

UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ
Ana Paula Grimião Queiroz

**OCORRÊNCIA DE PERIODONTOPATÓGENOS
EM CRIANÇAS DE MÃES
PERIODONTALMENTE DOENTES**

Taubaté – SP
2012

UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ
Ana Paula Grimião Queiroz

**OCORRÊNCIA DE PERIODONTOPATÓGENOS
EM CRIANÇAS DE MÃES
PERIODONTALMENTE DOENTES**

Dissertação apresentada para a obtenção do
Título de Mestre pelo Programa de Pós-
graduação em Odontologia do Departamento
de Odontologia da Universidade de Taubaté.
Área de concentração: Periodontia
Orientador: Prof. Dr. José Roberto Cortelli

Taubaté - SP
2012

ANA PAULA GRIMIÃO QUEIROZ

Data: _____

Resultado: _____

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. _____ Universidade de Taubaté

Assinatura _____

Prof. Dr. _____ Universidade de Taubaté

Assinatura _____

Prof. Dr. _____ Universidade de São Paulo

Assinatura _____

Aos meus filhos, Guilherme e Gustavo, pelos momentos que estive ausente no meu papel de mãe para que esse trabalho fosse construído, muito obrigada por vocês existirem em minha vida!

Ao meu marido, Ronildo, pelas horas em que deixei de ser companheira, atrelada ao meu computador, obrigada pela compreensão!

Aos meus pais Joarcy e Luzia, que mesmo distantes, sempre me apoiaram nessa conquista. Eternamente obrigada!

*“Rir é correr risco de parecer tolo.
Chorar é correr o risco de parecer sentimental.
Estender a mão é correr o risco de se envolver.
Expor seus sentimentos é correr o risco de mostrar seu verdadeiro eu.
Defender seus sonhos e idéias diante da multidão é correr o risco de
perder as pessoas.
Amar é correr o risco de não ser correspondido.
Viver é correr o risco de morrer.
Confiar é correr o risco de se decepcionar.
Tentar é correr o risco de fracassar.
Mas os riscos devem ser corridos, porque o maior perigo é não arriscar
nada.
Há pessoas que não correm nenhum risco, não fazem nada, não têm
nada e não são nada.
Elas podem até evitar sofrimentos e decepções, mas elas não conseguem
nada, não sentem nada, não mudam, não crescem, não amam, não
vivem.
Acorrentadas por suas atitudes, elas viram escravas, privam-se de sua
liberdade.
Somente a pessoa que corre riscos é livre!”*

Sêneca (orador romano)

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, Prof. Dr. José Roberto Cortelli, por sua colaboração na construção desse trabalho, sempre muito paciente, me auxiliou transmitindo seus sábios conhecimentos para que eu pudesse transformar um desejo em realidade. Muito obrigada!

À Profa Dra. Sheila Cortelli, coordenadora da área de Periodontia, por me fazer enxergar que “nós somos aquilo que fazemos repetidamente. Excelência, portanto, não é um ato, mas um hábito” (Aristóteles).

Ao Prof. Dr. Davi Aquino, que se fez fundamental nessa pesquisa com sua colaboração na parte da análise estatística, sempre muito acessível, ajudando-me nas dificuldades, obrigada. Nunca vou me esquecer disto!

À Profa. Dra. Christina Claro, coordenadora do Programa de Pós-graduação, por sua dedicação e competência para que esse curso seja cada vez melhor.

À Profa Dra. Karina Cogo Miller, pela participação em minha qualificação, cujos apontamentos fizeram com que eu percebesse o quanto ainda podia melhorar, obrigada por sua colaboração!

Ao Prof. Dr. Gilson Franco, por sua capacidade em esclarecer minhas dúvidas, sempre muito dedicado nessa difícil função de educar. Obrigada!

Ao Prof. Dr. Frederico dos Reis Goyatá pelo incentivo para que eu iniciasse o mestrado e por compartilhar comigo essa vitória. Obrigada!

A todos os funcionários da Universidade de Taubaté, na pessoa de Adriana Pellogia que, com seriedade e doçura, nos atende e ampara em todas as dúvidas.

Aos meus colegas do mestrado e doutorado, que fizeram com que o afastamento do meu lar e de meus familiares se tornasse menos sofrido. A convivência com vocês foi algo que ultrapassou minhas expectativas. Fiz amigos que não irei esquecer jamais!

Ao amigo e companheiro Luis Felipe Gilson de Oliveira Rangel, por me acompanhar nesta batalha.

A minha funcionária Maria Alice Freitas Dias, por ter colaborado nessa pesquisa, ajudando-me nas coletas e atendimento aos pacientes.

A todos os professores da Pós-graduação em Odontologia da UNITAU, pelo carinho e envolvimento que prestaram, lembrarei de todos a cada passo para uma nova conquista.

Ao funcionário do Laboratório de Biologia Molecular, Jonas de Carvalho Filho, por me permitir entender um pouco “daquele” espaço, esclarecendo minhas dúvidas com seus conhecimentos.

As funcionárias do Centro de Pesquisa Bibliográfica, Maria Teresa Buono e Daniela Alves Ferreira, que enquanto precisei de seus auxílios na busca de apoio técnico-científico em minhas atividades de pesquisa, sempre se mostraram servís.

Queiroz APG. Ocorrência de periodontopatógenos em crianças de mães periodontalmente doentes. [Dissertação de mestrado]. Taubaté: Universidade de Taubaté, Departamento de Odontologia; 2012. 60p.

RESUMO

Introdução: Periodontopatógenos podem ser transmitidos entre familiares. As crianças parecem ter em seus pais uma primeira via de contato. Nosso grupo tem investigado esta questão, principalmente nos estudos envolvendo transmissibilidade entre mães e filhos. **Objetivo:** O objetivo deste estudo transversal foi avaliar a presença dos periodontopatógenos *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *C. rectus*, *T. forshytia* e *T. denticola* em trinta crianças [de seis meses a 2,5 anos de idade] (1.66 ± 0.57) e suas respectivas mães periodontalmente doentes [de 19 a cinquenta anos de idade] (29.36 ± 7.30 anos de idade), diagnosticadas com periodontite crônica. Como grupo controle, foram incluídas 32 crianças [de seis meses a 2,5 anos de idade] (1.10 ± 0.53) e suas respectivas mães [de 16 a 44 anos de idade] (27.09 ± 7.19 anos de idade) sem periodontite. **Método:** Todos os indivíduos adultos foram submetidos a exames clínicos periodontais incluindo avaliação de profundidade de sondagem, nível clínico de inserção, índice de placa e gengival. No grupo caso, foram incluídas mães que apresentaram no mínimo quatro dentes com profundidade de sondagem ≥ 4 mm associadas a perda de inserção clínica ≥ 3 mm. Enquanto que no grupo controle, consideramos aquelas que apresentavam profundidade de sondagem ≤ 4 mm e ausência de perda de inserção clínica. Amostras de biofilme das mães foram coletadas do sulco/bolsa periodontal e da saliva estimulada; e do grupo dos filhos, foram coletadas amostras de biofilme da saliva. **Resultados:** Verificou-se maior presença dos patógenos *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forshytia* e *C. rectus* no sulco do que na saliva das mães com periodontite. *T. denticola* não apresentou diferença estatisticamente significativa entre sulco e saliva ($p > 0,05$) nos mesmos nichos. Nas mães sem periodontite, os patógenos *P. intermedia*, *T. forshytia* e *C. rectus* foram mais prevalentes ($p < 0,05$) no sulco. *A. actinomycetemcomitans* e *P. gingivalis* apresentaram frequência similares ($p < 0,05$) e *T. denticola* apresentou maior ($p < 0,05$) frequência nas amostras de saliva. Nos filhos de ambos os grupos *C. rectus* foi mais frequente ($p < 0,05$). **Conclusão:** Observamos uma tendência de maior frequência bacteriana nas mães com periodontite, o que, no entanto, nem sempre representou um aumento na frequência bacteriana de seus filhos. Constatamos, contudo, que os filhos de mães com periodontite apresentaram maiores frequências do patógeno *C. rectus* ($p < 0,05$) seguido de *T. denticola*. Isso sugere a possibilidade de uma investigação mais aprofundada sobre a transmissibilidade de periodontopatógenos entre as mães e seus filhos.

Palavras-chave: Periodontite; Periodontopatógenos; Mães; Filhos.

Queiroz APG. Occurrence of periodontal pathogens in children and their periodontally diseased mothers. [Dissertação de mestrado]. Taubaté: Universidade de Taubaté, Departamento de Odontologia; 2012. 60p.

ABSTRACT

Background: Periodontopathogenic bacteria are transmissible among family members, and children seem to acquire the pathogens predominantly from their parents. Our group has previously investigated the issue especially between mothers and children. **Aims:** To better understand the initial colonization of bacteria we proposed to conduct a cross-sectional study to investigate the presence of *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *C. rectus*, *T. forshytia* and *T. denticola* in thirty children [from six months to two and half years] (1.66 ± 0.57) and their periodontally diseased mothers [29.36 ± 7.30 mean age $\pm 7,30$]. As a control group we also included 32 children [from six months to two and half years] (1.10 ± 0.53) and their non-periodontitis mothers [27.09 ± 7.19]. **Method:** All adult patients received clinical examinations that included periodontal pocket depth, clinical attachment loss, plaque, and gingival indexes. In the case group were selected when they showed presence of at least four teeth with periodontal pocket depth [$\geq 4\text{mm}$] and clinical attachment loss [$\geq 3\text{mm}$]. In the control group included mothers who had showed periodontal pocket depth $\leq 4\text{mm}$ and no clinical attachment loss. Subgingival samples and saliva were taken for microbial analysis from all adult patients, while only saliva was taken from the children. All microbial samples were analyzed by PCR. **Results:** *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forshytia* and *C. rectus* were more frequently found in periodontal pockets than in saliva of periodontally diseased mothers. However, the same profile was not observed for *T. denticola* ($p > 0.05$). In non-periodontitis mothers *P. intermedia*, *T. forshytia* and *C. rectus* were more prevalent in periodontal pockets ($p < 0.05$). *A. actinomycetemcomitans* and *P. gingivalis* showed the same frequency ($p < 0.05$) while *T. denticola* was more frequent ($p < 0.05$) in saliva. In children from both groups, *C. rectus* was more prevalent. **Conclusion:** A tendency of higher bacterial frequency was observed among periodontitis mothers, but these increased numbers were not always accompanied by a higher bacterial frequency in their children. We observed, however, that periodontally diseased mothers showed a higher frequency of the pathogen *C. rectus* ($p < 0.05$), followed by *T. denticola*, suggesting further investigations related to the transmissibility of periodontal bacteria from mothers to their children.

Keywords: Periodontitis; Periodontopathogens; Mothers; Sons.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO DE LITERATURA	13
2.1 DOENÇA PERIODONTAL	13
2.2 MICROBIOLOGIA DA DOENÇA PERIODONTAL	13
2.3 CRIANÇAS E ADULTOS	15
3 PROPOSIÇÃO	23
3.1 OBJETIVO	23
4 MÉTODO	24
4.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO	24
4.2 OBTENÇÃO DOS DADOS CLÍNICOS	25
4.2.1 Índice de placa	25
4.2.2 Índice gengival	26
4.2.3 Profundidade de sondagem e nível de inserção clínica	26
4.3 COLETA MICROBIOLÓGICA	27
4.3.1 Coleta do sulco/bolsa periodontal	27
4.3.2 Coleta de saliva	28
4.4 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA	29
4.4.1 Extração do DNA	29
4.4.2 Análise microbiológica pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)	30
5 RESULTADOS	32
6 DISCUSSÃO	38
7 CONCLUSÃO	47
REFERÊNCIAS	48
ANEXOS	55

1 INTRODUÇÃO

A Doença Periodontal é uma infecção de origem bacteriana que acomete os tecidos de proteção e sustentação dos dentes. É considerada uma das principais doenças em saúde bucal, classificada como a segunda maior patologia, acometendo de 50% a 90% da população mundial. É descrita como uma doença crônica, progressiva, multifatorial, causada principalmente por bactérias Gram-negativas, compreendendo um grupo de eventos que afetam a saúde bucal e que pode levar à perda de dentes (Grossi & Genco, 1998; Brunetti, 2004; Lindhe et al., 2010).

