

THAÍS RIBEIRAL VIEIRA

**TERAPIA DE MANUTENÇÃO PERIODONTAL: PERFIL MICROBIOLÓGICO
E EFEITO DO TABAGISMO NA PERDA DENTAL**

**Faculdade de Odontologia
Universidade Federal de Minas Gerais
Belo Horizonte
2017**

Thaís Ribeiral Vieira

**TERAPIA DE MANUTENÇÃO PERIODONTAL: PERFIL MICROBIOLÓGICO
E EFEITO DO TABAGISMO NA PERDA DENTAL**

Tese apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Odontologia.

Área de concentração: Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Fernando Oliveira Costa.

Belo Horizonte
2017

Ficha Catalográfica

V657t Vieira, Thais Ribeiral.
2017 Terapia de manutenção periodontal: perfil microbiológico
T e efeito do tabagismo na perda dental / Thais Ribeiral
Vieira. -- 2017.

142 f. : il.

Orientador: Fernando de Oliveira Costa.

Tese (Doutorado) -- Universidade Federal de Minas Gerais, Faculdade de Odontologia.

1. Doenças Periodontais. 2. Tabagismo. 3. Perda de Dente. 4. Carga Bacteriana. 5. Terapêutica. I. Costa, Fernando de Oliveira. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Odontologia. III. Título.

BLACK - D047

“A educação é a arma mais poderosa que você pode usar para mudar o mundo.”

(Nelson Mandela)

APOIO FINANCEIRO

CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior

CNPq – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

FAPEMIG – Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, Ildfonso e Lourdes, por me ensinarem o valor do estudo e me acompanharem neste sonho com tanto esforço, dedicação, compreensão e amor. Todas as minhas conquistas são reflexos das orações, do apoio e incentivo constantes e do amor incondicional de vocês! Vocês são minha maior inspiração para tentar ser cada vez melhor.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por sempre iluminar o meu caminho, por ser meu refúgio e fortaleza, abençoando e conduzindo meus passos nesta caminhada.

Às minhas amadas avós, Lourdes e Tita, meus exemplos de vida, força e fé. Vovó Lourdes infelizmente não pôde me acompanhar até o fim, mas sei que estará sempre comigo. Vovó Tita, pelo carinho e orações.

Ao meu noivo, Luís Fernando, e Aninha. Obrigada por terem mudado a minha vida, somando amor, alegria e companheirismo. Vocês me transformam e me completam, tornando tudo mais especial. Amo muito vocês!

Ao meu orientador, Prof. Dr. Fernando Oliveira Costa, os meus sinceros agradecimentos. Você é o responsável por eu ter conseguido realizar esse estudo, com seu total apoio, disponibilidade e dedicação. Agradeço, também, por seu exemplo de pesquisador e profissional brilhante. Tenho enorme admiração por você!

Ao Prof. Dr. Luís Otávio de Miranda Cota, agradeço a grande contribuição para a minha formação, com sua constante ajuda e notável competência.

Ao Prof. Dr. José Eustáquio da Costa, exemplo de dedicação à Periodontia, pelos conhecimentos compartilhados durante o estágio docente e pelo privilégio do convívio.

À Prof^a. Dr^a Carolina Castro Martins, por sua contínua orientação na condução da revisão sistemática e pela disponibilidade sempre presente.

À Dr^a Renata Magalhães Cyrino por me estimular com seu entusiasmo e pela enorme ajuda no desenvolvimento da revisão sistemática. Muito obrigada pela amizade construída ao longo desses anos e por sempre me mostrar que a alegria é o sentido da vida!

Ao Prof. Dr. Rodrigo Villamarim Soares e à Dr^a Renata Magalhães Cyrino pelas preciosas sugestões durante minha Qualificação, enriquecendo este trabalho.

Ao Prof. Dr. José Roberto Cortelli e à Prof. Dr^a Sheila Cavalca Cortelli pela enorme contribuição para a realização deste estudo, além de terem sido essenciais na fase laboratorial. Agradeço pelo profissionalismo e competência admiráveis.

Ao Prof. Dr. Peterson Antônio Dutra de Oliveira e à Prof^a Dr^a Alcione Maria Soares Dutra de Oliveira, meus maiores incentivadores, responsáveis pela minha paixão pela Periodontia. Muito obrigada pelo estímulo constante, pelo carinho e amizade.

À Prof^a. Patrícia Soares Ribas, ao Prof. Dr. Eugênio José Pereira Lages e Prof. Dr. Fernando Mauad de Abreu pela agradável convivência que me engrandece como Periodontista e ser humano.

À Prof^a Dr^a Elizabeth Maria Bastos Lages, à Prof^a Dr^a Maria Cássia Ferreira de Aguiar, ao Prof. Dr. Vagner Rodrigues Santos, pela enorme contribuição nos projetos iniciais.

À Ana Cláudia Couto de Abreu por realizar a estatística deste estudo e por ter me atendido de forma tão cordial sempre que precisei recorrer aos seus conhecimentos.

À Lidiane Cristina Machado Costa e Juliana Oliveira da Silveira pelo enorme carinho, apoio e torcida. Vocês são os melhores presentes que ganhei durante o Doutorado! Tenho certeza que nossa amizade será para a vida inteira...

Ao Sérgio Diniz, Sérgio Antonucci e Bárbara Albuquerque por realizarmos juntos nossa primeira revisão sistemática. Obrigada pelos momentos de estudo coletivo e inesquecíveis reuniões.

Ao Dhelfeson Willya Douglas de Oliveira e Frederico Santos Lages, pela parceria produtiva.

Aos outros colegas da pós-graduação em Periodontia: Milena, Rafael, Douglas, Fabiano, Bernardo, Patrícia, Andréa, Marcela, Alex, Leonardo, Andres e Glaysson, pela convivência e troca de experiências que já deixa saudade.

Ao Programa de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da UFMG, pela oportunidade e apoio durante a realização deste estudo.

À CAPES, FAPEMIG e CNPq pelo apoio financeiro a este estudo.

À Laís, Luciene e Letícia pela paciência e generosidade que sempre demonstraram comigo.

A todos os pacientes que participaram deste estudo, essenciais para o desenvolvimento dessa pesquisa.

À minha família maravilhosa, Ribeiral e Vieira, pelo carinho e orações. Às minhas tias, que são as melhores do mundo e que estão sempre presentes, me apoiando em tudo! Agradeço especialmente à minha prima, Tatiana Braz Ribeiral, Doutora em Ciências Políticas, por ser minha maior fonte de inspiração, por me estimular constantemente e me incentivar a vencer as dificuldades. Vocês foram fundamentais para eu chegar até aqui.

