCO, R. J. Dental bacterial plaques. Nature and role in periodontal disease. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 18, n. 6, p.441-446, jul. 1991.

CLEREHUGH, V. et al. Site progression of loss of attachment over 5 years in 14- to 19-year- old adolescents. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 22, n. 1, p. 15-21, jan. 1995.

COLOMBO, A. P. et al. Subgingival microbiota of Brazilian subjects with untreated chronic periodontitis. **Journal of Periodontology**, v. 73, n. 4, p. 360-369, 2002.

CORTELLI, J. R. et al. Prevalence of periodontal pathogens in Brazilians with aggressive and chronic periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 32, p. 860-866, 2005.

COSTA, F. O. et al. Impact of different periodontitis case definitions on periodontal research. **Journal of Oral Science**, v. 51, p. 199-206, 2009.

DEMMER, R. T.; PAPAPANOU, P. N. Epidemiologic patterns of chronic and aggressive periodontitis. **Periodontology 2000**, v. 53, p. 28-44, jun. 2010.

DIEHL, S. R. et al. Quantitative measures of aggressive periodontitis show substantial heritability and consistency with traditional diagnoses. **Journal of Periodontology**, v. 76, p. 279-288, 2005.

DRURY, T. F.; GARCIA, I.; ADESANYA, M. Socioeconomic disparities in adult oral health in the United States. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 896, p. 322-324, 1999.

DZINK, J. L.; SOCRANSKY, S. S.; HAFFAJEE, A. D. The predominant cultivable microbiota of active and inactive lesions of destructive periodontal diseases. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 15, n. 5, p. 316-323, mai. 1988.

EKE, P. I. et al. Update of the Case Definitions for Population-Based Surveillance of Periodontitis. **Periodontology**, v. 83, n. 12, p. 1449-1454, dez. 2012.

FAVERI, M. et al. Microbiological diversity of generalized aggressive periodontitis by 16S rRNA clonal analysis. **Oral Microbiology and Immunology**, v. 23, n. 2, p. 112-118, abr. 2008.

FINE, D. H. et al. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and its relationship to initiation of localized aggressive periodontitis: longitudinal cohort study of initially healthy adolescents. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 45, p. 3859-3869, 2007.

FRENCKEN, J. E. et al. Global epidemiology of dental caries and severe periodontitis – a comprehensive review. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 44, n. 18, p. S94 -S105, 2017.

GAFAN, G. P. Prevalence of periodontal pathogens in dental plaque of children. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 42, n. 9, p. 4141-4146, set. 2004.

GAJARDO, M. et al. Prevalence of periodontopathic bacteria in aggressive periodontitis patients in a Chilean population. **Journal of Periodontology**, v. 76, p. 289-294, 2005.

GENCO, R. J.; BORGNAKKE, W. S. Risk factors for periodontal disease. **Periodontology 2000**, v. 62, p. 59-94, 2013.

GENCO, R. J.; CHRISTERSSON, L. A.; ZAMBON, J. J. Juvenile periodontitis. **International Dental Journal**, v. 36, p. 168–176, 1986.

GOTTLIEB, B. Die diffuse Atrophie des Alveolarknochens Weitere Beitrage zur Kenntnis des Alveolarschwandes und dessen Wiedergutmachung durch Zementwachstum. **Zeitschrift fur Stomatologie**, v. 21, p. 195-262, 1923.

GUSTKE, C. J. A review of localized juvenile periodontitis (LJP): II. Clinical trials and treatment guidelines. **General Dentistry**, v. 46, p. 580-587, 1998.

HAFFAJEE, A. D. et al. Subgingival microbiota of chronic periodontitis subjects from different geographic locations. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 31, n. 11, p. 996-1002, 2004.

HAFFAJEE, A. D.; SOCRANSKY, S. S. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. **Periodontology 2000**, v. 5, p. 78-111, jun. 1994.

HAUBEK, D. et al. The highly leukotoxic JP2 clone of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and progression of periodontal attachment loss. **Journal of Dental Research**, v. 83, p. 767-770, 2004.

HAUBEK, D. et al. Risk of aggressive periodontitis in adolescent carriers of the JP2 clone of *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans* in Morocco: a prospective longitudinal cohort study. **Lancet**, v. 371, p. 237-242, 2008.

HELLER, D. et al. Subgingival microbial profiles of generalized aggressive and chronic periodontal disease. **Archives of oral biology**, v. 57, n. 7, p. 973-980, jul. 2012.

HOFFMAN, I. D. Familial occurrence of juvenile periodontitis with varied treatment of one of the siblings with five-year follow-up. Case report. **Journal of Periodontology**, v. 54, p. 44-49, 1983.

HOLTFRETER, B. et al. Standards for reporting chronic periodontitis prevalence and severity in epidemiologic studies: Proposed standards from the Joint EU/USA Periodontal Epidemiology Working Group. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 42, n. 5, p. 407-412, mai. 2015.