A cavidade bucal é um ecossistema diversificado, com até setecentas diferentes espécies microbianas colonizadoras (Aas et al., 2005). No entanto, uma grande diferenciação ecológica da microbiota ocorre com a erupção dos dentes, que apresentam superfícies onde as bactérias podem aderir, levando à formação do biofilme dentário. Bactérias encontradas em biofilmes são responsáveis pela etiologia das duas principais doenças bucais que podem levar à perda do dente: cárie e periodontite. Suspeita-se que patógenos periodontais como *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* e *Treponema denticola* sejam espécies indígenas da cavidade bucal, mas quando esses patógenos iniciam a colonização ainda não está claro (Papaioannou et al., 2009).

Os cuidados com a saúde bucal infantil devem iniciar-se no período pré-natal, fornecendo informação adequada aos futuros pais e sensibilizando-os para tal importância. Estes cuidados devem ser vistos como a base para uma educação preventiva que proporcione condições para um ótimo crescimento, desenvolvimento

e funcionamento. Entre seis a oito meses de idade ocorre a erupção dos dentes decíduos e até aos três anos, em condições normais, a criança completa sua dentição primária (Costa et al., 2006).

Embora a doença periodontal seja rara em crianças saudáveis, é importante investigar a presença de patógenos quando os dentes permanentes começam a irromper. A detecção destes precocemente pode minimizar o risco de doença periodontal e doença cárie na puberdade e na vida adulta (Watanabe & Frommel, 1993; Tanaka et al., 2006; Fernandes et al., 2007; Cortelli et al., 2009).

Baseado nos conhecimentos atuais do biofilme dental associado com a doença periodontal, bactérias periodontopatogênicas podem estar presentes em sítios saudáveis, mas em níveis baixos para ser clinicamente significativo (Marsh, 1994). O que ainda é incerto é se a colonização precoce destes patógenos nas crianças possa ser considerada um fator de risco para o futuro desenvolvimento da periodontite (Gafan et al., 2004).

Indicadores maternos tais como periodontite, hábitos de higiene bucal e microbiota periodontal são fatores de risco preditivos na infância e para uma futura periodontite na adolescência (Pähkla et al., 2010).

Um dos grandes enfoques da periodontia moderna é a prevenção. Para isso, têm sido buscados métodos laboratoriais eficientes que sejam capazes de detectar determinados marcadores que permitam avaliar, com mais precisão, a prevalência e a frequência de bactérias envolvidas na doença periodontal, bem como sua presença na condição de saúde, determinando assim os riscos que possam gerar numa idade posterior.

Se os primeiros anos de vida são críticos em relação à aquisição de certos tipos de bactérias, é muito provável que crianças após a fase recém-nascida

adquiram micro-organismos de seus pais ou de seus cuidadores. Bactérias periodontais são encontradas nas bolsas periodontais, mas podem também residir sobre a língua e superfícies da mucosa e saliva. A saliva é o principal vetor da transmissão de bactérias (Asikainen et al., 1997; Rosa et al., 2002). Evidência de que bactérias periodontais possam ser transmitidas via aerossóis não existe. A aquisição desses micro-organismos ocorre por contato direto através de beijos, contato indireto por meio de objetos contaminados, como talheres ou escovas de dente compartilhadas, gotículas de saliva ou outros fluidos que contenham o agente (Van Winkelhoff & Boutaga, 2005).

Logo, esse estudo hipotetizou que a ocorrência de periodontopatógenos na cavidade bucal das mães possa ter relação com a presença das mesmas na cavidade bucal de seus filhos. Neste contexto, o objetivo do presente estudo do tipo transversal foi avaliar a presença de patógenos periodontais específicos em pares de mães/filhos.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 DOENÇA PERIODONTAL

O caráter destrutivo das doenças periodontais e sua progressão são mantidos somente na presença de biofilme subgengival e podem estar associados a grupos específicos de bactérias. Desta forma, alguns patógenos apresentam papel importante no desenvolvimento da doença periodontal como *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*), *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) e *Tannerella forsythia* (*T. forsythia*) e ainda outros micro-organismos de provável significância como *Prevotella intermedia* (*P. intermedia*), *Campylobacter rectus* (*C. rectus*), *Peptostreptococcus micros* (*P. micros*), *Fusobacterium* sp, *Treponema* sp, estafilococos, enterococos, pseudomonas e vários bastonetes (Slots, 2000).

2.2 MICROBIOLOGIA DA DOENÇA PERIODONTAL

P. intermedia é um bastonete anaeróbio gram-negativo associado à doença periodontal. Estudos têm demonstrado que é bastante prevalente em pacientes com atividade periodontal destrutiva (Brennan et al., 2007). Além disso, Guan et al.

(2008) demonstraram que *P. intermedia* pode contribuir para a destruição dos tecidos periodontais durante a periodontite crônica por meio da indução da produção de metaloproteinase da matriz-9 por fibroblastos humanos.

C. rectus é um vibrião móvel, anaeróbio, gram-negativo que tem se mostrado mais prevalente em indivíduos com doença periodontal do que em indivíduos saudáveis (Socransky & Haffajee, 2005; Ebersole et al., 2008; Surna et al., 2009). Além disso, Miyamoto et al. (2009) demonstraram que este micro-organismo, provavelmente, é um precursor para outras bactérias periodontopatogênicas em pacientes com maior susceptibilidade à doença.

A. actinomycetemcomitans é um bastonete imóvel, gram-negativo, microaerofílico que tem sido encontrado principalmente em sítios de pacientes com periodontite agressiva, mas pode ser detectado em outras formas de periodontite e em indivíduos saudáveis. Isto sugere que essa bactéria possa apresentar diferenças no seu potencial patogênico (Guthmiller et al., 2001). É capaz de produzir vários fatores de virulência, sendo o mais conhecido deles a leucotoxina, uma proteína citotóxica que apresenta algumas propriedades patogênicas bastante peculiares, dentre elas a capacidade de produzir a lise seletiva de monócitos e leucócitos polimorfonucleares humanos (Taichman et al., 1980). Além disso, tem sido demonstrado que os lipopolissacarídeos de *A. actinomycetemcomitans* promovem um desequilíbrio da homeostase do metabolismo de colágeno gengival, facilitando a fagocitose destas fibras pelos fibroblastos gengivais (Takahashi et al., 2008).

T. forsythia é um bastonete, anaeróbio, gram-negativo, fortemente associado à doença periodontal, tanto nos casos de periodontite crônica quanto de periodontite agressiva generalizada (Imbronito et al., 2008). Sua presença em níveis elevados no sulco gengival de pacientes doentes tem sido associada significativamente a uma

maior perda de inserção (Hamlet et al., 2008), enquanto que redução dos seus níveis foi associada à diminuição de sinais e sintomas da periodontite (Tanner & Izard, 2006; Tanner et al., 2007).

P. gingivalis é um bastonete imóvel, anaeróbio, gram-negativo, que tem sido fortemente relacionado à doença periodontal (Tanner et al., 2007). É capaz de invadir células do organismo humano (Lamont et al., 1995; Jandik et al., 2008) e tem a propriedade de induzir agregação de plaquetas humanas (Xiangfeng et al., 2008). Isto poderia elevar as chances de um paciente apresentar infarto do miocárdio e acidente vascular cerebral (Castro et al., 2000).

T. denticola é um espiroqueta anaeróbio, gram-negativo, associado à doença periodontal que é capaz de invadir tecidos bucais e estimular a produção de vários mediadores inflamatórios como interleucina-6, interleucina-8, óxido nítrico e prostaglandina E₂, contribuindo significativamente para a progressão da doença (Tanabe et al., 2008). Em estados de saúde periodontal, estas bactérias estão presentes em níveis reduzidos ou, às vezes, indetectáveis. No entanto, durante a gengivite e na progressão para a periodontite, ocorre um aumento substancial da proporção destas bactérias no biofilme (Holt & Ebersole, 2005).

2.3 CRIANÇAS E ADULTOS

Há evidências para sugerir que a colonização de *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* e *T. forsythia* possa ocorrer em crianças com idade a partir de 18 meses de vida (Tanner et al., 1989). Cortelli et al. (2008) examinaram a

presença de cinco diferentes patógenos periodontais na cavidade bucal de indivíduos em diferentes faixas etárias incluindo desde recém-nascidos a idosos. O objetivo foi avaliar a associação entre faixas etárias específicas e o momento em que a colonização inicial por patógenos periodontais ocorria. Foi constatado que a colonização inicial por *C. rectus*, *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia*, *T. forsythia* se deu em todas as idades de indivíduos dentados. Também foi observado que a prevalência de cada bactéria permaneceu em níveis elevados em placa subgengival, língua e mucosa da bochecha de indivíduos idosos (> 55 anos).

Mayanagi et al. (2004) estudaram a frequência de 25 espécies bacterianas de indivíduos com periodontite não tratada e periodontalmente saudáveis. Encontraram patógenos periodontais em biofilme sub e supragengival de sítios periodontalmente saudáveis, sugerindo que bactérias gram-negativas anaeróbicas possam estar presentes no ambiente aeróbico.

A colonização dos patógenos *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *P. intermedia*, *P. nigrescens*, *C. rectus*, *E. corrodens*, *A. actinomycetemcomitans*, *C. ochracea*, *C. sputigena* e *T. denticola* investigada por Kimura et al. (2002) foi considerado por estes autores precoce na infância em um estudo que incluiu crianças de dois a 13 anos de idade. Já *A. actinomycetemcomitans*, *C. ochracea*, *C. sputigena*, *P. nigrescens*, *C. rectus*, *E. corrodens* foram consideradas espécies indígenas em crianças com saúde periodontal (Ooshima et al., 2003), assim como *T. forsythia* foi observada mais frequentemente em crianças sem gengivite (Gafan et al., 2004).

Tamura et al. (2006) analisaram a distribuição de dez espécies periodontopatogênicas na saliva em pares mães/crianças (106/113) sem periodontite, com foco principal na análise das bactérias do complexo vermelho. As

crianças tinham entre dois a 12 anos de idade. Obtiveram como resultados de seus estudos uma correlação de periodontopatógenos nos pares mães/crianças, com maior ocorrência de bactérias do complexo vermelho nas crianças cujas mães eram portadoras desses patógenos.

Kobayashi et al. (2008) determinaram em mães não portadoras de periodontite a presença de 11 espécies bacterianas, bem como em seus filhos com idade entre três a nove anos. Em seu estudo, a colonização dessas bactérias nas crianças aumentou com a idade. Verificaram que a taxa de detecção do complexo vermelho foi maior depois da erupção dos dentes permanentes e que, dentre eles, a detecção de *P. gingivallis* foi mais significativa. Mães e crianças que portavam a espécie *F. nucleatum* apresentaram maior frequência dos demais patógenos estudados, quando comparadas às que não apresentavam. Houve similaridade nos perfis microbianos entre mães e filhos.

Mac-Clellan et al. (1996) em seus estudos utilizando análise por PCR, observaram que *P. gingivalis* foi detectado em 40-50% das crianças com zero a dois anos de idade e em 60% dos adolescentes com idade entre 13 a 14 anos. Esses dados confirmaram que *P. gingivalis* é adquirido mesmo antes da erupção dos dentes, e que sua colonização em outros nichos extrassulculares como saliva, língua, mucosa e amígdalas podem preceder o estabelecimento do sulco gengival. O estudo ainda sugeriu que o contato com indivíduos infectados possa ser um agente preditor mais significativo para a transmissão dessa bactéria.

Leite et al. (2008), em revisão de literatura, afirmaram que *A. actinomycetemcomitans* ocorre em pelo menos 10% das crianças com dentição primária e periodonto sadio, enquanto *P. gingivalis* é ausente ou não frequentemente detectado. Crianças que adquirem *A. actinomycetemcomitans* podem abrigar

apenas temporariamente a bactéria. Os achados sugerem que a colonização bucal por *A. actinomycetemcomitans* parece mais comum entre cinco a sete anos de idade, enquanto *P. gingivalis* pode colonizar a cavidade bucal principalmente após a puberdade, e tão somente na presença de doença periodontal.