Às minhas amigas-irmãs, pela compreensão da minha ausência e pela enorme torcida. A amizade de vocês deixa a minha vida muito mais divertida e feliz!

A todos que se fizeram presentes, em algum momento, nesta caminhada. Muito obrigada por acreditarem em mim e me ajudarem a concretizar este sonho!

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

RESUMO

ABSTRACT

1	CONSIDERAÇÕES INICIAIS	17
2	OBJETIVOS	20
2.1	Objetivos gerais	20
2.2	Objetivos específicos	20
3	HIPÓTESES	21
4	METODOLOGIA	22
	Artigo 1	23
	Efeito do tabagismo na perda dental em indivíduos em terapia de manutenção periodontal: revisão sistemática e meta-análise	
	Artigo 2:	54
	Efeito da cooperação durante a terapia de manutenção periodontal nos níveis de bactérias associadas com periodontite: um estudo prospectivo de 6 anos	
5	CONSIDERAÇÕES FINAIS	77
6	REFERÊNCIAS GERAIS	78
	ANEXOS	87
	Anexo 1:	87
	Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais	

Anexo 2: 88
Effects of smoking on tooth loss among individuals under periodontal maintenance therapy: a systematic review and metanalysis

Anexo 3: 121
Effect of compliance during periodontal maintenance therapy on levels of bacteria associated with periodontitis: a 6-year prospective study

LISTA DE ABREVIATURAS

<i>A. naeslundii</i>	<i>Actinomyces naeslundii</i>
CI	Cooperadores Irregulares
COEP	Comitê de Ética em Pesquisa
CR	Cooperadores Regulares
DP	Doença Periodontal
IP	Índice de Placa
NCI	Nível Clínico de Inserção
PD	Perda dental
<i>P. gingivalis</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
PS	Profundidade de Sondagem
SS	Sangramento à Sondagem
SU	Supuração
<i>T. dentícola</i>	<i>Treponema dentícola</i>
<i>T. forsythia</i>	<i>Tannerella forsythia</i>
TMP	Terapia de Manutenção Periodontal
TPA	Terapia Periodontal Ativa

LISTA DE FIGURAS

Artigo 1: Efeito do tabagismo na perda dental em indivíduos em terapia de manutenção periodontal: revisão sistemática e meta-análise

Figura 1 Fluxograma da seleção de artigos 40

Figura 2 Meta-análise 41

Artigo 2: Efeito da cooperação durante a terapia de manutenção periodontal nos níveis de bactérias associadas com periodontite: um estudo prospectivo de 6 anos

Figura 1 Fluxograma da estratégia e seleção amostral 71

Figura 2 Evolução dos parâmetros microbiológicos (2A) e clínicos (2B) durante 6 anos de TMP (grupos CR e CI) 74

LISTA DE TABELAS

Artigo 1: Efeito do tabagismo na perda dental em indivíduos em terapia de manutenção periodontal: revisão sistemática e meta-análise

Tabela 1 Características dos estudos <i>coorte</i> incluídos	42
Tabela 2 Características dos estudos caso-controle incluídos	44
Tabela 3 Avaliação da qualidade metodológica dos estudos <i>coorte</i> através da Escala de Newcastle-Ottawa	47
Tabela 4 Avaliação da qualidade metodológica dos estudos de caso-controle através da Escala de Newcastle-Ottawa	48
Tabela 5 Qualidade da evidência avaliada pelo GRADE	49

Artigo 2: Efeito da cooperação durante a terapia de manutenção periodontal nos níveis de bactérias associadas com periodontite: um estudo prospectivo de 6 anos

Tabela 1 Análise comparativa entre os grupos e tempos de avaliação em relação aos parâmetros clínicos periodontais	72
Tabela 2 Análise comparativa inter e intra-grupos CR e CI em relação aos dados microbiológicos ($\times 10^3$)	73
Tabela 3 Análise de correlação entre os dados clínicos e microbiológicos considerando os grupos do estudo	76

RESUMO

TERAPIA DE MANUTENÇÃO PERIODONTAL: PERFIL MICROBIOLÓGICO E EFEITO DO TABAGISMO NA PERDA DENTAL

Esta Tese reporta dois estudos distintos relacionados à terapia de manutenção periodontal (TMP): achados microbiológicos longitudinais de 6 anos relacionados à cooperação dos indivíduos e efeito do tabagismo na perda dental. A justificativa para estes estudos é baseada em dois aspectos pontuais: (1) Embora a associação do tabagismo como fator de risco para a periodontite e pior resposta à TMP tenha sido demonstrada em muitos estudos, o efeito isolado deste sobre a perda dental em indivíduos submetidos a TMP ainda não foi reportado em revisões sistemáticas; (2) Poucos estudos têm sido conduzidos avaliando mudanças longitudinais na microbiota subgengival de indivíduos em TMP e, até o momento, nenhum estudo relacionou níveis de bactérias associadas à periodontite com o grau de cooperação dos indivíduos em TMP.

Neste sentido, os objetivos deste estudo são apresentados em dois artigos científicos: (1) realizar uma revisão sistemática e meta-análise do efeito do tabagismo na perda dental em indivíduos em TMP, com a seguinte questão focal: “Qual é o efeito do tabagismo na perda dental em indivíduos em terapia de manutenção periodontal?”; (2) avaliar longitudinalmente, durante 6 anos, o efeito da cooperação em TMP na frequência das bactérias *Actinomyces naeslundii*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tanarella forsythia* e *Treponema denticola*.

Na revisão sistemática as bases de dados MEDLINE, WEB OF SCIENCE, COCHRANE LIBRARY e SCOPUS foram pesquisadas, incluindo artigos até fevereiro de 2017. A estratégia de busca identificou 728 referências. Após a remoção das duplicatas, restaram 591 para a seleção baseada nos títulos e resumos, e desses, foram selecionados 36 para leitura completa do texto. Após a leitura, foram incluídos 10 artigos para revisão sistemática e 3 artigos para meta-análise. A qualidade da evidência científica foi moderada para indivíduos tabagistas em TMP apresentarem maior chance de perda dental que indivíduos não tabagistas.