HØRMAND, J.; FRANDSEN, A. Juvenile periodontitis – localization of bone loss in relation to age, sex and teeth. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 6, n. 6, p. 407-416, dez. 1979.

KORNMAN, K. S. Incomplete penetrance, white space--black space, disease perspective: infectious disease vs. molecular medicine. 10th Meeting of the International Conference on Periodontal Research. September 17, 1995. **Journal of Periodontal Research**, v. 32, n. 1, Pt 2, p. 206-208, jan. 1997.

KRONAUER, E.; BORSA, G.; LANG, N. P. Prevalence of incipient juvenile periodontitis at age 16 years in Switzerland. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 13, p. 103-108, 1986.

LAFURIE, G. I. et al. Demographic, clinical, and microbiological aspects of chronic and aggressive periodontitis in Colombia: a multicenter study. **Journal of Periodontology**, v. 78, p. 629-639, 2007.

LANG, N. et al. Consensus report: aggressive periodontitis. **Annals of Periodontology**, v. 4, n. 1, p. 53, dez. 1999.

LILJENBERG, B.; LINDHE, J. Juvenile periodontitis. Some microbiological, histopathological and clinical characteristics. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 7, p. 48-61, 1980.

LINDHE, J. et al. Consensus report: chronic periodontitis. **Annals of Periodontology**, v. 4, p. 38, 1999.

LINDHE, J.; LILJENBERG, B. Treatment of localized juvenile periodontitis – Result after 5 years. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 11, p. 399-410, 1984.

LISTGARTEN, M. A. Structure of the microbial flora associated with periodontal health and disease in man. A light and electron microscopic study. **Journal of Periodontology**, v. 47, n. 1, p. 01-18, jan. 1976.

LÖE, H.; BROWN, L. J. Early onset periodontitis in the United States of America. **Journal of Periodontology**, v. 62, p. 608-616, 1991.

LÓPEZ, N. J. Clinical, laboratory, and immunological studies of a family with a high prevalence of generalized prepubertal and juvenile periodontitis. **Journal of Periodontology**, v. 63, n. 5, p. 457-468, mai. 1992.

LOPEZ, R.; BAELUM, V. Classifying periodontitis among adolescents: implications for epidemiological research. **Community Dentistry and Oral Epidemiology**, v. 31, p. 136-143, 2003.

LOPEZ, R. et al. Epidemiology of clinical attachment loss in Chilean adolescents. **Journal of Periodontology**, v. 72, p. 1666-1672, 2001.

LOURENÇO, T.G.B., et al. Microbial signature profiles of periodontally healthy and disease patients. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 41, n. 11, p. 1027-1036, nov. 2014.

LYONS, H.; KERR, D. M.; HINE, M. K. Report from the 1949 Nomenclature Committee of the American Academy of Periodontology. **Journal of Periodontology**, v. 21, p. 40-43, 1950.

MANJI, F.; BAELUM, V.; FEJERSKOV, O. Tooth Mortality in an Adult Rural Population in Kenya. **Journal of Dental Research**, v. 67, n. 2, p. 496-500, fev. 1988.

MARCENES, W. et al. Global Burden of Oral Conditions in 1990-2010: A Systematic Analysis. **Journal of Dental Research**, v. 92, n. 7, p. 592-597, 2013.

MELVIN, W. L.; SANDIFER, J. B.; GRAY, J. L. The prevalence and sex ratio of juvenile periodontitis in a young racially mixed population. **Journal of Periodontology**, v. 62, n. 5, p. 330-334, mai. 1991.

MOMBELLI, A.; CASAGNI, F.; MADIANOS, P. N. Can presence or absence of periodontal pathogens distinguish between subjects with chronic and aggressive periodontitis? A systematic review. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 29, n. 3, p. 10-21, 2002.

MENG, H. et al. Determinants of host susceptibility in aggressive periodontitis. **Periodontology 2000**, v. 43, p. 133-159, 2007.

MOMBELLI, A.; MCNABB, H.; LANG, N. P. Black-pigmenting Gram-negative bacteria in periodontal disease. I. Topographic distribution in the human dentition. **Journal of Periodontal Research**, v. 26, p. 301-307, 1991a.

MOMBELLI, A.; MCNABB, H.; LANG, N. P. Black-pigmenting Gram-negative bacteria in periodontal disease. II. Screening strategies for detection of *P. gingivalis*. **Journal of Periodontal Research**, v. 26, p. 308-313, 1991b.

MOMBELLI, A. et al. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in adult periodontitis. I. Topographic distribution before and after treatment. **Journal of Periodontology**, v. 65, p. 820-826, 1994a.

MOMBELLI, A. et al. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in adult periodontitis. II. Characterization of isolated strains and effect of mechanical periodontal treatment. **Journal of Periodontology**, v. 65, p. 827-834, 1994b.