Lamell et al. (2000) demonstraram a estabilidade de colonização dos patógenos *P. gingivalis* e *A. actinomycetemcomitans* em estudo com 101 indivíduos de dois a vinte anos de idade, saudáveis, no período de um a três anos, em uma corte de 222 indivíduos pesquisada anteriormente (zero-18 anos). Como resultados observaram que houve uma associação positiva simultânea de ambas as bactérias na primeira amostragem, sendo detectadas em 47 dos 222 indivíduos. Na segunda amostragem, o valor não foi significativo. Ainda ressaltaram que colonização é transitória em crianças de idade precoce, mas que pode se tornar mais estável nos últimos anos da adolescência. É provável que o contato com uma pessoa infectada favoreça a presença desses anaeróbios na cavidade bucal de crianças.

Gaetti-Jardim Junior et al. (2008) avaliaram as condições gengivais, sócioeconômicas e a ocorrência de *A. actinomycetemcomitans* de 233 crianças com idade entre seis e 12 anos. Os resultados evidenciaram que a ocorrência de gengivite se deu em 86,7% das crianças, não havendo diferenças significativas entre as condições gengivais das crianças, aspectos raciais ou o fator gênero. *A. actinomycetemcomitans* foi detectado em 4,8% das crianças saudáveis e 6,8% das portadoras de gengivite. A frequência de isolamento de *A. actinomycetemcomitans* foi baixa em todas as condições clínicas estudadas e não foi estatisticamente associada ao desenvolvimento da gengivite.

Hayashi et al. (2006) avaliaram crianças de quatro à seis anos de idade e verificaram que *C. rectus* encontra-se amplamente em toda a cavidade bucal,

tornando-se estabelecido numa fase precoce. Ashimoto et al. (1996) também avaliaram que *C. rectus* é considerado um patógeno endógeno que por vezes, contribui para o desenvolvimento de periodontite, enquanto Moore et al. (1991) analisaram amostras microbiológicas de vinte indivíduos adultos com periodontite e observaram a presença deste patógeno em todas as amostras relacionadas a sítios de progressão de periodontite.

Kulekci et al. (2008) estudando a prevalência de *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. forshytia*, *P. intermedia*, *P. nigrescens* e *T. denticola* na saliva de crianças de seis a nove anos de idade com dentição mista e gengiva saudável, utilizando PCR, verificaram que *P. nigrescens* foi a bactéria mais frequente (80%), seguida de *T. denticola* (32%), *A. actinomycetemcomitans* (24%) e *P. gingivalis* (12%). *P. intermedia* e *T. forshytia* não foram detectados, sendo associados à presença de gengivite. Concluíram que o risco de possível contaminação de bactérias pela saliva e a necessidade de cuidados de prevenção devem ser considerados antes da dentição mista.

Cortelli et al. (2010) elucidaram a ocorrência de *A. actinomycetemcomitans* em 555 indivíduos com diagnóstico de periodontite crônica, com média de 33 anos de idade. *A. actinomycetemcomitans* foi detectado em 102 indivíduos (18,37%), sendo em 29 (16,11%) com periodontite crônica leve; 42 (17,42%) com periodontite crônica moderada e 31 (23,13%) com periodontite crônica severa, sem diferença estatística entre os grupos. Os autores observaram ainda que a ocorrência deste patógeno em indivíduos com periodontite crônica parece ser inversamente proporcional à idade, estando mais relacionado com o gênero feminino.

Em um estudo conduzido por Fernandes et al. (2009) a prevalência de *C. rectus* em indivíduos dentados e desdentados, em diferentes faixas etárias, incluindo

recém-nascidos, crianças, adultos, idosos dentados e idosos desdentados foi investigada. Quando da comparação dos sítios extrassulculares entre os recém-nascidos e as crianças de seis a 13 anos, *C. rectus* mostrou-se mais prevalente no grupo das crianças dentadas. Este dado confirma que a área sulcular que circunda o dente pode favorecer a colonização, principalmente de espécies anaeróbias.

Tanaka et al. (2006), em estudo com crianças de três a 17 anos de idade, comprovaram que a frequência de *P. gingivallis* e *P. intermedia* no biofilme supragengival foi significativamente maior que a correspondente na língua e na mucosa bucal, sendo superior em indivíduos de dez a 14 anos.

Papaioannou et al. (2009) coletaram amostras microbiológicas em cinco diferentes *habitats* bucais de 93 crianças de três a 12 anos de idade. Encontraram perfis bacterianos semelhantes no biofilme supragengival e subgengival, com uma maior proporção de espécies *Actinomyces* do complexo verde; enquanto nas amostras de tecido mole foram mais frequentes *streptococcus* do complexo amarelo. Os perfis bacterianos do dorso da língua e da saliva também foram semelhantes. As diferenças encontradas no perfil entre os grupos etários sugerem uma maturação gradual da microbiota bucal, sendo constituído por um número crescente de espécies dos complexos laranja e vermelho.

Nakano et al. (2008) coletaram amostras de saliva de 26 crianças e adolescentes de dois a 16 anos de idade em dois tempos (1999-2000; 2006-2007). PCR foi realizado para a extração do DNA de cada amostra e a presença de dez espécies bacterianas foi determinada. Como resultado foi observado que a taxa de detecção do complexo vermelho no segundo período de coleta foi significativamente maior nos indivíduos que apresentaram duas ou mais espécies detectadas em amostras coletadas durante o primeiro período.

Tamura et al. (2005) avaliaram a distribuição de *P.gingivalis* de amostras de saliva de 464 crianças e adolescentes de três a 18 anos de idade. Seus resultados sugeriram que existe um número reduzido de crianças e adolescentes portando *P. gingivalis*.

Estudos avaliaram a presença de periodontopatógenos em mães e filhos, quando os dentes permanentes irrompem, apontando a saliva como um veículo possível para essa transmissão (Rosa et al., 2002), fortificando a utilização da mesma para amostragem de estudos microbiológicos de periodontite (Könönen et al., 1994; Umeda et al., 1998).

Rotimi et al. (2010) utilizaram a saliva como modelo microbiológico para determinar a presença de *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia*, *P. gingivalis*, *P. intermédia* e *P. nigrescens* na cavidade bucal de 240 crianças e adolescentes saudáveis do Kuwait, dividindo em cinco grupos: menores de seis anos, seis a nove anos, dez a 12 anos, 13 a 15 anos e 16 a 18 anos de idade. As amostras foram analisadas pela técnica de PCR multiplex. Um total de 185 indivíduos foi colonizado por pelo menos uma bactéria periodontal alvo. *P. nigrescens* foi a mais prevalente em todos os grupos etários. *P. gingivalis* foi detectado ocasionalmente. Os autores concluíram, portanto, que os patógenos estudados foram comumente encontrados nas crianças do Kuwait, colonizando a cavidade bucal desde a infância.

Fernandes et al. (2007) avaliaram a prevalência de *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia* e *C. rectus* no sulco gengival, na mucosa do dorso da língua e na bochecha de crianças, adolescentes e adultos jovens entre 2,5 a 18 anos de idade. Os resultados mostraram que as bactérias de maior e menor prevalência foram respectivamente *C. rectus* (94%) e *P. gingivalis* (2%), sendo esta última somente encontrada no sulco gengival de

adolescentes e adultos jovens. A faixa etária de menor idade apresentou a mais baixa prevalência bacteriana, não havendo interferência quanto ao gênero. Observou-se uma pior condição clínica quando parâmetros periodontais estiveram associados a *T. forsythia* e *P. intermedia*.

Querido et al. (2006) estabeleceram a frequência de *A. actinomycetemcomitans* em uma família com expressiva prevalência de doença periodontal. Dos indivíduos examinados, dois receberam o diagnóstico de periodontite incipiente, dois de periodontite agressiva localizada e um de periodontite agressiva generalizada. *A. actinomycetemcomitans* de máxima leucotoxicidade foi detectado em todos os indivíduos. Os autores observaram similaridades nas características microbianas e diferenças na severidade da doença periodontal, sugerindo que outros fatores poderiam estar presentes modificando a manifestação clínica da doença periodontal.

3 PROPOSIÇÃO

3.1 OBJETIVO

O propósito do presente estudo do tipo transversal foi avaliar a ocorrência de *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *C. rectus*, *T. forsythia* e *T. denticola* em mães com ou sem periodontite e em seus respectivos filhos da primeira infância.

4 MÉTODO

Para avaliar a ocorrência de periodontopatógenos em filhos de mães periodontalmente doentes foram incluídas crianças de até 2,5 anos de idade. Para avaliar esta ocorrência de forma mais apropriada, tomou-se a decisão de incluir também crianças na mesma faixa etária, todavia filhos de mães sem periodontite.

Para o estabelecimento do cálculo amostral, foi levado em consideração estudos previamente publicados com perfil semelhante a este (Rosa et al., 2002; Tamura et al., 2006; Kobayashi et al., 2008; Päkla et al., 2010), ou seja, prevalência de periodontopatógenos na relação mãe/filho. Em adição, foi calculado o número mínimo de indivíduos para compor o grupo experimental aplicando *t* de Student para amostras independentes, com o auxílio do *Software Bio Estat 5.0*, e ficou determinado um número de 30.

4.1 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

Os critérios de inclusão para definição de caso foram os seguintes: as mães deveriam apresentar no mínimo quatro dentes com profundidade de sondagem ≥ 4 mm associadas a perda de inserção clínica ≥ 3 mm (López et al., 2002).

Foram considerados não caso as mães que apresentaram profundidade de sondagem ≤ 4 mm e ausência de perda de inserção clínica. Foram excluídos do

estudo mães com as características que seguem: submetidas à terapia antibiótica nos três meses antecedentes ao início do estudo; as que apresentassem doenças sistêmicas com evidente influência no comportamento da doença periodontal (The American Academy of Periodontology, 2000; Elter et al., 2002; Skamagas et al., 2008); mães nunca fumantes; e as que tivessem realizado tratamento periodontal seis meses antecedentes ao início do estudo (Wong et al., 1999).

Foram excluídas do estudo crianças na qual seus cuidadores primários não fossem as próprias mães. Especificamente aquelas que permanecessem em creches ou que ficassem sob o cuidado de babás ou outros acompanhantes (ver dados na ficha para avaliação da relação mãe-filho) (Anexo B).

Os indivíduos foram alocados na cidade de Valença e Vassouras, RJ (Anexos A e B). Este estudo foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Taubaté (Protocolo CEP/UNITAU nº 520/10) (Anexo F).

4.2 OBTENÇÃO DOS DADOS CLÍNICOS

Os seguintes dados (ÍTEM 4.2.1) foram obtidos no início do estudo e devidamente anotados em ficha clínica (Anexo C) especificamente elaborada para este estudo, contendo também a carta de informação aos pacientes (Anexo D) e o termo de consentimento livre e esclarecido (Anexo E):

4.2.1 Índice de placa

Após a realização da anamnese, os indivíduos incluídos foram examinados para a obtenção do índice de placa. Assim, realizou-se o isolamento relativo com algodão esterilizado e secagem das superfícies dentárias com jato de ar. O biofilme bacteriano visível a olho nu foi removido do terço cervical das faces mesio-vestibular, médio-vestibular, disto-vestibular e médio-lingual/palatina de cada dente com o auxílio de uma sonda periodontal milimetrada tipo Williams (Hu-Friedy), sendo o resultado codificado em presente ou ausente [contagem dicotômica] (Ainamo & Bay, 1975).

4.2.2 Índice gengival

Em seguida, uma sonda periodontal milimetrada tipo Williams (Hu-Friedy) foi introduzida no interior do sulco gengival em quatro sítios por dente (mesio-vestibular, médio-vestibular, disto-vestibular e médio-lingual/palatina) a fim de se fazer à avaliação da inflamação gengival pela presença ou ausência de sangramento no sulco gengival [contagem dicotômica] até trinta segundos após a introdução da sonda (Ainamo & Bay, 1975).

4.2.3 Profundidade de sondagem e nível de inserção clínica

Estes parâmetros foram avaliados utilizando-se uma sonda manual milimetrada tipo Williams (Hu-Friedy) em seis sítios por dente (mésio-vestibular, vestibular, disto-vestibular, mésio-lingual, lingual, disto-lingual). A profundidade de sondagem foi avaliada por meio da distância encontrada entre a margem gengival e o fundo do sulco gengival ou bolsa periodontal. O nível de inserção clínica foi avaliado por meio da medida da junção cimento-esmalte ao fundo do sulco gengival ou bolsa periodontal.

Esta sondagem foi realizada por uma única examinadora (Ana Paula Grimião Queiroz) previamente treinada e calibrada por um examinador de referência (Prof. Dr. José Roberto Cortelli). Os exames foram realizados em consultórios de postos de saúde pública e de escolas públicas, em consultório particular e na clínica da Universidade Severino Sombra.