A metodologia do estudo microbiológico englobou um total de 56 indivíduos, todos recrutados de um coorte prospectivo com 212 participantes de um programa

de TMP. Estes indivíduos foram acompanhados durante 6 anos, em 5 tempos de avaliações: T1 (anterior à terapia periodontal ativa), T2 (após a terapia periodontal ativa), T3 (última visita à TMP em 2 anos), T4 (última visita à TMP em 4 anos) e T5 (última visita à TMP em 6 anos). Assim, 28 indivíduos cooperadores regulares (CR) foram randomizados e pareados, pelo gênero e idade, a 28 indivíduos cooperadores irregulares (CI). Durante a TMP, os exames periodontais avaliaram os parâmetros clínicos: índice de placa (IP), profundidade de sondagem (PS), nível clínico de inserção (NCI) e sangramento à sondagem (SS). A quantificação de bactérias em carga total e dos níveis de *A. naeslundii*, *P. gingivalis*, *T. forsythia* e *T. dentícola* foi executada pela reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR). Este estudo concluiu que CI apresentaram piores parâmetros clínicos periodontais e maiores níveis de carga bacteriana total que CR, refletindo o papel benéfico da cooperação na TMP em manter a estabilidade da condição periodontal.

Palavras-chave: Terapia de manutenção periodontal; cooperação; patógenos bacterianos; tabagismo; perda dental.

ABSTRACT

PERIODONTAL MAINTENANCE THERAPY: MICROBIAL PROFILE AND EFFECTS OF SMOKING ON TOOTH LOSS

This Thesis reports two distinct issues related to periodontal maintenance therapy (PMT): microbiological findings of 6 years related to compliance of individuals and effect of smoking on tooth loss. The rationale for these studies is based on two specific aspects: (1) Although the association of smoking as a risk factor for periodontitis and worse response to PMT has been demonstrated in many studies, the isolated effect of smoking on tooth loss in patients undergoing PMT has not been reported in systematic reviews; (2) Few studies have been conducted on longitudinal changes in the subgingival microbiota of individuals in PMT and to date, no study related levels of bacteria to the degree of cooperation of individuals in PMT.

In this sense, the aim of this PMT study is developed in two articles: (1) conduct a systematic review and meta- analysis of the effect of smoking on tooth loss in individuals in PMT with the following *PICO question* " *What is the effect of smoking on tooth loss in patients in periodontal maintenance therapy ?* " (P - individuals in TMP ; I - smokers ; C – non-smokers ; O - tooth loss); (2) longitudinally evaluate, for 6 years, the effect of cooperation in PMT in the frequency of bacteria *Actinomyces naeslundii*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tanerella forsythia* and *Treponema denticola*.

In the systematic review the databases MEDLINE, WEB OF SCIENCE, COCHRANE LIBRARY and SCOPUS were searched until February 2017. The search strategy identified 728 articles. After removing duplicates, remaining 591 articles for reading the titles and abstracts and these were selected 36 articles to read the full text. After thorough reading of these articles, we selected 10 articles to include in this systematic review and 3 for meta-analysis. The scientific evidence and meta- analysis showed that PMT smokers had a greater chance of dental loss than non-smokers.

The methodology of microbiological study included a total of 56 subjects, all recruited from a prospective cohort of 212 participants in a PMT program were included in the study and followed for 6 years, 5 times of ratings: T1 (before the active periodontal therapy), T2 (after active periodontal therapy), T3 (last visit to PMT in 24 months), T4 (last visit to PMT in 48 months) and T5 (last visit to PMT in 72

months). 28 regular cooperators individuals (RC) were randomized and matched by gender and age to 28 individuals irregular cooperators (IC). During the PMT, the following clinical periodontal examinations were performed: plaque index (PI), probing depth (PD), clinical attachment level (CAL) and bleeding on probing (BOP). Quantitation of bacteria at full load and levels of *A. naeslundii*, *P. gingivalis*, *T. forsythia* and *T. dentícola* was performed by quantitative polymerase chain reaction (qPCR). This study concluded that IC had worse periodontal clinical parameters and higher total bacterial load levels than RC reflecting the beneficial role of cooperation in the PMT in maintaining the stability of the periodontal condition.

Key words: Maintenance periodontal therapy; compliance; bacterial pathogens; smoking/adverse effects; tooth loss.

1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS

As doenças periodontais compreendem um grupo de condições inflamatórias infecciosas dos tecidos de proteção e suporte dos dentes causadas por bactérias presentes no microbioma supra e subgengival. Quadros de gengivite quando não tratadas em indivíduos susceptíveis podem levar a periodontite, com um efeito deletério nos tecidos de suporte, podendo, eventualmente, levar à perda dos dentes (Charalampakis *et al.*, 2013). Assim é sabido que a periodontite é uma infecção polimicrobiana complexa, anaeróbia, sítio-específica (Socransky *et al.*, 1998; Dahlen, 2006; Charalampakis *et al.*, 2013). A escolha seletiva de bactérias levou a uma utilização ampla de expressões na literatura como “periodontopatógenos” e diferentes “complexos bacterianos” (Socransky *et al.*, 1998). Diversas espécies de bactérias estão associadas a periodontite, e os números e as proporções destas bactérias podem variar em diferentes indivíduos e em diferentes sítios. Além disso, elas precisam crescer num ambiente ecológico específico para produzir efeitos deletérios, portanto, apenas sua presença não implica, necessariamente, em risco de doença (Charalampakis *et al.*, 2013).

A busca pelos agentes etiológicos das doenças periodontais iniciou na época de ouro da bacteriologia médica, quando os agentes de diversas infecções foram identificados. Até o início dos anos 70, terapias baseadas na hipótese da placa não-específica focavam a redução da quantidade de placa. Posteriormente, a hipótese da placa específica determinou o papel de alguns microorganismos como *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia* e *Fusobacterium nucleatum* e outras nas diferentes formas de doença periodontal. Assim, foi sugerido que estes patógenos periodontais não atuam isoladamente e interações entre espécies, como o equilíbrio entre bactérias patogênicas e benéficas afetam a progressão da doença e a resposta tecidual à terapia periodontal (Feres *et al.*, 2004).

Estudos que examinaram as mudanças na microbiota subgengival pós-terapia demonstraram uma diminuição nos níveis, proporções ou prevalência de patógenos periodontais que acompanhou as melhoras clínicas (van Winkelhoff *et al.*, 1992; Pavicic *et al.*, 1994; Haffajee *et al.*, 1995; Berglundh *et al.*, 1998; Winkel *et al.*, 1999; Teles *et al.*, 2006; Xajigeorgiou *et al.*, 2006; Oteo *et al.*, 2010; Aimetti *et al.*, 2011;

Sampaio *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2011). Entretanto, poucos estudos têm sido conduzidos avaliando as mudanças longitudinais na microbiota subgengival de indivíduos em terapia de manutenção periodontal (TMP) (Colombo *et al.*, 2005; Agerbaek *et al.* 2006; Teles *et al.* 2008; Charalampakis *et al.* 2013; Cosyn *et al.* 2013). Adicionalmente, até o momento, nenhum estudo longitudinal correlacionou níveis de periodontopatógenos ao grau de cooperação dos indivíduos em TMP.