MOORE, W. E.; MOORE, L. V. The bacteria of periodontal diseases. **Periodontology 2000**, v. 5, p. 66-77, jun. 1994.

MULLALLY, B. H.; BREEN, B.; LINDEN, G. J. Smoking and patterns of bone loss in early-onset periodontitis. **Journal of Periodontology**, v. 70, p. 394-401, 1999.

OH, T. J.; EBER, R.; WANG, H. L. Periodontal diseases in the child and adolescent. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 29, n. 5, p. 400-410, mai. 2002.

ORBAN, B.; WEINMANN, J. P. Diffuse atrophy of the alveolar bone (periodontosis). **Journal of Periodontology**, v. 13, p. 31-45, 1942.

- PAGE, R. C. et al. Clinical and laboratory studies of a family with a high prevalence of juvenile periodontitis. **Journal of Periodontology**, v. 56, n. 10, p. 602-610, 1985.
- PAGE, R. C.; EKE, P. I. Case definitions for use in population-based surveillance of periodontitis. **Journal of Periodontology**, v. 78, n. 7, p. 1387-1399, jul. 2007.
- PAGE, R. C.; KORNMAN, K. S. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. **Periodontology 2000**, v. 14, p. 09-11, jun. 1997.
- PAPAPANOU, P. N. Epidemiology and natural history of periodontal disease. In: LANG, N. P.; KARRING, T. (Ed.). **Proceedings of the 1st European workshop on periodontology**. London: Quintessence Publishing Co. Ltd., 1994. p. 23-41.
- PAPAPANOU, P. N.; LINDHE, J. Epidemiology of periodontal diseases. In: LINDHE, J.; KARRING, T.; LANG, N. P. (Eds.). **Textbook of clinical periodontology**. London: Wiley-Blackwell, 2008. p. 129-179.
- PASTER, B. J.; DEWHIRST, F. E. Molecular microbial diagnosis. **Periodontology 2000**, v. 51, n. 1, p. 38-44, ago. 2009.
- PASTER, B. J. et al. Bacterial diversity in human subgingival plaque. **Journal of Bacteriology**, v. 183, n. 12, p. 3770-3783, jun. 2001.
- PERRY, D. A.; NEWMAN, M. G. Occurrence of periodontitis in an urban adolescent population. **Journal of Periodontology**, v. 61, p. 185-188, 1990.
- RIEP, B. et al. Are putative periodontal pathogens reliable diagnostic markers?. **Journal of Clinical Microbiology**, v. 47, p. 1705-1711, 2009.
- RYDER, M. I. Comparison of neutrophil functions in aggressive and chronic periodontitis. **Periodontology 2000**, v. 53, p. 124-137, 2010.
- SAXEN, L. Heredity of juvenile periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 7, p. 276-288, 1980.
- SCHAEFER, A. S. et al. A large candidate- gene association study suggests genetic variants at IRF5 and PRDM1 to be associated with aggressive periodontitis. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 41, p. 1122-1131, 2014.
- SILVA-BOGHOSSIAN, C. M. et al. Association of red complex, A. actinomycetemcomitans and non-oral bacteria with periodontal diseases. **Archives of Oral Biology**, v. 56, n. 9, p. 899-906, 2011.
- SLOTS, J.; TING, M. Actinobacillus actinomycetemcomitans and Porphyromonas gingivalis in human periodontal disease: occurrence and treatment. **Periodontology 2000**, v. 20, p. 82-121, 1999.
- SOCRANSKY, S. S. et al. "Checkerboard" DNA-DNA hybridization. **Biotechniques**, v. 17, n. 4, p. 788-792, out. 1994.

SOCRANSKY, S. S. et al. Microbial complexes in subgingival plaques. **Journal of Clinical Periodontology**, v. 25, n. 2, p. 134-144, fev. 1998.

SOCRANSKY, S. S. et al. Use of checkerboard DNA–DNA hybridization to study complex microbial ecosystems. **Oral Microbiology and Immunology**, v. 19, n. 6, p.352-362, dez. 2004.

SOCRANSKY, S. S.; HAFFAJEE, A. D. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. **Periodontology 2000**, v. 28, p. 12-55, 2002.

SOCRANSKY, S.S.; HAFFAJEE, A. D. Periodontal microbial ecology. **Periodontology 2000**, v. 38, n. 1, p.135-187, jun. 2005.

SUSIN, C.; ALBANDAR, J. M. Aggressive periodontitis in an urban population in southern Brazil. **Journal of Periodontology**, v. 76, p. 468-475, 2005.

SUSIN, C.; HAAS, A. N.; ALBANDAR, J. M. Epidemiology and demographics of aggressive periodontitis. **Periodontology 2000**, v. 65, n. 1, p. 27-45, jun. 2014.

TELES, R. Lessons learned and unlearned in periodontal microbiology. **Periodontology 2000**, v. 62, n. 1, p. 95-162, jun. 2013.