4.3 COLETA MICROBIOLÓGICA

4.3.1 Coleta do sulco/bolsa periodontal

As amostras microbianas coletadas do sulco gengival/bolsa periodontal ocorreram da seguinte forma: nas mães sem periodontite, a coleta foi realizada na face mesial dos primeiros molares superiores, na face mesial de um incisivo central superior e um inferior; na ausência destes elementos dentais, a coleta microbiana foi

realizada nos dentes imediatamente adjacentes. Após a remoção do biofilme supragengival com uma cureta periodontal, os sítios foram isolados com rolos de algodão estéreis e um sugador de saliva foi utilizado para diminuir o risco de contaminação salivar. Os dentes foram então delicadamente secos com jato de ar por dez segundos. Um cone de papel nº 30 (Dentsplay, Brasil) foi inserido na porção mais apical do sulco periodontal e mantido em posição por sessenta segundos (Cortelli et al., 2005). Nas mães com periodontite, seguiu-se o mesmo padrão de coleta, sendo que as amostras foram dos quatro sítios com maior profundidade de sondagem.

Após a remoção dos cones de papel dos sulco/bolsa periodontais, estes foram colocados em um único microtubo tipo Eppendorf® contendo 1,5mL de solução de Ringer reduzida e armazenados em freezer a -20°C até que fossem transportados ao laboratório de Biologia Molecular da UNITAU. No laboratório, as amostras foram mantidas a temperatura de -80°C até o seu processamento.

4.3.2 Coleta de saliva

A coleta de saliva nas mães foi realizada de forma estimulada solicitando a mesma que mastigasse um pequeno pedaço de garrote estéril, sendo coletado 1.0mL de saliva em tubos de 1.5mL tipo Eppendorf. Para a coleta salivar das crianças, swab previamente esterilizado foi posicionado no assoalho bucal e girado durante vinte segundos até que ficasse completamente embebido. Os microtubos de

coleta salivar das mães e das crianças foram armazenados em freezer a -20°C até que fossem transportados ao laboratório de Biologia Molecular da UNITAU. No laboratório, as amostras foram mantidas a temperatura de -80°C até o seu processamento.

4.4 ANÁLISE MICROBIOLÓGICA

4.4.1 Extração do DNA

Os microtubos contendo saliva e cones de papel imersos em solução de Ringer foram homogeneizados em agitador mecânico (Vortex[®], Phoenix, AP56) por sessenta segundos. Deste material, retirou-se uma alíquota de $300\mu\text{L}$, que foi armazenada sob refrigeração, caso houvesse necessidade de se repetir o processamento laboratorial. Todos os microtubos foram centrifugados por dez minutos ($4690 \times g$). Removeu-se o sobrenadante e ao material sedimentado foi adicionado $200\mu\text{L}$ de matriz comercial de purificação de DNA (Instagene, Bio-Rad) ao *pellet* formado. Após homogeneização por dez segundos, o material foi mantido em banho-maria por trinta minutos a 56°C , homogeneizado por trinta segundos e mantido por mais oito minutos em água em ebulição (100°). O material foi novamente homogeneizado por trinta segundos e então centrifugado por quatro

minutos. Logo, o DNA obtido foi mantido sob refrigeração a -20°C para posterior utilização em ensaios de PCR.

4.4.2 Análise microbiológica pela Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)

A PCR foi realizada em termociclador tipo Mastercycler Gradient (Eppendorf®) na seguinte condição: um ciclo inicial a 95°C/5min., 35 ciclos 95°C/30seg., 55°C/30seg., 72°C/1min., e um ciclo final de 72°C/5min.

Com a finalidade de verificar o sucesso do processo de extração de DNA, todas as amostras envolvidas no presente estudo foram processadas inicialmente utilizando *primer* específico para o gene da actina humana. Controles negativos para o gene da actina humana foram novamente submetidos ao processo de extração e posteriormente amplificados. A partir de DNA extraído de todas as amostras, a presença de *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia*, *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *C. rectus* e *T. denticola* foi avaliada empregando primers específicos (Figura 1).

Bactéria	Primers	Produto esperado (PB)
<i>A.actinomycetemcomitans</i>	5'AAACCCATCTCTGAGTTCTTCTTC3' 5'ATGCCAACTTGACGTTAAAT3'	550
<i>P. gingivalis</i>	5'-AGGCAGCTTGCCATACTGCG-3' 5'-ACTGTTAGCAACTACCGATGT-3'	404
<i>P. intermedia</i>	5'-TTTGTTGGGGAGTAAAGCGGG-3' 5'-TCAACATCTCTGTATCTGCGT-3'	575
<i>T. forsythia</i>	5'-GCGTATGTAACCTGCCCGCA-3' 5'-TGCTTCAGTGTCAGTTATACCT-3'	641
<i>C. rectus</i>	5'-TTTCGGAGCGTAAACTCCTTTT-3' 5'-TTTCTGCAAGCAGACACTCTT-3'	598
<i>T. denticola</i>	5'-TAATACCGAATGTGCTCATTTACAT-3' 5'-TCAAAGAAGCATTCCCTCTTCTTCTTA-3'	316

Figura 1 – Descrição dos *primers* utilizados

PB – Pares de base

Para a análise dos produtos amplificados pela PCR empregou-se eletroforese conduzida a 10V/cm² em solução tamponada (TBE) por uma hora em gel de agarose a 1% corados com Brometo de Etídio. A visualização realizou-se em câmara de irradiação ultravioleta (UV). Marcador de peso molecular (Ladder 100 – Invitrogen®), bem como controle positivo e negativo gentilmente cedidos pelo Instituto Fio Cruz, RJ foram empregados em todos os géis, e após, fotografados e comparados com os produtos amplificados a partir de cepas padrão.

5 RESULTADOS

Foram incluídos no presente estudo 62 pareamentos de mãe/filho, sendo trinta mães portadoras de periodontite crônica (29.36 ± 7.30 anos de idade) e 32 sem periodontite (27.09 ± 7.19 anos de idade).

Como se esperava, a avaliação dos parâmetros clínicos periodontais mostrou que as mães portadoras de periodontite apresentaram valores de referência característicos de doença ($p < 0,05$) em relação às mães sem periodontite (Tabela 1).

Tabela 1 – Distribuição dos valores médios de PS, NCI, IP e IG das mães

	PS	NCI	IP	IG
	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP	Média ± DP
Periodontite	$3,14 \pm 0,20$	$2,45 \pm 0,31$	$0,80 \pm 0,22$	$0,53 \pm 0,28$
Sem Periodontite	$2,25 \pm 0,48$	$1,23 \pm 0,78$	$0,25 \pm 0,25$	$0,17 \pm 0,31$
p valor	0,0321	0,0101	0,0010	0,0010

PS = profundidade de sondagem, NCI = nível clínico de inserção, IP = índice de placa, IG = índice de sangramento gengival, DP – Desvio padrão – Teste *t* de Student

Ao se comparar a frequência bacteriana entre o sulco e saliva nas mães portadoras de periodontite, verificou-se que os patógenos *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forshytia* e *C. rectus* foram estatisticamente mais prevalentes no sulco em relação à saliva ($p < 0,05$). Todavia, ao se avaliar a presença de *T. denticola* nos mesmos nichos, não se observou nenhuma diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) (Figura 2).

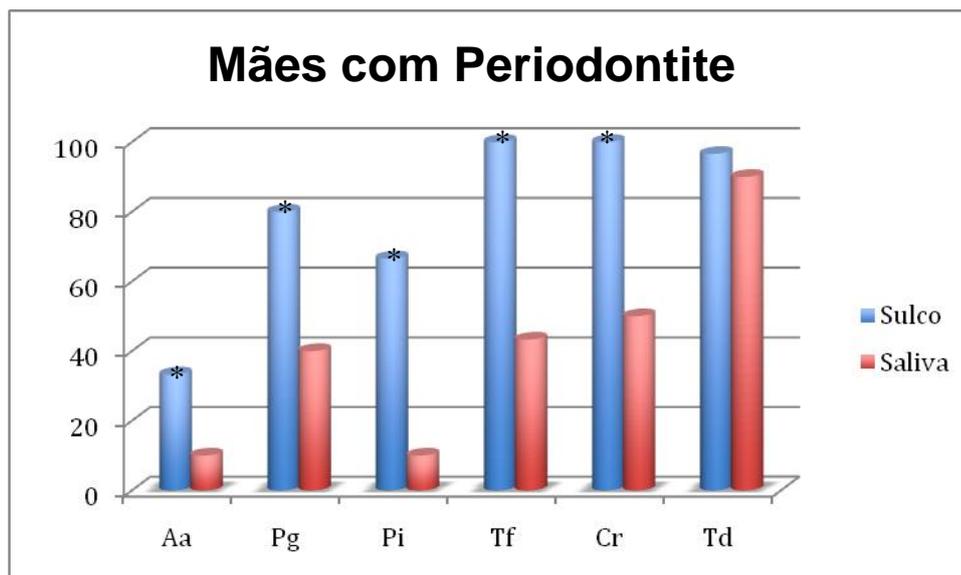


Figura 2 – Distribuição da frequência dos patógenos periodontais nas mães portadoras de periodontite

* - Diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) – Teste Qui-quadrado

Ao analisar a frequência bacteriana entre o sulco e saliva nas mães sem periodontite, os patógenos *P. intermedia*, *T. forshytia* e *C. rectus* apresentaram-se mais prevalentes ($p < 0,05$) no sulco. *A.actinomycescomitans* e *P. gingivalis* apresentaram frequência similares ($p > 0,05$) independente do local de coleta e *T. denticola* apresentou maior ($p < 0,05$) frequência nas amostras de saliva (Figura 3).

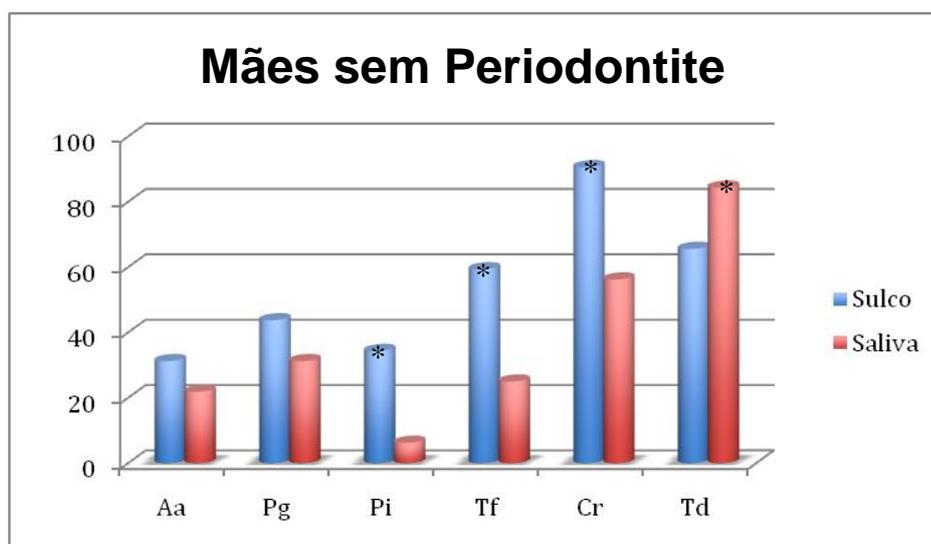


Figura 3 – Distribuição da frequência dos patógenos periodontais nas mães sem periodontite

* - Diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) – Teste Qui-quadrado

Ainda, independentemente do local de coleta das amostras bacterianas (ou seja, sulco e saliva como unidade de análise) as mães portadoras de periodontite apresentaram maior frequência ($p < 0,05$) de *P. gingivalis*, *P.intermedia*, *T.forsythia* e *T.denticola* em comparação as mães sem periodontite. Já ao analisar os patógenos *A.actinomycetemcomitans* e *C.rectus*, estes apresentaram frequências ($p < 0,05$) similares (Figura 4).