Estudos têm demonstrado que a doença periodontal (DP) pode ser tratada com sucesso pela terapia não cirúrgica e cirúrgica (Claffey *et al.*, 2000; Harrel *et al.*, 2001). Entretanto, sem um programa regular de TMP, incluindo reavaliações clínicas periódicas, adequado controle do biofilme e reforços na higiene oral, os benefícios da terapia periodontal ativa (TPA) não podem ser mantidos (Tonetti *et al.*, 2000; Fardal *et al.*, 2004; Allen *et al.*, 2008; Lorentz *et al.*, 2009; Costa *et al.*, 2012; Costa *et al.*, 2014). Sendo assim, a TMP pode ser considerada um fator crítico para o sucesso no controle da doença periodontal e na manutenção dos dentes em longo prazo (Lee *et al.*, 2015). Além disso, a negligência de um programa regular de TMP tem sido associada com maior risco de reinfecção e progressão de periodontite (Costa *et al.*, 2012).

De acordo com a Academia Americana de Periodontologia (AAP, 2000) a TMP é uma extensão da terapia periodontal ativa (TPA) e, portanto, deve iniciar logo após sua finalização e continuar em intervalos regulares, durante todo o período em que os dentes permanecerem na boca. A TMP objetiva: "minimizar a recidiva e progressão da doença periodontal em indivíduos que foram tratados previamente, tanto para a gengivite quanto para periodontite, reduzir a incidência de perda dentais por meio do acompanhamento e monitoração da dentição, e aumentar a probabilidade de periodicamente identificar e tratar outras doenças e condições encontradas na cavidade oral".

Um clássico problema encontrado durante a TMP é a colaboração do paciente. Muitos estudos têm relatado baixas taxas de cooperação regular e adesão à TMP (Axelsson *et al.*, 2004; Renvert *et al.*, 2004; Costa *et al.*, 2012). Adicionalmente, os cooperadores regulares (CR) apresentam menor progressão de periodontite e perda dental (PD), comparados aos cooperadores irregulares (CI) (Costa *et al.*, 2014; Lee *et al.*, 2015).

A PD é considerada o desfecho final da doença periodontal e de outros problemas dentais (Wood *et al.*, 1989). A mortalidade dental tem sido associada a sérios impactos negativos sobre a qualidade de vida dos indivíduos periodontalmente susceptíveis (Santuchi *et al.*, 2016). Assim, programas de manutenção periodontal devem fazer esforços para estabilizar os tecidos periodontais e minimizar, como objetivo prioritário, a ocorrência de perda dental adicional ao longo do tempo (Chambrone & Chambrone, 2006; Lee *et al.*, 2015).

Embora a associação do tabagismo como fator de risco para a periodontite e pior resposta à TMP tenha sido demonstrada em muitos estudos prévios (Meinberg *et al.*, 2001; Papantonopoulos, 2004; Labriola *et al.*, 2005; Heasman *et al.*, 2006) e a perda dental tenha sido extensamente reportada (Hirschfeld & Wasserman, 1978; Wood *et al.*, 1989; Checchi *et al.*, 2002; König *et al.*, 2002; Axelsson *et al.*, 2004; Fardal *et al.*, 2004; Chambrone & Chambrone, 2006; Leung *et al.*, 2006; Carnevale *et al.*, 2007; Matuliene *et al.*, 2008; Chambrone *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2015), o efeito isolado do tabagismo, agindo como fator de confundimento sobre as perdas dentais em indivíduos submetidos à TMP, ainda não foi reportado em revisões sistemáticas.

Neste sentido, o objetivo deste estudo em TMP aborda duas diferentes vertentes por meio de dois artigos científicos: (1) realizar uma revisão sistemática e meta-análise do efeito do tabagismo na perda dental em indivíduos em TMP; (2) avaliar longitudinalmente, durante 6 anos, o efeito da cooperação dos indivíduos em TMP na frequência das bactérias *Actinomyces naeslundii*, *P. gingivalis*, *T. forsythia* e *T. dentícola*.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivos gerais

2.1.1. Realizar uma revisão sistemática e meta-análise do efeito do tabagismo na perda dental em indivíduos em TMP.

2.1.2. Avaliar longitudinalmente, durante 6 anos, o efeito da cooperação dos indivíduos em TMP na frequência das bactérias *Actinomyces naeslundii*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tanerella forsythia* e *Treponema dentícola*.

2.2 Objetivos específicos

2.2.1. Determinar, em estudos observacionais, o efeito do tabagismo na perda dental em indivíduos em TMP por meio de uma revisão sistemática e meta-análise com a seguinte pergunta clínica (PECO): “Qual é o efeito do tabagismo na perda dental em indivíduos em terapia de manutenção periodontal?” (Artigo 1).

2.2.2. Realizar uma análise comparativa entre os cooperadores regulares (CR) e irregulares (CI) em TMP quanto aos parâmetros clínicos periodontais. (Artigo 2)

2.2.3. Realizar uma análise comparativa entre os indivíduos CR e CI em TMP quanto aos dados microbiológicos. (Artigo 2)

2.2.4. Correlacionar os dados microbiológicos e parâmetros clínicos periodontais em indivíduos CR e CI em TMP. (Artigo 2)

3 HIPÓTESES

3.1 Indivíduos tabagistas em TMP apresentam maior perda dental que os não tabagistas.

3.2 Indivíduos CR apresentam longitudinalmente melhor condição clínica periodontal e menor perda dental que CI.

3.3 Indivíduos CI em TMP apresentam maiores níveis de periodontopatógenos.

4 METODOLOGIA

A metodologia e os resultados desta pesquisa serão apresentados por meio de dois artigos científicos, intitulados:

Artigo 1:

Efeito do tabagismo na perda dental em indivíduos em terapia de manutenção periodontal: revisão sistemática e meta-análise

Artigo 2:

Efeito da cooperação durante a terapia de manutenção periodontal nos níveis de bactérias associadas com periodontite: um estudo prospectivo de 6 anos

Artigo 1:**Efeito do tabagismo na perda dental em indivíduos em terapia de manutenção periodontal: revisão sistemática e meta-análise****RESUMO**

Objetivo: Essa revisão sistemática objetiva avaliar o efeito isolado do tabagismo sobre a perda dental (PD) em pacientes sob terapia de manutenção periodontal (TMP).