VANDESTEEN, G. E. et al. Clinical, microbiological and immunological studies of a family with a high prevalence of early-onset periodontitis. **Journal of Periodontology**, v. 55, p. 159-169, 1984.

VOGEL, R. I.; DEASY, M. J. Familial occurrence of juvenile periodontitis. **Annals of Dentistry**, v. 39, n. 2, p. 31-36, 1980.

WADE, W. G. The oral microbiome in health and disease. **Pharmacological Research**, v. 69, n. 1, p. 137-143, nov. 2013.

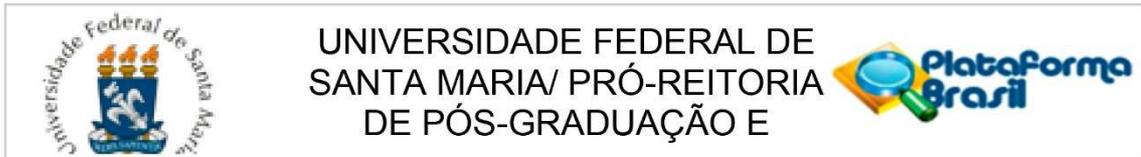
WAERHAUG, J. Subgingival plaque and loss of attachment in periodontosis as observed in autopsy material. **Journal of Periodontology**, v. 47, p. 636-642, 1976.

WAERHAUG, J. Subgingival plaque and loss of attachment in periodontosis as evaluated on extracted teeth. **Journal of Periodontology**, v. 48, p. 125-130, 1977.

YANG, I. V. et al. Identification of novel genes that mediate innate immunity using inbred mice. **Genetics**, v. 183, p. 1535-1544, 2009.

ZAMBON, J. J. Actinobacillus actinomyces tem comitans in adult periodontitis. **Journal of Periodontology**, v. 65, n. 9, p. 892-893, set. 1994.

ANEXO A - PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: LEVANTAMENTO EPIDEMIOLÓGICO NA ÁREA RURAL DE ROSÁRIO DO SUL/RS

Pesquisador: CARLOS HEITOR CUNHA MOREIRA

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 37862414.5.0000.5346

Instituição Proponente: Universidade Federal de Santa Maria/ Pró-Reitoria de Pós-Graduação e

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 869.323

Data da Relatoria: 10/11/2014

Apresentação do Projeto:

Doenças periodontais compreendem condições infecciosas e inflamatórias resultantes da interação entre biofilme bacteriano e resposta do hospedeiro. Essa relação é modulada por uma variedade de fatores, dentre eles, diabetes e fumo, capazes de alterar o início e a progressão dessas afecções. A doença periodontal também pode acarretar alterações sistêmicas, como na doença cardiovascular e no controle da glicemia, e comprometimento funcional e estético. O entendimento de uma pequena quantidade de fatores de risco pode ter potencial impacto no encargo de muitas doenças, com custo reduzido e maior eficiência e efetividade que abordagens específicas para cada condição isolada. Assim, esse projeto objetiva avaliar condições bucais, parâmetros inflamatórios e microbiológicos associados, indicadores e fatores de risco às doenças periodontais, impacto desses parâmetros na qualidade de vida, além de questões relacionadas à saúde geral, como obesidade, diabetes e hipertensão, na zona rural de Rosário do Sul - RS.

Realizaremos um censo das crianças de 10 a 14 anos, para avaliação de cárie e fluorose. E uma amostra representativa dos indivíduos, maiores de 15 anos, residentes na área rural desse município (N= 828) receberá exame bucal completo (periodonto, dentes, mucosas, saliva e análise microbiológica de biofilme), avaliações antropométricas (pressão

Endereço: Av. Roraima, 1000 - prédio da Reitoria - 2º andar

Bairro: Camobi

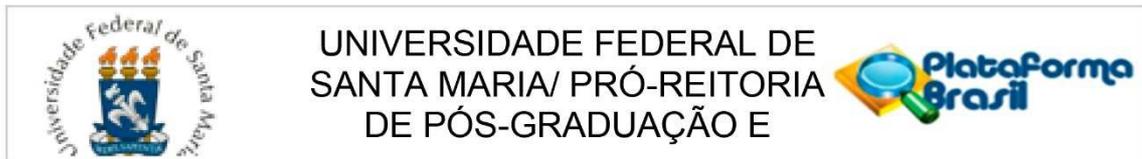
CEP: 97.105-970

UF: RS

Município: SANTA MARIA

Telefone: (55)3220-9362

E-mail: cep.ufsm@gmail.com



Continuação do Parecer: 869.323

arterial, peso, altura, circunferência da cintura) e exames sanguíneos (hemograma completo, hemoglobina glicada, proteína C-reativa ultrasensível e creatinina plasmática).