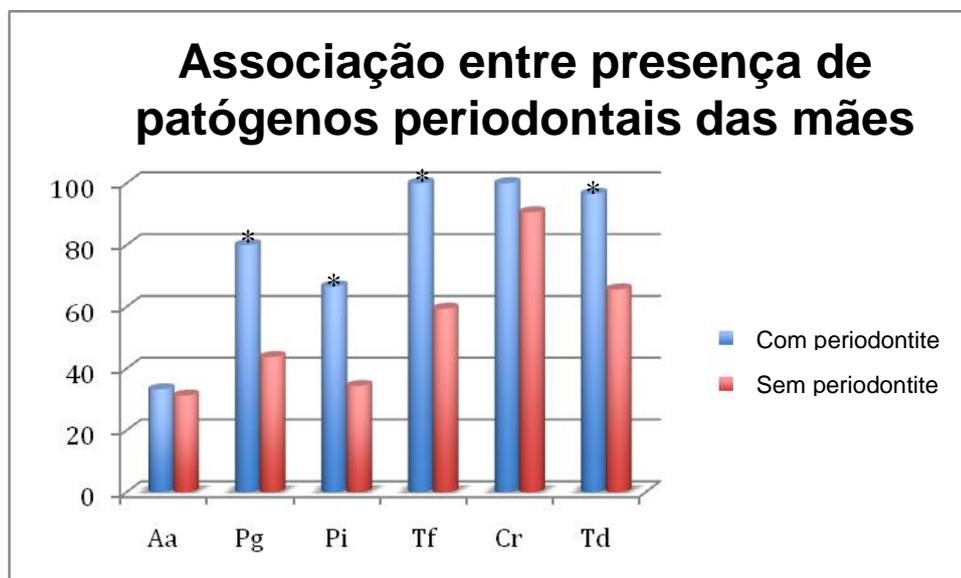


Figura 4 – Distribuição da frequência dos patógenos periodontais entre mães portadoras de periodontite e mães sem periodontite

* - Diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) – Teste Qui-quadrado

Nos filhos de mães portadoras de periodontite, *C. rectus* foi o patógeno mais prevalente ($p < 0,05$) seguido de *T. denticola* (Figura 5). Já para os filhos de mães sem periodontite, apenas *C. rectus* apresentou maior ($p < 0,05$) prevalência (Figura 6).



Figura 5 – Distribuição da frequência dos patógenos periodontais nos filhos de mães portadoras de periodontite

*.§ - Diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) – Teste Qui-quadrado

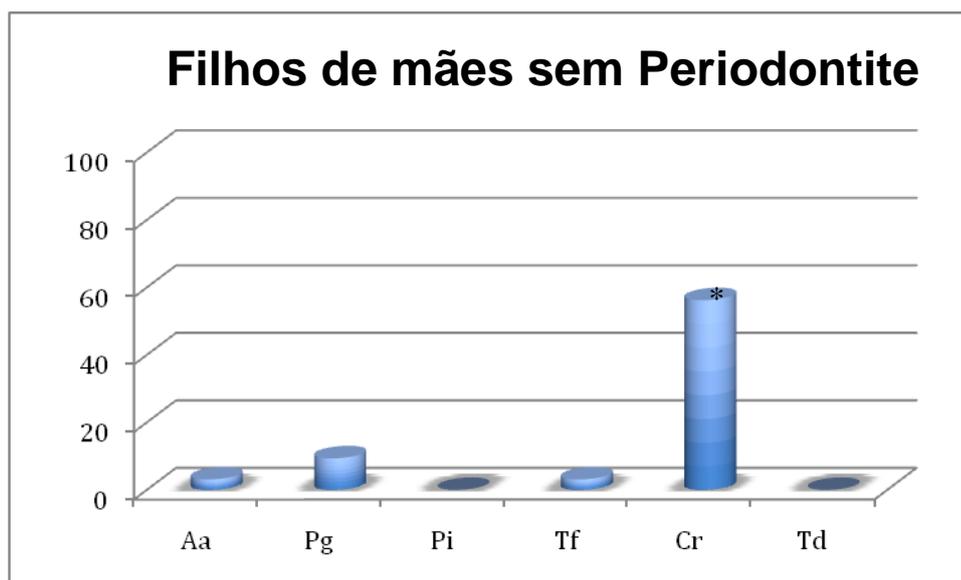


Figura 6 – Distribuição da frequência dos patógenos periodontais nos filhos de mães sem periodontite

*- Diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) – Teste Qui-quadrado

Quando comparado à prevalência dos patógenos periodontais entre os filhos de mães com e sem periodontite, *T. denticola* foi a bactéria mais prevalente ($p < 0,05$) nos filhos de mães portadoras de periodontite. Os demais patógenos analisados nesse estudo apresentaram prevalência estatisticamente equivalente (Figura 7).

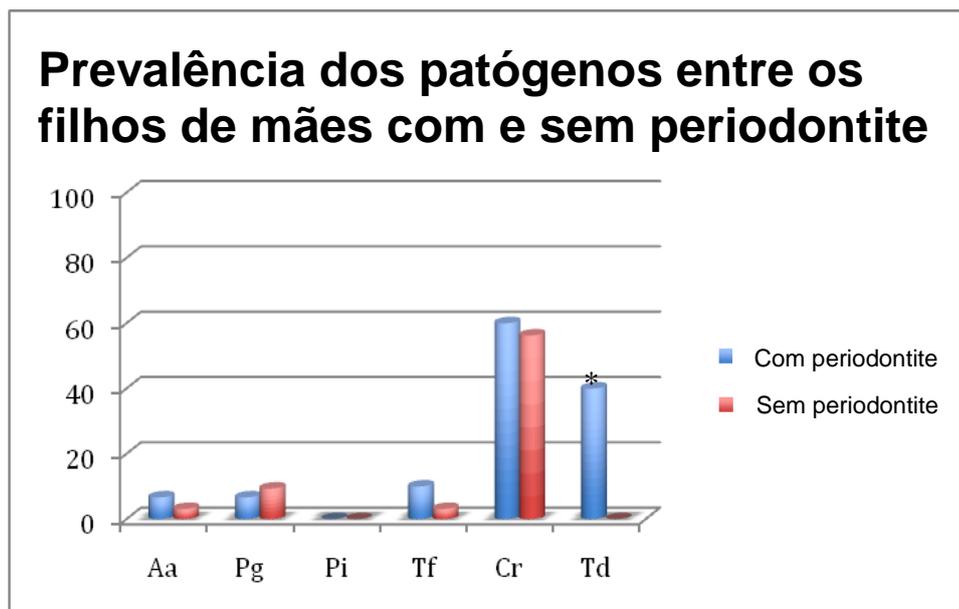


Figura 7 – Distribuição da frequência dos patógenos periodontais entre os filhos de mães portadoras de periodontite e de mães sem periodontite

*- Diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) – Teste Qui-quadrado

Na avaliação comparativa da frequência bacteriana entre mães e filhos, independente da condição periodontal, as mães sempre apresentaram maiores ($p < 0,05$) frequências de todos os patógenos periodontais em relação aos seus filhos (Figuras 8 e 9).

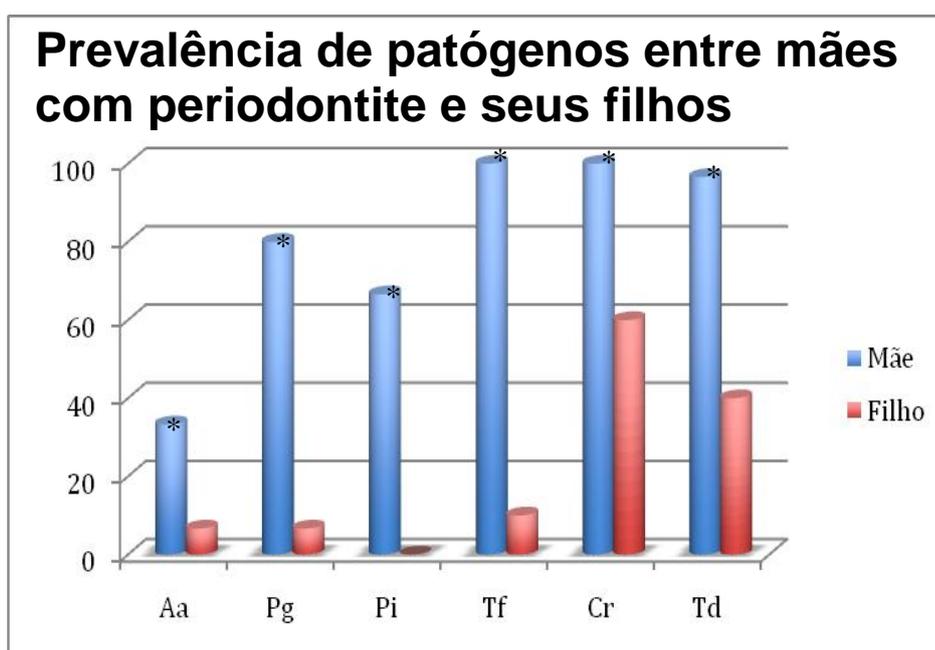


Figura 8 – Distribuição da frequência dos patógenos periodontais entre mães portadoras de periodontite e seus filhos

*- Diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) – Teste Qui-quadrado

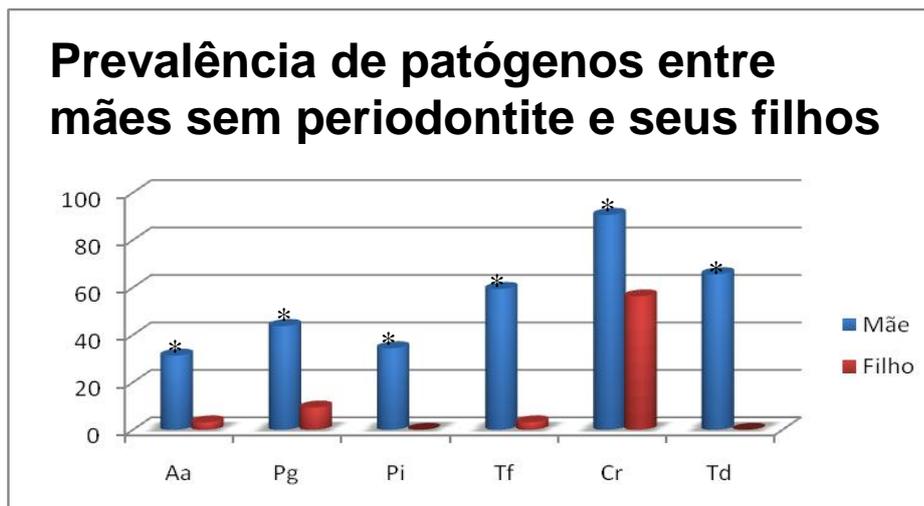


Figura 9 – Distribuição da frequência dos patógenos periodontais entre mães sem periodontite e seus filhos

*- Diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) – Teste Qui-quadrado

Foi proposta ainda uma análise comparativa na frequência de ocorrência simultânea de *P. gingivalis*, *T.forsythia* e *T.denticola* (complexo vermelho) entre as mães portadoras de periodontite e as sem periodontite. Esta análise nos mostrou maior frequência ($p < 0,05$) de casos de positividade para o complexo vermelho nas mães portadoras de periodontite (Figura 10). A mesma análise não pôde ser realizada para os grupos de filhos devido à reduzida prevalência de ocorrência simultânea dos patógenos nesses grupos.



Figura 10 – Frequência da ocorrência simultânea de *P. gingivalis*, *T.forsythia* e *T.denticola* (complexo vermelho) entre as mães portadoras de periodontite e as mães sem periodontite

*- Diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) – Teste Qui-quadrado

6 DISCUSSÃO

A periodontite é uma inflamação crônica dos tecidos periodontais que resulta em destruição dos tecidos de suporte dental. Essa destruição ocorre na tentativa do hospedeiro em eliminar as bactérias do sulco gengival, estimulando uma resposta imunoinflamatória. Existem diferentes formas de doença periodontal, podendo acometer adultos e crianças (Pähkla et al., 2010).

As bactérias anaeróbias constituem uma porção significativa da comunidade bacteriana em lesões periodontais, sendo a etapa chave no desenvolvimento dessas doenças. Entretanto, pouco se sabe sobre a colonização e sucessão de tais espécies (Kobayashi et al., 2008). O conhecimento da colonização primária das bactérias relacionadas à doença periodontal pode fornecer uma melhor compreensão do desenvolvimento do biofilme bucal e do início e progressão da doença.