Metodologia: Foi realizada uma busca eletrônica, manual e na literatura cinzenta até fevereiro de 2017 sem restrição quanto ao idioma e data de publicação. Foram incluídos estudos clínicos epidemiológicos que relataram dados de PD em pacientes fumantes sob TMP comparados a um grupo controle de não fumantes em TMP. A qualidade metodológica foi avaliada usando a escala de Newcastle-Ottawa. Foi realizada a meta-análise, bem como testes de heterogeneidade I^2 e de sensibilidade. A qualidade da evidência foi avaliada usando o GRADE (*Grading of Recommendations, Assessment, Development and Evaluation*).

Resultados: Dez artigos foram incluídos na revisão sistemática: quatro caso-controle e seis coortes. Nove dos dez estudos dessa revisão sistemática concluíram que o tabagismo foi um importante fator de risco para a ocorrência da PD. A meta-análise de três estudos coortes mostrou que pacientes fumantes apresentaram 4,73 maior chance de ocorrência de PD que pacientes não fumantes em TMP (95% IC: 2,63-8,50). No geral, os estudos apresentaram baixo risco de viés.

Conclusão: A qualidade da evidência científica suporta moderadamente que indivíduos tabagistas em TMP apresentam maior chance de perda dental que indivíduos não tabagistas.

Palavras-chave: Terapia de manutenção periodontal; perda dental; fator de risco; tabagismo; revisão sistemática.

Relevância clínica

Razão para o estudo: A perda dental tem sido relatada em estudos longitudinais, entretanto, o efeito isolado do tabagismo na PD entre indivíduos sob TMP ainda não foi avaliado, sem outras variáveis de confusão.

Principais conclusões: Existe uma evidência científica moderada de que o tabagismo está associado à ocorrência da perda dental em pacientes em TMP.

Implicações clínicas: Independente da presença de diferentes fatores de risco para PD em TMP, o efeito isolado do tabagismo deve ser um fator para classificar indivíduos em alto risco em TMP e determinar curtos intervalos de chamada para os mesmos.

INTRODUÇÃO

A terapia de manutenção periodontal (TMP) é considerada um fator crítico para o sucesso no controle da doença periodontal e na manutenção dos dentes em longo prazo (Lee *et al.*, 2015). Além disso, a negligência em um programa regular de TMP tem sido associada com maior risco de reinfecção e progressão de periodontite, bem como maior perda dental (PD) (Costa *et al.*, 2012). Durante a reavaliação clínica periodontal em TMP, é importante analisar as variáveis de risco biológicas, comportamentais e sociais associadas à doença periodontal, principalmente o tabagismo, escores de biofilme e diabetes mellitus (Page & Kornman, 1997; Fisher *et al.*, 2008; Schätzle *et al.*, 2009). Adicionalmente, muitos fatores afetam os resultados clínicos durante a TMP: o grau de cooperação e adesão, a prática de higiene bucal, diferentes doenças sistêmicas que comprometem a resposta imunológica, prognóstico inicial e localização do dente, bolsas residuais e sangramento à sondagem (SS). Estes fatores têm sido citados como críticos para a estabilidade da condição periodontal (Wood, 1989; Chambrone *et al.*, 2010).

A identificação de variáveis de risco para PD, em programas de TMP, pode ajudar aos clínicos e periodontistas estabelecer a frequência das visitas de retorno e melhorar a adesão aos programas de manutenção com uma maior cooperação dos indivíduos (Costa *et al.*, 2014). Vários estudos têm demonstrado a eficácia da terapia periodontal e da importância da cooperação dos indivíduos na redução da taxa de PD durante a TMP (Chace & Low, 1993; Tonetti *et al.*, 2000; Al-Shammari *et al.*, 2005; Lorentz *et al.*, 2010). Um importante fator de risco para a periodontite é o

tabagismo. Diversos estudos têm mostrado que o hábito de fumar está fortemente associado à susceptibilidade, maior gravidade e progressão das periodontites, bem como uma maior PD (Meinberg *et al.*, 2001; Papantonopoulos, 2004; Labriola *et al.*, 2005; Heasman *et al.*, 2006).

Embora a PD tenha sido relatada por muitos estudos (Hirschfeld & Wasserman, 1978; Wood *et al.*, 1989; Checchi *et al.*, 2002; König *et al.*, 2002; Axelsson *et al.*, 2004; Fardal *et al.*, 2004; Chambrone & Chambrone, 2006; Leung *et al.*, 2006; Carnevale *et al.*, 2007; Matuliene *et al.*, 2008; Chambrone *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2015), o efeito do tabagismo sobre a PD em indivíduos submetidos a TMP ainda não foi avaliado isoladamente, sem outros fatores de risco envolvidos concomitantemente, através de uma revisão sistemática e meta-análise. Portanto, o objetivo deste estudo é avaliar a evidência científica do efeito do tabagismo sobre a PD em pacientes sob TMP.

METODOLOGIA

Protocolo e registro

Essa revisão sistemática está registrada no PROSPERO sob o número CRD42016026083, e foi conduzida de acordo com as diretrizes de transparência dos relatórios de revisões sistemáticas e meta-análises PRISMA statement (Moher *et al.*, 2009).

Critérios de elegibilidade

A pergunta clínica (PECO) foi: “Qual é o efeito do tabagismo na perda dental em indivíduos em terapia de manutenção periodontal?” (P – indivíduos em TMP; E – tabagistas; C – não tabagistas; O – perda dental).

Foram incluídos estudos clínicos epidemiológicos, observacionais e ensaios clínicos, com dados de perda dental em indivíduos tabagistas e não tabagistas em terapia de manutenção periodontal. Não houve restrição em relação a idade e tempo de acompanhamento.

Foram excluídos artigos com ausência de indivíduos não tabagistas; relatos de caso ou série de casos; cartas ao editor e revisões de literatura.

Bases consultadas e estratégia de busca

As bases de dados incluídas foram: Medline através do Pubmed (<http://www.pubmed.gov>), Web of Science (<http://www.isiknowledge.com>), Cochrane Library (<http://www.cochrane.org/index.htm>) e SCOPUS (<https://www.scopus.com>). Nenhuma restrição foi imposta em relação a língua ou ano de publicação. Termos Mesh e não Mesh foram usados para a busca combinados usando os operadores booleanos (OR, AND). A seguinte estratégia de busca foi usada na pesquisa eletrônica no Medline, Web of Science, Cochrane and SCOPUS:

((periodontal disease [Mesh] OR periodontal disease OR periodontitis [Mesh] OR periodontitis OR maintenance periodontal therapy OR periodontal maintenance OR supportive periodontal therapy OR maintenance care OR long-term care [Mesh] OR long-term maintenance) AND (Smoke [Mesh] OR Smoke OR Smoker* OR Tobbaco OR Tobbaco Smoker*) AND (tooth loss [Mesh] OR tooth loss OR tooth mortality OR dental mortality)).