Adicionalmente, os moradores que aceitarem participar do estudo, mediante a assinatura de termo de consentimento livre e esclarecido, responderão a questionários sobre qualidade de vida, características médicas e sociodemográficas e hábitos de higiene bucal.

Esperamos que, através do conhecimento gerado após a análise dos resultados desse projeto, medidas de controle e/ou erradicação dos problemas encontrados possam ser adotadas, visando melhorias na saúde dos indivíduos dessa área. Caso essas estratégias sejam implementadas, avaliações posteriores poderão ser realizadas a fim de verificar a efetividade das mesmas. Além disso, com a obtenção de resultados positivos/benéficos, há a possibilidade de extensão para outras populações, na tentativa de melhorar as condições globais de saúde.

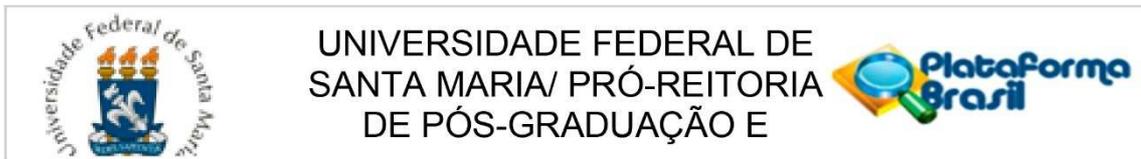
Objetivo da Pesquisa:

Objetivo geral: realizar um levantamento epidemiológico em uma amostra representativa da população rural de Rosário do Sul/ RS.

Objetivos específicos

- Avaliar a condição periodontal (prevalência, extensão e gravidade de doença) dessa população;
- Buscar associações entre condição periodontal e parâmetros inflamatórios e microbiológicos;
- Avaliar a presença de fatores de risco (fumo e diabetes) para as doenças periodontais;
- Verificar possíveis indicadores de risco para doença periodontal;
- Investigar o impacto da utilização de protocolos de exame parciais em comparação com exames de toda a boca em prevalência, gravidade e extensão de doença periodontal;
- Avaliar prevalência, extensão e gravidade de recessão gengival (RG);
- Avaliar a associação de potenciais indicadores de risco com a ocorrência de RG;
- Avaliar prevalência, extensão e gravidade de abrasão gengival (AG);
- Avaliar a associação de potenciais indicadores de risco com a ocorrência de AG;
- Verificar a associação entre AG e RG, identificando se o aumento na prevalência de AG pode gerar aumento na prevalência de RG;
- Verificar a associação entre fatores demográficos (sexo, renda, idade e raça), comportamentais (fumo, presença de cálculo...) e as condições de abrasão e recessão gengivais encontradas;

Endereço: Av. Roraima, 1000 - prédio da Reitoria - 2º andar
Bairro: Camobi **CEP:** 97.105-970
UF: RS **Município:** SANTA MARIA
Telefone: (55)3220-9362 **E-mail:** cep.ufsm@gmail.com



Continuação do Parecer: 869.323

Avaliar o impacto da periodontite como condição clínica preditora de uma pior qualidade de vida relacionada à saúde bucal (OHRQoL);

Investigar as condições clínicas associadas a uma pior OHRQoL;

Avaliar a correlação entre dois instrumentos sócio-dentais, OHIP-14 e GOHAI, para avaliação da OHRQoL;

Avaliar o efeito da avaliação periodontal em boca reduzida realizada por meio de diferentes protocolos parciais nas medidas de associação com a OHRQoL.

Avaliar a condição cariológica das crianças e jovens com idades compreendidas entre 10 e 14 anos;

Buscar associação entre a presença de lesões cáries ativas e o grau eruptivo dos segundos molares permanentes;

Avaliar os indicadores de risco para cárie dentária;

Avaliar a presença de fluorose dentária.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Previstos de modo suficiente.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Termos apresentados.

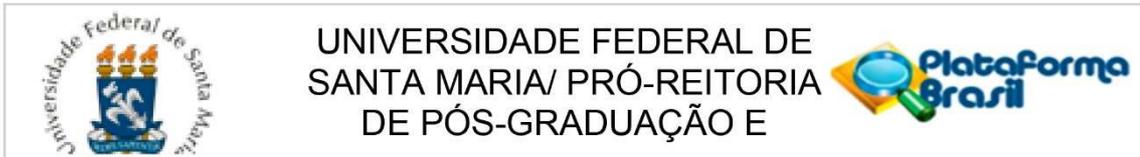
Recomendações:

Veja no site do CEP - <http://coral.ufsm.br/cep> - SITE NOVO - na aba "orientações gerais", modelos e orientações para apresentação dos documentos. Acompanhe as orientações disponíveis, evite pendências e agilize a tramitação do seu projeto.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

.