O foco principal deste estudo foi entender se a presença de determinados patógenos periodontais na cavidade bucal de mães poderia de alguma forma se relacionar com bactérias presentes na cavidade bucal de seus filhos. Logo, avaliamos a presença de seis patógenos periodontais específicos, dentre eles *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *C. rectus*, *T. forsythia* e *T. denticola* em grupos de mães portadoras de periodontite e de mães sem periodontite, correlacionando-as com seus respectivos filhos.

Para se obter as amostras necessárias, postos de saúde pública e escolas públicas, consultórios particulares de médicos pediatras e a clínica odontológica da USS (Universidade Severino Sombra, Vassouras-RJ) foram visitados e uma breve

explicação sobre esta pesquisa foi feita para esclarecimento e motivação do público de interesse (mães). Subsequentemente, as mães que se incluíam nos critérios exigidos pelo estudo eram direcionadas para preenchimento de fichas, consentimento da pesquisa e exame clínico periodontal. Nos locais que possuíam consultórios odontológicos, o exame, os índices e coleta das amostras eram prontamente realizados. Naqueles que não possuíam, os pares mães/filhos eram encaminhados e agendados para atendimento em consultório particular (Ana Paula Grimião Queiroz) executando subsequente coleta. O número de amostras de mães sem periodontite foi concluído anterior as amostras de mães com periodontite, o que já era esperado. Diante da dificuldade em se encontrar mães portadoras de periodontite com filhos de até 2,5 anos de idade, bairros da cidade de Valença foram percorridos e uma triagem por uma única examinadora (Ana Paula Grimião Queiroz) nos próprios domicílios das mães foi feita com material de exame clínico periodontal (sonda milimetrada, espelho e pinça), para posterior deslocamento das mesmas ao consultório odontológico particular. Dessa forma foi possível completar o número de amostras especificado.

Ao definirmos os indivíduos que iriam compor a população estudada, ficou determinado um grupo de mães com diagnóstico de periodontite crônica [caso], e de seus respectivos filhos, acreditando que mães doentes seriam facilitadoras da possível transmissão dos patógenos periodontais estudados, visto que é de se esperar que as mesmas apresentem uma maior frequência bacteriana, conseqüentemente seus filhos poderiam alojar mais bactérias. Como controle do estudo, estabeleceu-se outro grupo de mães sem periodontite e seus filhos, para que pudesse observar se neste grupo, os patógenos encontrados nas mães também seriam detectados em seus filhos, mesmo esperadamente com uma carga

bacteriana menor. Esta expectativa foi confirmada quando avaliamos a frequência bacteriana dos pares, conforme as figuras 8 e 9, onde verificou-se que independente da condição periodontal, as mães sempre apresentaram maiores ($p < 0,05$) frequências de todos os patógenos.

A escolha dos pares teve como base as seguintes características: o contato regular entre mãe e filho, onde refeições, mamadeiras e atividades rotineiras fossem oferecidas principalmente pelas mães, bem como relações afetivas que envolvessem beijo, a fim de que a relação mãe/filho fosse mais estreita possível. Crianças que permaneciam em tempo integral em creches foram excluídas. Dessa forma, minimizaram-se as chances dos filhos portarem patógenos periodontais de parentes ou pessoas mais próximas (babás, empregadas), o que caracterizaria um viés de seleção amostral do nosso estudo.

Esse estudo, ao avaliar os parâmetros clínicos periodontais entre as mães com periodontite e as mães sem periodontite, observou que as mães portadoras de periodontite apresentaram valores médios de PS, NCI, IP e IG diferentes ($p < 0,05$) aos das mães sem periodontite (Tabela 1) evidenciando a dicotomização entre ser doente e ser saudável.

Quando da comparação das amostras entre sulco/bolsa periodontal e saliva, foi demonstrado uma maior ($p < 0,05$) frequência dos patógenos *A. actinomycetemcomitans* (33,3%), *P. gingivalis* (80%), *P. intermédia* (66,6%), *T. forshytia* (100%) e *C. rectus* (100%) em amostras de sulco/bolsa, nas mães portadoras de periodontite. O patógeno *T. denticola* mostrou similaridade ($p < 0,05$) nas amostras de sulco e de saliva das mães com periodontite (Figura 1). Já nas mães sem periodontite, os patógenos *P. intermedia* (34,37%), *T. forshytia* (59,37%)

e *C. rectus* (90,62%) apresentaram-se mais prevalentes ($p < 0,05$) no sulco, estando *T. denticola* mais frequente ($p < 0,05$) nas amostras de saliva (84,37%) (Figura 2).

Em outros estudos, patógenos periodontais específicos foram encontrados em ambas amostras de biofilme sub e supragengival de sítios periodontalmente saudáveis (Mayanagi et al., 2004; Tanaka et al., 2006; Papaioannou et al., 2009). Papaioannou et al. (2009) encontraram uma maior proporção de espécies *Actinomyces* em amostras intrassulculares; nas amostras de tecido mole foram mais frequentes estreptococos. Tanaka et al. (2006), em estudo com crianças e adolescentes de três a 17 anos de idade, comprovaram que a frequência de *P. gingivallis* e *P. intermedia* em biofilme supragengival foi significativamente maior que a correspondente na língua e na mucosa bucal, sendo superior em indivíduos de dez a 14 anos.

O presente estudo verificou que nos filhos de mães portadoras de periodontite, *C. rectus* (60%) foi o patógeno mais prevalente ($p < 0,05$), (Figura 5), o que também foi documentado por Hayashi et al. (2006), seguido de *T. denticola* (40%). Já para os filhos de mães sem periodontite, esse estudo demonstrou que apenas *C. rectus* (56,25%) (Figura 6) apresentou maior prevalência ($p < 0,05$). No estudo conduzido por Fernandes et al. (2009), quando da comparação dos sítios extrassulculares entre os recém-nascidos e crianças de seis a 13 anos, *C. rectus* mostrou-se mais prevalente no grupo das crianças dentadas. Estudando crianças e adolescentes periodontalmente saudáveis, Rotimi et al. (2010), num total de 240 crianças, observaram que 185 foram colonizadas por pelo menos uma bactéria periodontal alvo e *P. nigrescens* foi a mais prevalente em todos os grupos etários, concordando com os estudos de Kulekci et al. (2008). Em estudo de análise microbiológica, Lamell et al. (2000) confirmam que a colonização de *P. gingivalis* e

A. actinomycetemcomitans em crianças saudáveis é transitória em idade precoce, mas que pode se tornar mais estável nos últimos anos da adolescência. Estes autores enfatizam que o provável contato com uma pessoa infectada favoreça a presença desses anaeróbios na cavidade bucal das crianças. Leite et al. (2008) e Rotimi et al. (2010) também detectaram *P. gingivalis* ocasionalmente em idade precoce.

Em nosso estudo, *T. denticola* (40%) foi o patógeno mais prevalente no grupo dos filhos de mães portadoras de periodontite, quando comparados aos filhos de mães sem periodontite, conforme demonstrado na figura 7.

Rosa et al. (2002), Tamura et al. (2006) e Kobayashi et al. (2008) encontraram uma correlação de periodontopatógenos em crianças e suas mães. Esse experimento confirmou a colonização das bactérias nos pares mães/filhos, de acordo com as figuras 8 e 9.

Tamura et al. (2006) e Kobayashi et al. (2008) comprovaram alta prevalência de espécies do complexo vermelho em mães portadoras de periodontite e seus filhos, sendo que Kobayashi et al. (2008) ainda observaram que a alta detecção dessas espécies foi verificada principalmente após a erupção dos dentes permanentes e que, dentre eles, a detecção de *P. gingivallis* foi mais significativa. Ainda confirmaram que mães e crianças que portavam a espécie *F. nucleatum* apresentaram maior número de espécies bacterianas, quando comparadas às que não eram portadoras desses patógenos. Papaioannou et al. (2009) coletaram amostras microbianas de crianças entre três a 12 anos de idade e demonstraram que a medida que a idade aumenta, há uma maturação gradual da microbiota bucal, sendo constituído por um número crescente de espécies dos complexos vermelho e laranja. Nakano et al. (2008) também encontraram resultados similares, pois

coletaram amostras de saliva de 26 crianças e adolescentes de dois a 16 anos em dois tempos e a taxa de detecção do complexo vermelho no segundo período de coleta foi significativamente maior nos indivíduos que tiveram duas ou mais espécies do complexo vermelho detectadas em amostras colhidas durante o primeiro período. Quando analisamos, nesse estudo, a relação simultânea do complexo vermelho entre mães com periodontite x mães sem periodontite, foi observada maior frequência ($p < 0,05$) de casos de positividade para o complexo vermelho nas mães portadoras de periodontite (Figura 10). Já a mesma análise não pôde ser realizada para os grupos de filhos, devido à reduzida prevalência de ocorrência simultânea dos patógenos nesses grupos.

Diversos trabalhos evidenciaram a colonização de *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* e *T. forsythia* a partir de uma idade muito precoce, inferior a dois anos, sem sinais clínicos de doença periodontal (Tanner et al., 1989; Kimura et al., 2002; Cortelli et al., 2008; Rotimi et al., 2010). Mac-Clellan et al. (1996) observaram que *P. gingivalis* foi detectado em 40-50% das crianças nessa faixa etária. Lamell et al. (2000) concluíram em estudo num período de três anos que a colonização de *P. gingivalis* é transitória em crianças de idade precoce. Fernandes et al. (2007) confirmaram que a faixa etária de menor idade apresentou as mais baixas prevalências bacterianas, não havendo interferência quanto ao gênero. Os achados do presente estudo confirmaram que os patógenos mais frequentes nos filhos com até 2,5 anos de idade de mães com periodontite foi *C. rectus*, seguido de *T. denticola* (Figura 5), enquanto que em filhos de mães sem periodontite, prevaleceu *C. rectus* (Figura 6).

Socransky & Haffajee (2005), Ebersole et al. (2008) e Surna et al. (2009) afirmaram ser o patógeno periodontal *C. rectus* o microrganismo que tem se

mostrado mais prevalente em indivíduos com doença periodontal, quando se compara a indivíduos saudáveis. Moore et al. (1991) analisaram amostras microbianas de indivíduos adultos com periodontite e observaram a presença deste patógeno em todas as amostras relacionadas a sítios de progressão de periodontite. No entanto, Ashimoto et al. (1996) e Ooshima et al. (2003) avaliaram a influência do estado clínico periodontal materno sobre a prevalência de patógenos periodontais em crianças. Observaram que *C. rectus* foi a espécie bacteriana mais prevalente no grupo de mães sem periodontite estando, pois, associado a microbiota comum de crianças com saúde periodontal. Fernandes et al. (2009) verificaram a prevalência da bactéria *C. rectus* em indivíduos dentados e desdentados, em diferentes faixas etárias, incluindo recém-nascidos, crianças, adultos, idosos dentados e idosos desdentados. Confirmaram também em seus resultados ser *C. rectus* (94%) o patógeno mais prevalente. Nosso estudo também é confirmatório deste achado, ou seja, a ocorrência de alta prevalência de *C. rectus* numa avaliação geral dos grupos das crianças e de suas mães, tanto com diagnóstico de periodontite ou não.

Guthmiller et al. (2001) relataram que *A. actinomycetemcomitans* tem sido encontrado principalmente em sítios de pacientes com periodontite agressiva, mas pode ser detectado em outras formas de periodontite e também em indivíduos saudáveis. MacClellan et al. (1996) estudando a prevalência de *A. actinomycetemcomitans*, detectaram-no em 25-50% de crianças com zero a três anos de idade. Gaetti-Jardim Jr et al. (2008) relataram a detecção de *A. actinomycetemcomitans* em 4,8% das crianças saudáveis e 6,8% de crianças portadoras de gengivite. Cortelli et al. (2009) elucidaram a ocorrência de *A. actinomycetemcomitans* em indivíduos com periodontite crônica, com média de 33 anos de idade. Ainda confirmaram que a ocorrência de *A. Actinomycetemcomitans*

nos adultos foi inversamente proporcional à idade, estando mais relacionada com o gênero feminino. Querido et al. (2006) estudaram cinco irmãos de uma mesma família com diagnóstico de periodontite e detectaram em todos os indivíduos maior prevalência de *A. actinomycetemcomitans* de máxima leucotoxicidade. Observaram similaridades nas características microbianas e diferenças na expressão e severidade da doença periodontal, sugerindo que outros fatores poderiam estar presentes modificando a manifestação clínica da doença periodontal. Nosso estudo evidenciou, quando avaliado a detecção do *A. actinomycetemcomitans* que o mesmo está presente em crianças e mães, independente das condições clínicas, mas se mostrou estatisticamente mais prevalente em mães portadoras de periodontite, conforme ilustrado na figura 2.