Foi realizada busca manual e na literatura cinzenta através das bases de dados IRSTC Registry (<https://www.isrctn.com/>) e Clinical trials (<https://clinicaltrials.gov/>) e ainda busca manual nas listas de referências dos artigos incluídos.

A lista de referências dos estudos buscados pelas bases eletrônicas foi organizada usando o Software EndNote® (versão 17.0).

Seleção dos estudos

A seleção dos títulos e resumos foi realizada de maneira independente por três pesquisadores treinados e calibrados (AMOA, RMC e TRV). Foi realizada uma leitura inicial de 10% da amostra de resumos e títulos e o teste concordância Kappa foi 0,84. Assim, os três pesquisadores prosseguiram com a leitura dos textos restantes. As discordâncias foram resolvidas por discussão e consenso. Esta análise foi realizada de forma independente pelos três pesquisadores e as discordâncias foram também resolvidas por consenso (Figura 1). Quando da necessidade de obtenção de informações adicionais ou dados faltantes, os autores correspondentes foram contactados.

Extração de dados

A extração de dados seguiu um formulário em que foram extraídas as seguintes informações: desenho do estudo, tamanho da amostra, tempo e forma de condução da TMP, condição e frequência do tabagismo e número de dentes perdidos durante a TMP (Tabelas 1 e 2 para estudos coorte e estudos caso-controle, respectivamente).

A qualidade metodológica dos estudos incluídos foi avaliada por dois revisores independentes (AMOA e TRV). Estudos de caso-controle foram avaliados pela Escala de Newcastle-Ottawa (NOS) para estudos de caso-controle. Os estudos de coorte foram avaliados usando a versão para estudos coorte da escala de NOS. Os critérios foram compostos por três itens principais: seleção de amostra, comparabilidade e exposição (Tabelas 3 e 4).

Seleção: foram considerados *casos* se os dados de tabagismo durante a TMP estavam presentes no estudo e *controles* para dados de não fumantes. Em estudos *coorte* foram considerados expostos se continham dados de indivíduos em TMP relacionados ao tabagismo .

Comparabilidade: se o tabagismo foi ajustado para um fator de confusão, como diabetes, ou se para dois ou mais fatores, por exemplo idade, gênero, dentre outras variáveis de risco. Neste quesito, pode-se atribuir um máximo de dois pontos (um para cada confundidor).

Resultado de interesse ou de exposição: Se os dentes perdidos foram examinados clinicamente ou por meio de dados existentes, com utilização de exame clínico ou radiográfico.

A escala NOS varia de 0 (menor qualidade metodológica) a 9 (maior qualidade metodológica) para estudos caso-controle e de 0 a 10 para estudos coorte.

Meta-análise

Foi usado programa Comprehensive Meta-Analysis Software® (versão 2) para meta-análise. Foram extraídas odds ratio (OR) e intervalo de confiança (IC) de 95% como relatado nos estudos para chance de PD em indivíduos fumantes e não fumantes. Foram realizados teste de heterogeneidade I^2 e teste de sensibilidade

(Deeks *et al.*, 2015). Para heterogeneidade considerada de média a moderada foi usado o efeito randômico ($\geq 25\%$) e o efeito fixo para heterogeneidade baixa ($<25\%$). Não foi realizado *funnel plot*, devido à ausência de números suficientes para serem incluídos no gráfico (Egger *et al.*, 1997). Ao invés disso, o viés de publicação foi analisado qualitativamente.

Qualidade da evidência

Dois revisores (CCM e FOC) avaliaram a qualidade da evidência usando o GRADE (*Grading of Recommendations, Assessment, Development and Evaluation*) (Guyatt *et al.*, 2008). As divergências foram resolvidas por discussão e consenso. O GRADE avalia a qualidade da evidência em alta, moderada, baixa e muito baixa. A qualidade da evidência foi apresentada através da tabela de evidência usando o software GRADE PRO[®] (www.grade.pro) (Tabela 5).

RESULTADOS

Seleção de estudos

Inicialmente foram encontradas 728 referências. Após a remoção de 137 duplicatas, restaram 591 artigos para seleção baseada nos resumos e títulos. Após esta fase, 36 estudos foram selecionados para análise do texto completo (Apêndice 1). Dez artigos foram incluídos nessa revisão sistemática (Figura 1), sendo seis estudos coortes (Konig *et al.*, 2002; Chambrone & Chambrone, 2006; Leung *et al.*, 2006; Fisher *et al.*, 2008; Ravald & Joahansson, 2012; Costa *et al.*, 2014) e quatro caso-controle (Costa *et al.*, 2011; Costa *et al.*, 2012^a; Costa *et al.*, 2012^b; Costa *et al.*, 2013). Não foram encontrados ensaios clínicos controlados na seleção final.

Avaliação da qualidade

Os resultados da avaliação de qualidade estão resumidos nas Tabelas 3 e 4 para estudos de caso-controle e coorte, respectivamente. Os estudos foram avaliados pela Escala de Newcastle-Ottawa, com scores variando de 7 a 9 nos estudos coorte e de 7 a 8 nos estudos de caso-controle. Entre os estudos *coorte*, um não especificou a taxa de perda de sua amostra (Konig *et al.*, 2002) e em quatro estudos, o tabagismo foi ajustado para apenas um fator de confusão (Konig *et al.*, 2002; Leung *et al.*, 2006; Chambrone & Chambrone, 2006 e Ravald & Johansson, 2012). Entre os estudos caso-controle, as falhas metodológicas foram não

especificação da taxa de perdas das amostras (Costa *et al.*, 2012^b e Costa *et al.*, 2013) e ajuste apenas para um fator de confusão (Costa *et al.*, 2011; Costa *et al.*, 2012^a; Costa *et al.*, 2012^b e Costa *et al.*, 2013).

Descrição dos estudos

O tempo de acompanhamento dos indivíduos na TMP variou de um ano (Costa *et al.*, 2012^b) a 36 anos (Chambrone & Chambrone, 2006).