Endereço: Av. Roraima, 1000 - prédio da Reitoria - 2º andar
Bairro: Camobi **CEP:** 97.105-970
UF: RS **Município:** SANTA MARIA
Telefone: (55)3220-9362 **E-mail:** cep.ufsm@gmail.com



Continuação do Parecer: 869.323

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

SANTA MARIA, 12 de Novembro de 2014

Assinado por:
CLAUDEMIR DE QUADROS
(Coordenador)

Endereço: Av. Roraima, 1000 - prédio da Reitoria - 2º andar

Bairro: Camobi

CEP: 97.105-970

UF: RS

Município: SANTA MARIA

Telefone: (55)3220-9362

E-mail: cep.ufsm@gmail.com

ANEXO B - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA MAIORES DE 18 ANOS

Nº: _____

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas**

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Título do projeto: Levantamento epidemiológico na área rural de Rosário do Sul-RS
Pesquisadores responsáveis: Thiago Machado Ardenghi e Carlos Heitor Cunha Moreira
Instituição/Departamento: Universidade Federal de Santa Maria / Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas.
Telefone para contato (inclusive a cobrar): (55) 9998 9694 e (55) 9106-4673
Pesquisadores participantes: Jociana Boligon e Ticiane de Góes Mário.
Telefone para contato (inclusive a cobrar): (55) 9978-0866 e (55) 9903-5101

❖ Você está sendo convidado(a) para participar, como voluntário, em uma pesquisa. Você precisa decidir se quer participar ou não. Por favor, não se apresse em tomar a decisão. Leia cuidadosamente o que se segue e pergunte ao responsável pelo estudo qualquer dúvida que você tiver. Após ser esclarecido sobre as informações a seguir, no caso de aceitar fazer parte do estudo, assinie ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa você não será penalizado de forma alguma.

❖ Essa pesquisa justifica-se pela necessidade de conhecimento das condições periodontais, endodônticas e saúde geral de uma população que, pela localização geográfica, extensão territorial, diversidades socioeconômica e cultural, tem dificuldade de acesso à assistência médica e odontológica integral.

❖ A sua participação nesse estudo será no sentido de permitir a avaliação da sua boca, de suas medidas corporais e de responder a alguns questionários. Serão anotados dados sobre a quantidade de dentes perdidos, restaurados, obturados e cariados; a presença de placa (tecido amolecido amarelo-esbranquiçado) e cálculo dentário (tecido duro de cor mais escura) formados sobre seus dentes; a ocorrência de sangramento ou pus na sua gengiva e medidas de perda de osso ao redor dos seus dentes, quando encostamos um instrumento odontológico (sonda periodontal milimetrada) entre essas duas estruturas e se há alteração na gengiva após esta ser corada com uma substância inofensiva à sua saúde. Você responderá a questionários, de rápida execução, sobre consultas ao dentista, presença de doenças ou alterações em seu organismo, uso de remédios, hábitos alimentares e comportamentais, nível de educação, renda familiar, qualidade de vida e estresse. Seu peso e sua altura serão medidos para análise do seu Índice de Massa Corporal. Também realizaremos um levantamento radiográfico completo dos seus dentes, mediremos a circunferência da sua cintura e verificaremos sua pressão arterial, e um técnico em enfermagem capacitado (de um laboratório conveniado da prefeitura do município) coletará amostras de sangue para melhor avaliarmos sua saúde geral.

❖ Você poderá se sentir cansado e ter algum desconforto nos exames em que um instrumento odontológico é passado entre sua gengiva e seus dentes, além de haver um risco mínimo de se machucar com o instrumento caso ocorra um movimento brusco de sua parte ou do examinador. Após os exames você poderá ficar com dor leve em sua gengiva. Desconforto também poderá ser sentido durante a tomada radiográfica de seus dentes e a coleta de material sanguíneo. Além disso, você poderá se sentir constrangido ou cansado em responder as questões dos questionários ou, ainda durante medição do seu peso e altura. Caso haja dano odontológico com a pesquisa você terá direito a assistência odontológica gratuita garantida pelos pesquisadores.

❖ O benefício direto a você, participante, será um relatório odontológico detalhado sobre a condição de sua boca e, se necessário, encaminhamento para tratamento odontológico no Serviço de Saúde Municipal ou nas Clínicas Odontológicas da Universidade Federal de Santa Maria, uma avaliação complementar da condição endodôntica de seus dentes e do seu estado de saúde geral.

❖ Você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas em qualquer etapa do estudo. É garantido o livre acesso a todas as informações e,

Nº: _____

sendo de seu interesse, você será mantido atualizado sobre os resultados finais da pesquisa após a publicação da mesma.