Quando correlacionada a espécie bacteriana à presença ou não de gengivite, um aumento substancial de *T. denticola* foi observado na presença de gengivite nos estudos de Holt & Ebersole (2005). Kulekci et al. (2008) não encontraram *T. forsythia* e *P. intermedia* em crianças saudáveis, relacionando a ocorrência desses dois patógenos à presença de gengivite, contrapondo aos achados de Gafan et al. (2004) onde *T. forsythia* foi observado mais frequentemente em crianças sem gengivite. Gaetti-Jardim Jr et al. (2008) avaliaram ocorrência de *A. actinomycetemcomitans* em crianças com idade entre seis a 12 anos. Mesmo evidenciando a ocorrência de gengivite em 86,7% das crianças, a frequência de isolamento de *A. actinomycetemcomitans* foi baixa em todas as condições clínicas estudadas e não foi estatisticamente associada ao desenvolvimento da gengivite. O nosso estudo não associou os patógenos periodontais à ocorrência ou não de gengivite, pois as crianças incluídas foram de idade muito precoce (até 2,5 anos), não sendo comum a presença de gengivite nessa faixa etária.

Nosso estudo verificou uma associação da ocorrência dos patógenos periodontais entre os pares mães/filhos, ainda que numa idade muito precoce dos filhos. A forma exata dessa possível transmissibilidade não foi o foco deste estudo, pois as nossas ferramentas metodológicas não estavam aptas para inferência de tal monta; todavia, pode-se extrapolar que no estreito contato entre mãe/filho essa transmissão é viável, principalmente pela via salivar. Logo, podemos inferir que os cuidados das mães com métodos de higiene bucal dos seus filhos e também os próprios podem minimizar esta possível transmissão, evitando a colonização precoce de bactérias periodontopatogênicas e, conseqüentemente, diminuindo o risco para a “doença futura”. O delineamento de outros estudos com populações semelhantes, mas com ferramentas metodológicas mais apropriadas, poderá certamente esclarecer se o patógeno comumente encontrado nas cavidades bucais tanto das mães quanto de seus filhos representa de fato uma “transmissão real” e não um achado ao acaso.

7 CONCLUSÃO

Com base nos resultados deste estudo, podemos concluir que houve uma maior frequência dos periodontopatógenos pesquisados entre as mães com periodontite, sendo que estes números nem sempre foram acompanhados por maior ocorrência de bactérias em seus filhos. Constatamos, contudo, que os filhos de mães com periodontite apresentaram maiores frequências do patógeno *C. rectus*, seguido de *T. denticola*, sugerindo novas investigações relacionadas com a colonização bacteriana periodontal na infância.

REFERÊNCIAS¹

1. Grossi SG, Genco RJ. Periodontal Disease and Diabetes Mellitus: a Two-Way Relationship. *Annals of Periodontology* 1998; 3(1):51-61.
2. Brunetti MC. *Periodontia Médica. Uma abordagem integrada*. São Paulo: Senac São Paulo; 2004. 633p.
3. Lindhe J, Karring T, Lang NP. *Tratado de periodontia clínica e implantologia oral*. 5a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2010.
4. Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol* 2005; 43:5721-32.
5. Papaioannou W, Gizani S, Haffajee AD, Quirynen M, Mamai-Homata E, Papagiannoulis L. The microbiota on different oral surfaces in healthy children. *Oral Microbiol Immunol* 2009; 24:183-9.
6. Costa ALM, Paiva E, Ferreira LP. Saúde oral infantil: uma abordagem preventiva. *Rev Port Clin Geral* 2006; 22:337-46.
7. Watanabe K, Frommel TO. Detection of *Porphyromonas gingivalis* in oral plaque samples by use of the polymerase chain reaction. *J Dent Res* 1993; 72:1040–1044.
8. Tanaka S, Minami M, Murakami Y, Ogiwara T, Seto K, Shoji M, et al. The detection of *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in tooth, tongue and buccal mucosa plaques in children, using immunoslot blot assay (IBA). *J Clin Pediatr Dent* 2006; 30(3):251-56.
9. Fernandes CB, Aquino DR, Carvalho Filho J, Cortelli SC, Cortelli JR. Prevalência de micro-organismos periodontais intra e extra sulcular em crianças, adolescentes e adultos jovens. *Cienc Odontol Bras* 2007; 10(3):90-97.
10. Cortelli SC, Cortelli JR, Aquino DR, Holzhausen M, Franco GCN, Costa FO, et al. Clinical status and detection of periodontopathogens and *Streptococcus mutans* in children with high levels of supragingival biofilm. *Braz Oral Res* 2009 ; 23(3):313-8.

¹Referências elaboradas segundo o modelo Vancouver

11. Marsh PD. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Adv Dent Res* 1994; 8:263-271.
12. Gafan GP, Lucas VS, Roberts GJ, Petrie A, Wilson M, Spratt DA. Prevalence of Periodontal Pathogens in Dental Plaque of Children. *J Clin Microbiol* 2004; 42(9):4141-4146.
13. Pähkla ER, Jõgi E, Nurk A, Pisarev H, Koppel T, Naaber P, et al. Periodontal disease in mothers indicates risk in their children. *International Journal of Paediatric Dentistry* 2010; 20:24-30.
14. Asikainen S, Chen C, Alaluusua S, Slots J. Can one acquire periodontal bacteria and periodontitis from a family member? *JADA* 1997; 128(9):1263-71.
15. Rosa OPS, Silva SMB, Costa B, Torres SA, Passanezi E. Periodontopathogens in the saliva and subgingival dental plaque of a group of mothers. *Pesqui Odontol Bras* 2002; 16(4):313-18.
16. Van Winkelhoff AJ, Boutaga K. Transmission of periodontal bacteria and models of infection. *J Clin Periodontol* 2005; 32(Suppl. 6):16-27.
17. Slots J. Primer for antimicrobial periodontal therapy. *J Periodont Res* 2000; (35):108-14.
18. Brennan RM, Genco RJ, Wilding GE, Hovey KM, Trevisan M, Wactawski-Wende J. Bacterial Species in subgingival plaque and oral bone loss in postmenopausal women. *J Periodontol* 2007; 78:1051-1061.
19. Guan SM, Shu L, Fu SM, Liu B, Xu XL, Wu JZ. *Prevotella intermedia* induces matrix metalloproteinase-9 expression in human periodontal ligament cells. *FEMS Microbiol Lett* 2008; 283:47-53.
20. Socransky SS, Haffajee AD. Microbiologia da doença periodontal. In: Lindhe J, Karring T, Lang NP. *Tratado de periodontia clínica e implantologia oral*. 4a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005. p.105-147.
21. Ebersole JL, Holt SC, Hansard R, Novak MJ. Microbiologic and immunologic characteristics of periodontal disease in Hispanic americans with type 2 diabetes. *J Periodontol* 2008; 79:637-646.

22. Surna A, Kubilius R, Sakalauskiene J, Vitkauskiene A, Jonaitis J, Saferis V, et al. Lysozyme and microbiota in relation to gingivitis and periodontitis. *Med Sci Monit* 2009; 15:CR66-73.
23. Miyamoto E, Nakano K, Fujita K, Nomura R, Okawa R, Matsumoto M, et al. Bacterial profiles of oral streptococcal and periodontal bacterial species in saliva specimens from Japanese subjects. *Arch Oral Biol* 2009; 54:374-379.
24. Guthmiller JM, Lally ET, Korostoff J. Beyond the specific plaque hypothesis: are highly leukotoxic strains of *actinobacillus actinomycetemcomitans* a paradigm for periodontal pathogenesis? *Crit Rev Oral Biol Med* 2001; 12(2):116-124.
25. Taichman NS, Dean RT, Sanderson CJ. Biochemical and morphological characterization of the killing of human monocytes by a leukotoxin derived from *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Infect Immun* 1980; 28:258-268.
26. Takahashi N, Kobayashi M, Takaki T, Takano K, Miyata M, Okamatsu Y, et al. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* lipopolysaccharide stimulates collagen phagocytosis by human gingival fibroblasts. *Oral Microbiol Immunol* 2008; 23:259-264.
27. Imbronito AV, Okuda OS, Freitas NM, Lotufo RFM, Nunes FD. Detection of herpesviruses and periodontal pathogens in subgingival plaque of patients with chronic periodontitis, generalized aggressive periodontitis, or gingivitis. *J Periodontol* 2008; 79:2313-2321.
28. Hamlet SM, Ganashan N, Cullinan MP, Westerman B, Palmer JE, Seymour GJ. A 5-year longitudinal study of *Tannerella forsythia* prTH genotype: association with loss of attachment. *J Periodontol* 2008; 79:144-149.
29. Tanner ACR, Izard J. *Tannerella forsythia*, a periodontal pathogen entering the genomic era. *Periodontology* 2000 2006; 42:88-113.
30. Tanner ACR, Kent R Jr, Kanasi E, Lu SC, Paster BJ, Sonis ST, et al. Clinical characteristics and microbiota of progressing slight chronic periodontitis in adults. *J Clin Periodontol* 2007; 34:917-930.
31. Lamont RJ, Chan A, Belton CM, Izutsu KT, Vasel D, Weinberg A. *Porphyromonas gingivalis* Invasion of gingival epithelial cells. *Infect Immun* 1995; 63: 3878-3885.

32. Jandik KA, Bélanger M, Low SL, Dorn BR, Yang MCK, Progulske-Fox A. Invasive differences among *Porphyromonas gingivalis* strains from healthy and diseased periodontal sites. *J Periodont Res* 2008; 43:524-530.
33. Xiangfeng L, Takehisa I, Hiroaki N, Yoshinori I, Yiwen C, Makoto U, et al. An ultrastructural study of *Porphyromonas gingivalis*-induced platelet aggregation. *Thromb Res* 2008; 122:810-819.
34. Castro MVM, Pereira AL, Duarte CA, Cavalcanti AG, Queiroz IKR. Atendimento clínico conjunto entre o periodontista e o médico. Parte I: diabetes e doenças isquêmicas. *Robrac* 2000; 9:55-59.
35. Tanabe SI, Bodet C, Grenier D. *Treponema denticola* peptidoglycan induces the production of inflammatory mediators and matrix metalloproteinase 9 in macrophage-like cells. *J Periodont Res* 2008; 44:503-510.
36. Holt SC, Ebersole JL. *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* and *Tannerella forsythia*: the 'red complex': a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. *Periodontology* 2000 2005; 38:72-122.
37. Tanner A, Boudin HD, Maiden MF. Newly delineated periodontal pathogens with special reference to *Selenomonas* species. *Infection* 1989; 17:182-187.
38. Cortelli JR, Aquino DR, Cortelli SC, Fernandes CB, Carvalho-Filho J, Franco GCN, et al. Etiological Analysis of Initial Colonization of Periodontal Pathogens in Oral Cavity. *Journal of Clinical Microbiology* 2008; 46(4):1322-9.
39. Mayanagi G, Sato T, Shimauchi HN, Takahashi N. Detection frequency of periodontitis-associated bacteria by polymerase chain reaction in subgingival and supragingival plaque of periodontitis and healthy subjects. *Oral Microbiol Immunol* 2004; 19(6):379-85.
40. Kimura S, Ooshima T, Takiguchi M, Sasaki Y, Amano A, Morisaki I, et al. Periodontopathic bacterial infection in childhood. *J Periodontol* 2002; 73:20-6.
41. Ooshima T, Nishiyama N, Hou B, Tamura K, Amano A, Kusumoto A, et al. Occurrence of periodontal bacteria in healthy children: a 2-year longitudinal study. *Community Dent Oral Epidemiol* 2003; 31:417-25.