A amostra dos estudos incluiu o mínimo de 64 (Ravald & Joahansson, 2012) e o máximo de 288 indivíduos (Costa *et al.*, 2012^b). Destes, três são estudos de caso-controle aninhados de um estudo coorte incluindo 238 indivíduos (Costa *et al.*, 2011; Costa *et al.*, 2012^a e Costa *et al.*, 2013). Os estudos de Costa *et al.* (2011) e Costa *et al.* (2012^a) avaliaram o número de dentes perdidos e percentual de PD comparando indivíduos cooperadores regulares (CR) e cooperadores irregulares (CI). O estudo de Costa *et al.*, (2013) avaliou o número e o percentual de dentes perdidos em indivíduos com diabetes e bom controle glicêmico, comparando com indivíduos com diabetes e baixo controle glicêmico e com indivíduos sem diabetes.

Os dez estudos selecionados recrutaram e trataram pacientes em diferentes clínicas. Pacientes de cinco estudos foram tratados em clínicas privadas (Chambrone & Chambrone, 2006; Costa *et al.*, 2011; Costa *et al.*, 2012^a; Costa *et al.*, 2013; Costa *et al.*, 2014) e pacientes de quatro estudos foram tratados em Clínicas Universitárias (Konig *et al.*, 2002; Leung *et al.*, 2006; Fisher *et al.*, 2008; Ravald & Johansson, 2012). Um estudo apresentou amostra mista, com pacientes de Clínica Universitária e de clínica privada (Costa *et al.*, 2012^b).

As consultas para a reavaliação durante a TMP foram realizadas com diferentes intervalos de tempos levando em consideração o grau de cooperação dos indivíduos, isto é CR ou CI: intervalos de 3 meses (Fisher *et al.*, 2008; Costa *et al.*, 2011; Costa *et al.*, 2012^b); intervalos de 4 meses (Costa *et al.*, 2012^a); intervalos de 4 a 6 meses (Costa *et al.*, 2013); intervalos de 6 meses (Chambrone & Chambrone, 2006; Costa *et al.*, 2014); intervalos de 3 a 12 meses (Ravald & Joahansson, 2012); intervalos de 12 meses (Konig *et al.*, 2002; Leung *et al.*, 2006) e intervalos de 18 meses (Costa *et al.*, 2014).

Além das diferenças nos tempos de reavaliação, os estudos divergiram também em relação aos critérios de protocolos de atendimentos e procedimentos

realizados durante a TMP. No estudo de König *et al.*, (2002), a profilaxia dental e/ou debridamento subgingival foram realizados quando o operador achou necessário, e as condições periodontais foram documentadas anualmente com gráficos de profundidade de sondagem (PS) e valores de índice de placa (IP). No estudo de Leung *et al.*, (2006), todos os indivíduos receberam instruções em higiene bucal e a cada visita de retorno, eles completavam um questionário com um entrevistador treinado para registrar as razões para as perdas dentais. No estudo de Chambrone & Chambrone (2006), todos os indivíduos receberam: instruções em higiene bucal; raspagem e alisamento radicular; polimento coronário; reavaliação e terapia periodontal cirúrgica, quando indicada. No estudo de Fisher *et al.*, (2008), os indivíduos em TMP foram submetidos a avaliação dos parâmetros: IP, PS, SS e nível clínico de inserção (NCI). No estudo de Ravald & Johansson (2012), os indivíduos foram submetidos à TMP, avaliando os parâmetros de IP, PS, SS e nível ósseo mensurado radiograficamente (Tabela 1). Nos estudos de Costa *et al.*, (2012^a e 2012^b), durante as visitas de monitoramento, foram realizados exames clínicos periodontais completos, procedimentos cirúrgicos e não-cirúrgicos (Tabela 2).

Caracterização do tabagismo

Em relação à caracterização do tabagismo, diferentes critérios de definição foram adotados. Os estudos de Costa *et al.*, (2011), Costa *et al.*, (2012^b), Costa *et al.*, (2013), incluíram fumantes/ex-fumantes (indivíduos que relataram ter fumado mais que 100 cigarros durante suas vidas) e não fumantes, de acordo com o critério de Tomar & Asma (2000). Os estudos de Costa *et al.*, (2012^a) e Costa *et al.*, (2014) agruparam não fumantes/ex-fumantes (indivíduos que fumaram de 10 a 19 cigarros por dia) e fumantes (indivíduos que fumavam mais de 19 cigarros por dia), segundo o estudo de Lang & Tonetti (2003). No estudo de Ravald & Johansson (2012), os indivíduos foram divididos em três grupos: fumantes com consumo de 1 a 9 cigarros por dia, fumantes com consumo de mais que 10 cigarros por dia e não fumantes. No estudo Leung *et al.*, (2006), 11,3% dos indivíduos eram fumantes, com autorrelato de consumo de 0,5 a 56,9 maços/ano. No estudo de Chambrone & Chambrone (2006), os indivíduos foram agrupados em fumantes ou não fumantes, sendo que o número de cigarros fumados por dia não foi incluído nessa pesquisa. No estudo de Fisher *et al.*, (2008), a condição do tabagismo foi determinada pelo autorrelato e a análise da concentração do monóxido de carbono no ar expirado identificava e

quantificava essa condição. A concentração ≤ 8 ppm (partes por milhão) determinava os indivíduos não fumantes e > 8 ppm identificava os fumantes, segundo estudo de Scott *et al.*, (2001). O estudo de Konig *et al.*, (2002) menciona fumantes e não fumantes, mas não descreve a condição do tabagismo (Tabelas 1 e 2).

Sumarização dos achados

Nove dos dez estudos dessa revisão sistemática concluíram que o tabagismo foi um fator significativamente associado à PD. Os tabagistas tiveram uma maior chance de PD que os não tabagistas quando se observa os valores de *Odds Ratio* (OR bruta = 8,0; 95% IC: 1,6-39,0; Raval & Johansson, 2012); (OR adj = 4,76; 95% IC: 1,42 – 15,89; Chambrone & Chambrone, 2006); (OR adj = 4,1; 95% IC: 1,98-11,6; Costa *et al.*, 2013); (OR adj = 3,41; 95% IC: 1,26 – 11,41; Costa *et al.*, 2012^a).

A PD, devido a razões periodontais, foi 2,5 vezes maior nos fumantes que nos indivíduos não fumantes (Leung *et al.*, 2006). Segundo o estudo de Konig *et al.* (2002), o tabagismo foi significativamente associado com a PD ($r^2 = 0,12$). O mesmo também foi observado para pacientes da clínica privada, em que o tabagismo foi significativamente associado com a PD (OR adj = de 3,1; 95% IC: 1,98 – 11,6; Costa *et al.*, 2012^b).