❖ Se você concordar em participar do estudo, seu nome e identidade serão mantidos em sigilo. A menos que requerido por lei ou por sua solicitação, somente a equipe do estudo e o Comitê de Ética terão acesso a suas informações. As informações do estudo serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas sem identificação dos voluntários. As fichas clínicas e os questionários, após analisados, ficarão guardados na Clínica de Periodontia da UFSM Santa Maria/RS. (Antigo Prédio da Reitoria, Rua Marechal Floriano Peixoto, número 1184, 7º andar, sala 710) por 5 anos, a fim de possibilitar esclarecimentos posteriores ao término do estudo, conforme nova resolução do CNS 466/12, e, depois, imediatamente destruídos por incineração. Exames de sangue serão fornecidos ao paciente, nós ficaremos com uma cópia do mesmo, que será armazenada como descrito acima.

❖ Você pode se recusar a participar do estudo, ou retirar seu consentimento e sair da pesquisa a qualquer momento, mesmo durante o exame, sem precisar justificar.

Eu, _____, de nacionalidade _____, com _____ anos de idade, estado civil _____, profissão _____, residente em _____, RG nº _____, abaixo assinado, concordo em participar do estudo como sujeito. Fui suficientemente informado (a) a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo "**Levantamento epidemiológico na área rural de Rosário do Sul-RS**". Eu discuti com a pesquisadora _____ sobre a minha decisão em participar nesse estudo. Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Estou totalmente ciente de que não há nenhum valor econômico, a receber ou pagar, por minha participação. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo.

Rosário do Sul, _____ de _____ de 201__.

Nome e Assinatura do sujeito

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste sujeito de pesquisa ou representante legal para a participação neste estudo:

Nome e assinatura do pesquisador responsável

Um comitê de ética em pesquisa em seres humanos é integrado por um grupo de pessoas que trabalham para garantir que seus direitos como participante de pesquisa sejam respeitados. Ele tem a obrigação de avaliar se a pesquisa foi planejada e se está sendo executada de forma ética. Se você entender que a pesquisa não está sendo realizada da forma como imaginou ou que está sendo prejudicado de alguma maneira, você pode entrar em contato com o CEP da UFSM: Comitê de Ética em Pesquisa – UFSM - Cidade Universitária - Bairro Camobi, Av. Roraima, nº1000 - CEP: 97.105.900 Santa Maria – RS. Telefone: (55) 3220-9362. Email: cep.ufsm@gmail.com Web: <http://coral.ufsm.br/cep/> Caso prefira, você pode entrar em contato sem se identificar.

ANEXO C - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO PARA MENORES DE 18 ANOS

Nº: _____

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas**

ASSENTIMENTO INFORMADO PARA PARTICIPAÇÃO EM PESQUISA

Título da pesquisa: Levantamento epidemiológico na área rural de Rosário do Sul-RS
Pesquisadores responsáveis: Thiago Machado Ardenghi e Carlos Heitor Cunha Moreira
Instituição/Departamento: Universidade Federal de Santa Maria / Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas.
Telefone para contato (inclusive a cobrar): (55) 9998 9694 e (55) 9106-4673
Pesquisadores participantes: Jociana Boligon e Ticiane de Góes Mário.
Telefone para contato (inclusive a cobrar): (55) 9978-0866 e (55) 9903-5101

❖ Você está sendo convidado(a) a participar, como voluntário, em uma pesquisa. Você precisa decidir se quer participar ou não. Por favor, não se apresse em tomar a decisão. Leia cuidadosamente o que se segue e pergunte ao responsável pelo estudo qualquer dúvida que você tiver. O presente termo tem por objetivo estabelecer acordo mediante o qual a criança ou o adolescente receberá por parte de seu (sua) responsável autorização para ser examinado (a) pelas Cirurgiãs-dentistas integrantes do presente projeto com finalidade de avaliar sua condição bucal. Após serem esclarecidos (as) sobre as informações a seguir, no caso de aceitarem fazer parte do estudo, você e seu responsável deverão assinar ao final deste documento, que está em duas vias. Uma delas é sua e a outra é do pesquisador responsável. Em caso de recusa vocês não serão penalizados de forma alguma.

❖ Essa pesquisa justifica-se pela necessidade de conhecimento das condições periodontais e saúde geral de uma população que, pela localização geográfica, extensão territorial, diversidades socioeconômicas e culturais, tem dificuldade de acesso à assistência médica e odontológica integral.

❖ A sua participação nesse estudo será no sentido de permitir a avaliação da sua boca, de suas medidas corporais e de responder a alguns questionários. Serão anotados dados sobre a quantidade de dentes perdidos, restaurados, obturados e cariados; a presença de placa (tecido amolecido amarelo-esbranquiçado) e cálculo dentário (tecido duro de cor mais escura) formados sobre seus dentes; a ocorrência de sangramento ou pus na sua gengiva e medidas de perda de osso ao redor dos seus dentes, quando encostamos um instrumento odontológico (sonda periodontal milimetrada) entre essas duas estruturas e se há alteração na gengiva após esta ser corada com uma substância inofensiva à sua saúde. Você responderá a questionários, de rápida execução, sobre consultas ao dentista, presença de doenças ou alterações em seu organismo, uso de remédios, hábitos alimentares e comportamentais, nível de educação, renda familiar e qualidade de vida. Seu peso e sua altura serão medidos para análise do seu Índice de Massa Corporal. Também mediremos a circunferência da sua cintura e verificaremos sua pressão arterial.