42. Tamura K, Nakano K, Hayashibara T, Nomura R, Fujita K, Shintani S, et al. Distribution of 10 periodontal bacteria in saliva samples from Japanese children and their mothers. *Archives of Oral Biology* 2006; 51:371-7.
43. Kobayashi N, Ishihara J, Sugihara N, Kusumoto M, Yakushiji M, Okuda K. Colonization pattern of periodontal bacteria in Japanese children and their mothers. *J Periodont Res* 2008; 43(2):156-161.
44. McClellan DL, Griffen AL, Leys EJ. Age and prevalence of *Porphyromonas gingivalis* in children. *J Clin Microbiol* 1996; 34(8):2017-9.
45. Leite ACE, Grisi DC, Guimarães MCM, Martins AV, Freitas FV, Araújo DF. Transmissão de bactérias periodontais. *R. Periodontia* 2008; 18(3):28-33.
46. Lamell CW, Griffen AL, McClellan DL, Leys EJ. Acquisition and colonization stability of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in children. *J Clin Microbiol* 2000; 38:1196-1199.
47. Gaetti-Jardim Jr E, Lins SA, Marcelino SL, Sukekava F, Ramos MMB. Ocorrência de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* no biofilme subgingival de crianças com idade de 6 a 12 anos. *Rev Dental Press Periodontia Implantol* 2008; 2(1):37-46.
48. Hayashi F, Okada M, Soda Y, Miura K, Kozai K. Subgingival distribution of *Campylobacter rectus* and *Tannerella forsythensis* in healthy children with primary dentition. *Archives of Oral Biology* 2006; 51: 10-14.
49. Ashimoto A, Chen C, Bakker I, Slots J. Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. *Oral Microbiol Immunol* 1996; 11:266-73.
50. Moore WEC, Moore LVH, Ranney RR, Smibert RM, Burmeister JA, Schenkein HA. The microflora of periodontal sites showing active destructive progression. *J Clin Periodontol* 1991; 18:729-39.
51. Kulekci G, Leblebicioglu B, Keskina F, Ciftcia S, Badurc S. Salivary detection of periodontopathic bacteria in periodontally healthy children. *Anaerobe* 2008; 14: 49-54.
52. Cortelli JR, Roman-Torres CVG, Aquino DR, Franco GCN, Costa FO, Cortelli SC. Occurrence of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in Brazilians with chronic periodontitis. *Braz Oral Res* 2010; 24(2):217-23.

53. Fernandes CB, Aquino DR, Franco GCN, Cortelli SC, Cortelli JR. Frequência de *Campylobacter rectus* de recém-nascidos a idosos. *Clínica e Pesquisa em Odontologia – UNITAU* 2009; 1(1):2-6.
54. Nakano K, Miyamoto E, Tamura K, Nemoto H, Fujita K, Nomura R, et al. Distribution of 10 periodontal bacterial species in children and adolescents over a 7-year period. *Oral Diseases* 2008; 14:658–664.
55. Tamura K, Nakano K, Nomura R, Miyake S, Nakagawa I, Amano A, et al. Distribution of *Porphyromonas gingivalis* fim A Genotypes in Japanese Children and Adolescents. *Periodontol* 2005; 76:674-679.
56. Könönen E, Jousimies-Somer H, Asikainen S. The most frequently isolated gramnegative anaerobes in saliva and subgingival samples taken from young women. *Oral Microbiol Immunol* 1994; 9(2):126-8.
57. Umeda M, Contreras A, Chen C, Bakker I, Slots J. The utility of whole saliva to detect the oral presence of periodontopathic bacteria. *J Periodontol* 1998; 69(7):828-33.
58. Rotimi VO, Salako NO, Divia M, Asfour L, Kononend E. Prevalence of periodontal bacteria in saliva of Kuwaiti children at different age groups. *Journal of Infection and Public Health* 2010; 3:76-82.
59. Querido SMR, Dotto PP, Aquino DR, Cortelli JR. Aspectos clínicos, radiográficos e microbianos de uma família com expressiva prevalência de doença periodontal. *Revista Odonto Ciência* 2006; 21(52):163-171.
60. López NJ, Smith PC, Gutierrez J. Higher risk of preterm birth and low birth weight in women with periodontal disease. *J Dent Res* 2002; 81:58-63.
61. The American Academy of Periodontology- AAP. Parameter on Periodontitis Associated With Systemic Conditions. *J Periodontol* 2000; 71:876-879.
62. Elter JR, White BA, Gaynes BN, Bader JD. Relationship of clinical depression to periodontal treatment outcome. *J Periodontol* 2002; 73:441-449.
63. Skamagas M, Breen TL, LeRoith D. Update on diabetes mellitus: prevention, treatment, and association with oral diseases. *Oral Dis* 2008; 14:105-114.

64. Wong MY, Lu CL, Liu CM, Hou LT. Microbiological response of localized sites with recurrent periodontitis in maintenance patients treated with tetracycline fibers. *J Periodontol* 1999; 70:861-868.
65. Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J* 1975; 25:229-235.
66. Cortelli JR, Cortelli SC, Jordan S, Haraszthy VI, Zambon JJ. Prevalence of periodontal pathogens in Brazilians with aggressive or chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2005; 32:860-866.

ANEXOS

ANEXO A – Ficha de anamnese

UNIVERSIDADE DE TAUBATÉ

DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA

Nome do paciente _____ Número: _____

Nascimento ___/___/___ Idade _____ Gênero _____

Endereço _____

Cidade _____ Cep _____ Fone: () _____

Profissão _____ Estado Civil _____

R.G.: _____ C.I.C.: _____

Data da coleta ___/___/___

Há quanto tempo foi a sua última consulta médica? _____

Qual o motivo? _____ Médico: _____

No momento está fazendo algum tratamento médico? _____

Está tomando algum medicamento? Sim () Não ()

NOME	DOSAGEM	TEMPO DE USO

Tem sensibilidade a algum anestésico ou alergia a algum medicamento: _____

Pressão arterial: _____ Fuma? _____ Quantidade cigarros/dia: _____ Ex.-

fumante? _____ Tempo que fumou: _____ Há quanto tempo parou? _____

_____ Está grávida? _____ Quantos meses? _____ Toma

anticoncepcional? _____ Está na menopausa? _____ Há quanto tempo? _____ Faz

reposição hormonal? _____ Possui alguma outra alteração

hormonal? _____ Qual? _____ Faz tratamento? _____ Possui ciclo

menstrual regulado? _____ Usa fio dental? Sim () Não ()

Quantas vezes você escova os dentes por dia? _____ Você já passou por um tratamento

periodontal? _____ Há quanto tempo? _____

OBSERVAÇÕES

ANEXO B – Ficha para avaliação da relação mãe-filho

Mãe (nome e telefone)	
Recém-nascido (nome)	
Médico (nome)	
Prontuário médico (número)	
1 Tipo de parto	Natural () cesariana ()
2 Sentiu dor após o parto?	
3 Teve que tomar remédio?	Sim () Não () Qual?
4 Sentiu sono após o parto?	
5 Ficou acamada após o parto?	Sim () Não ()
Por quanto tempo?	____ dias, ____ semanas
Quem cuidou do bebê nesse tempo?	
6 Número e idade dos outros filhos	____ filhos / idades ____, ____, ____, ____, ____, ____, ____, ____
7 Tipo de amamentação	Materna () Mamadeira ()
De quanto em quanto tempo ele mama?	
Quem prepara e dá as mamadeiras?	
O que é colocado na mamadeira?	
Você limpa o peito antes de dar mama?	Sim () Não () O que usa para limpar?
Você limpa a boca do bebê depois da mamada?	Sim () Não () O que usa para limpar?
8 O bebê usa chupeta?	Sim () Não () O que usa para limpar?
9 Quem troca as fraldas do bebê?	
De quanto em quanto tempo é feita essa troca?	
10 Quem dá banho no bebê?	
Em qual horário?	
11 Quem leva o bebê para tomar sol ou passear?	
Em qual horário?	
12 Quem leva o bebê para tomar vacinas?	
13 Você leva o bebê quando sai de casa?	
14 Quais horários seu bebê dorme?	Manhã Tarde Noite
15 Quem faz almoço na sua casa?	
Nessa hora o bebê fica com você?	
16 Quem lava e passa roupa na sua casa?	
Nessa hora o bebê fica com você?	
17 Quem limpa sua casa?	
Nessa hora o bebê fica com você?	
18 Em que períodos do dia seu bebê fica com outras pessoas?	Manhã () ____ horas Tarde () ____ horas Noite () ____ horas
Quem são essas pessoas?	
19 Quem te ajuda com o bebê?	
Quando?	
20 Você beija seu bebê na boca?	

ANEXO D - Carta de Informação aos pacientes

CARTA DE INFORMAÇÃO

Título: Ocorrência de periodontopatógenos em crianças de mães periodontalmente doentes.

Coordenador: Ana Paula Grimião Queiroz.

Descrição:

Estou ciente de que a doença periodontal acontece na gengiva deixando os dentes moles, podendo levar a sua perda. Que causa mau hálito (cheiro ruim na boca) e sangramento ao escovar os dentes, comer ou dormir.

Fui esclarecido de que a placa bacteriana (massa branca e mole) e o tártaro (massa dura) que provocam a doença da gengiva são formados por muitas bactérias. E que uma vez que eu tenho essa doença, meus filhos têm maior chance de tê-la.

Particparei deste estudo permitindo que os examinadores vejam minha boca e colem material necessário para que eles possam saber se existe alguma bactéria que poderá causar problemas na minha gengiva, fazendo com que eu perca meus dentes. Permito também que examinem meu filho e colem material de sua boca para a pesquisa, para saberem se ele também tem as mesmas bactérias, mesmo sendo criança.

Tempo envolvido e benefício:

Estou ciente que nenhum tempo adicional será requisitado além de uma única visita minha e de meu filho e que este estudo não trará malefícios à saúde bucal ou geral minha e de meu filho.

Custo e pagamentos:

Para participar deste estudo eu não terei nenhum custo.

Afirmo de que me foi garantido de que o pesquisador responsável pelo estudo ou os pesquisadores estarão sempre à minha disposição para tirar qualquer dúvida.

Sigilo:

Estou ciente de que qualquer informação a meu respeito obtida na pesquisa será confidencial. Foi para mim explicado que a minha identidade não será revelada em qualquer descrição ou publicação desta pesquisa.

Direito de se retirar da pesquisa:

Estou ciente de que posso me recusar a participar deste estudo a qualquer momento.

ANEXO E - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Consentimento voluntário:

Eu,.....

certifico ter lido (ou que o mesmo tenha sido lido para mim) e que compreendi as informações contidas na “Carta de Informação” referente ao estudo “Ocorrência de periodontopatógenos em crianças de mães periodontalmente doentes?”

Estou esclarecido de que quaisquer dúvidas que eu tenha pertinentes à pesquisa serão respondidas por um dos pesquisadores. Quaisquer perguntas que eu tenha com relação a meus direitos como indivíduo pesquisado serão respondidas. Uma cópia deste documento me será entregue. Minha assinatura abaixo significa que eu concordei em participar nesse estudo.

Assinatura do paciente

Testemunha

Data:...../...../201....

Eu declaro que expliquei ao sujeito acima citado a natureza e finalidade, benefícios potenciais à participação dele neste estudo. Eu respondi a todas as perguntas que me foram feitas e testemunhei as assinaturas acima.

Assinatura do pesquisador

Data:...../...../201....

ANEXO F – Declaração do Comitê de Ética em Pesquisa



PRPPG-Pró-reitoria de Pesquisa e Pós-graduação
Comitê de ética em Pesquisa
Rua Visconde do Rio Branco, 210 Centro Taubaté-SP 12020-040
Tel.: (12) 3625.4143 – 3635.1233 Fax: (12) 3632.2947
cepunitau@unitau.br

OFÍCIO Nº 407/10 - CEP/UNITAU

Taubaté, 12 de novembro de 2010.

Prezado (a) Pesquisador (a)

O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Taubaté analisou o Projeto de Pesquisa de sua autoria: *A ocorrência de bactérias bucais de mães com periodontite associam-se com as de seus filhos?* (Protocolo CEP/UNITAU nº 520/10) (*Esse número de registro deve ser citado pelo pesquisador nas correspondências referentes a este projeto*) e para a aprovação é necessário adequá-lo ao seguinte:

A) Falta orçamento

O prazo para sanar as pendências acima descritas é de 60 (sessenta) dias e expira em **12/01/2011**, mas do rápido atendimento dependerá a emissão do parecer final.

O não atendimento ao referido prazo configurará desistência da parte do pesquisador, da realização do projeto, que será arquivado pelo CEP.

Atenciosamente,

Prof. Robison Baroni

Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Taubaté

Ana Paula Grimião Queiroz
Pesquisador (a) Responsável

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial desta obra por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Ana Paula Grimião Queiroz

Taubaté, julho 2012.