❖ Você poderá se sentir cansado e ter algum desconforto nos exames em que um instrumento odontológico é passado entre sua gengiva e seus dentes, além de haver um risco mínimo de se machucar com o instrumento caso ocorra um movimento brusco de sua parte ou do examinador. Após os exames você poderá ficar com dor leve em sua gengiva. Além disso, você poderá se sentir constrangido ou cansado em responder as questões dos questionários ou, ainda durante medição do seu peso, altura e pressão arterial. Caso haja dano odontológico com a pesquisa você terá direito a assistência odontológica gratuita garantida pelos pesquisadores.

❖ O benefício direto a você, participante, será um relatório odontológico detalhado sobre a condição de sua boca e, se necessário, encaminhamento para tratamento odontológico no Serviço de Saúde Municipal ou nas Clínicas Odontológicas da Universidade Federal de Santa Maria e uma avaliação complementar do seu estado de saúde geral.

❖ Você terá acesso aos profissionais responsáveis pela pesquisa para esclarecimento de eventuais dúvidas em qualquer etapa do estudo. É garantido o livre acesso a todas as informações e,

Nº: _____

sendo de seu interesse, você será mantido atualizado sobre os resultados finais da pesquisa após a publicação da mesma.

❖ Se você concordar em participar do estudo, seu nome e identidade serão mantidos em sigilo. A menos que requerido por lei ou por sua solicitação, somente a equipe do estudo e o Comitê de Ética terão acesso a suas informações. As informações do estudo serão divulgadas apenas em eventos ou publicações científicas sem identificação dos voluntários. As fichas clínicas e os questionários, após analisados, ficarão guardados na Clínica de Periodontia da UFSM Santa Maria/RS. (Antigo Prédio da Reitoria, Rua Marechal Floriano Peixoto, número 1184, 7º andar, sala 710) por 5 anos, a fim de possibilitar esclarecimentos posteriores ao término do estudo, conforme nova resolução do CNS 466/12, e, depois, imediatamente destruídos por incineração. Exames de sangue serão fornecidos ao paciente, nós ficaremos com uma cópia do mesmo, que será armazenada como descrito acima.

❖ Você pode se recusar a participar do estudo, ou retirar seu consentimento e sair da pesquisa a qualquer momento, mesmo durante o exame, sem precisar justificar.

Eu, _____, de nacionalidade _____, com _____ anos de idade, estado civil _____, profissão _____, residente em _____, RG nº _____, responsável pelo menor _____

_____ autorizo-o a participar do estudo, acima nominado e resumidamente descrito, como sujeito. Fui suficientemente informado (a) a respeito das informações que li ou que foram lidas para mim, descrevendo o estudo "**Levantamento epidemiológico na área rural de Rosário do Sul - RS**". Eu discuti com a pesquisadora _____ sobre a minha decisão em participar nesse estudo.

Ficaram claros para mim quais são os propósitos do estudo, os procedimentos a serem realizados, seus desconfortos e riscos, as garantias de confidencialidade e de esclarecimentos permanentes. Estou totalmente ciente de que não há nenhum valor econômico, a receber ou pagar, por minha participação. Ficou claro também que minha participação é isenta de despesas. Concordo voluntariamente em participar deste estudo e poderei retirar o meu consentimento a qualquer momento, antes ou durante o mesmo, sem penalidades ou prejuízo.

Rosário do Sul, _____ de _____ de 201__.

Nome e Assinatura do responsável

Eu _____, concordo em ser atendido pelas cirurgiãs-dentistas participantes deste Projeto, de acordo com o que foi explicado a mim e a meus responsáveis.

Nome e Assinatura do sujeito

Declaro que obtive de forma apropriada e voluntária o Consentimento Livre e Esclarecido deste sujeito de pesquisa ou representante legal para a participação neste estudo:

Nome e assinatura do pesquisador responsável

Um comitê de ética em pesquisa em seres humanos é integrado por um grupo de pessoas que trabalham para garantir que seus direitos como participante de pesquisa sejam respeitados. Ele tem a obrigação de avaliar se a pesquisa foi planejada e se está sendo executada de forma ética. Se você entender que a pesquisa não está sendo realizada da forma como imaginou ou que está sendo prejudicado de alguma maneira, você pode entrar em contato com o CEP da UFSM: Comitê de Ética em Pesquisa – UFSM - Cidade Universitária - Bairro Camobi, Av. Roraima, nº1000 - CEP: 97.105.900 Santa Maria – RS. Telefone: (55) 3220-9362 Email: cep.ufsm@gmail.com Web: <http://coral.ufsm.br/cep/>
Caso prefira, você pode entrar em contato sem se identificar.