Os fumantes no grupo CI (OR= 7,3; 95% IC: 1,17 – 14,9) apresentaram maior chance de PD que os fumantes CR (OR = 4,2; 95% IC: 1,42 – 9,89) (Costa *et al.*, 2011). Em outro estudo da mesma equipe, os fumantes CI perderam significativamente mais dentes (OR adj = 4,22; 95% IC 2,01-8,78) (Costa *et al.*, 2014).

Apenas um estudo não encontrou diferença estatisticamente significativa na média do número de dentes perdidos entre fumantes e não fumantes, no baseline ou depois de três anos da TMP ($p > 0,05$) (Fisher *et al.*, 2008).

Três artigos foram incluídos na meta-análise (Chambrone & Chambrone, 2006; Raval & Johansson, 2012 e Costa *et al.*, 2014) (Figura 2). Houve associação estatisticamente significativa para chance de PD e hábito de fumar (OR: 4,73; 95% IC: 2,63-8,50). A qualidade da evidência foi moderada para tabagistas em TMP e chance de PD (Tabela 5).

DISCUSSÃO

Nesta revisão sistemática e meta-análise a evidência científica mostrou que indivíduos tabagistas em TMP apresentaram maior chance de PD que indivíduos não tabagistas em nove de 10 estudos e também na meta-análise. Entretanto, diversos fatores parecem ter também impactos sobre estes achados.

Houve diferenças entre os intervalos de retorno para reavaliação periodontal durante a TMP, variando em intervalos de três meses (Fisher *et al.*, 2008; Costa *et al.*, 2011; Costa *et al.*, 2012^b) a 18 meses (Costa *et al.*, 2014). Além das diferenças nos tempos de reavaliação, os estudos divergiram também em relação aos procedimentos realizados e diferentes parâmetros clínicos avaliados durante a TMP. Em adição, diferentes períodos de rechamada e classificação de tempo para estabelecer regularidade ou irregularidade em TMP podem apresentar um alto impacto nos desfechos periodontais e PD nos estudos.

Em relação à caracterização do tabagismo, diferentes condições foram consideradas. Nos estudos de Chambrone & Chambrone (2006), Leung *et al.*, (2006), Costa *et al.*, (2011), Costa *et al.*, (2012^a), Costa *et al.*, (2012^b), Ravalid & Johansson (2012), Costa *et al.*, (2013), Costa *et al.*, (2014), os indivíduos foram agrupados em fumantes ou não fumantes, de acordo com autorrelato. No estudo de Fisher *et al.*, (2008), a análise da concentração do monóxido de carbono no ar expirado identificou e quantificou a condição do tabagismo. O estudo de Konig *et al.*, (2002) mencionou fumantes e não fumantes, mas não descreveu a caracterização do tabagismo. Deve-se considerar que, mesmo havendo uma real concordância quanto às taxas de PD relatada nesses estudos, há uma escassez de informações nas pesquisas, principalmente metodológicas, o que acarreta em dificuldades na realização de comparações entre as pesquisas.

No estudo de Fisher *et al.*, (2008) é importante ressaltar o pequeno número de fumantes (n = 16). Assim, parece que a amostra pequena de fumantes não foi capaz de detectar diferenças significativas quando comparado aos não fumantes. Esses fatores podem ter influenciado esse resultado, que é atípico quando comparado aos outros nove estudos dessa revisão sistemática.

Na avaliação da qualidade dos estudos, foi considerado que o tempo de acompanhamento dos estudos foi suficiente para a ocorrência da PD, pois houve uma grande variação nos estudos elegíveis, em relação ao período de

acompanhamento dos indivíduos em TMP, sendo o mínimo de um ano (Costa *et al.*, 2012^b) e o máximo de 36 anos de duração (Chambrone & Chambrone, 2006). O tempo médio necessário para que ocorra a PD é sujeito a muitos fatores e difícil de ser estabelecido pela literatura. Foi considerado um mínimo de acompanhamento de 12 meses e todos os estudos preencheram este quesito de qualidade. Entretanto, é imprevisível uma resposta clínica do tratamento de um dente ao longo do tempo, pois isso envolve muitas variáveis: doenças periodontais (gravidade da doença periodontal e grau de cooperação do indivíduo durante a TPA e TMP), patologias endodônticas, cáries extensas, gênero, idade, prognóstico individual do dente, prognóstico global, hábitos, condições sistêmicas, condições sócio-econômicas, a formação e experiência do clínico, qualidade do atendimento prestado e diferenças filosóficas na condução do tratamento (Costa *et al.*, 2014), particularmente, as questões vinculadas à manutenção ou extração de dentes periodontalmente comprometidos e substituição por implantes dentários (McGuire & Nunn, 1996b; Tsami *et al.*, 2009).

Chambrone & Chambrone (2006) afirmaram em seu estudo que 60,3% de toda a PD devido à periodontite ocorreram após 20 anos de TMP. De acordo com o número de dentes perdidos durante a fase de manutenção, 77 pacientes (64,2%) não perderam dentes. Assim, os autores concluíram que os pacientes com periodontite crônica generalizada foram tratados e mantidos em longo prazo com baixas taxas de PD. Os indivíduos mais velhos e tabagistas foram mais susceptíveis à PD. A TMP é um meio bem sucedido de parar a progressão da doença periodontal preservando os dentes do indivíduo ao longo da vida, uma vez que seu objetivo é a manutenção da dentição natural em um estado saudável, funcional, esteticamente aceitável e indolor (Tonetti *et al.*, 2000; König *et al.*, 2002; Leung *et al.*, 2006; Ravald & Johansson, 2012; Costa *et al.*, 2014).

Uma revisão sistemática incluiu 13 estudos coortes retrospectivos avaliando fatores prognósticos de risco em pacientes em TMP (Chambrone & Chambrone, 2010). Os resultados constataram que 6,8% dos dentes foram extraídos por razões periodontais. Isto permite destacar que a preservação do dente na cavidade bucal pelo Cirurgião-Dentista possa ser realizada por tanto tempo quanto possível. No entanto, nesses estudos, além dos dentes terem sido extraídos por razões periodontais, outras causas também foram consideradas, como as complicações endodônticas, fraturas de raiz, cárie, razões protéticas, isto é, a perda de retenção

da coroa, razões desconhecidas ou por causa de diferenças nas filosofias de tratamento.

Outra revisão sistemática (Lee *et al.*, 2015) analisou o efeito da cooperação dos indivíduos durante a TMP, na PD, e investigou os parâmetros potenciais que afetam a associação entre a cooperação e a PD. Na análise final, foram incluídos 8 estudos, sendo 7 coortes retrospectivos e apenas um coorte prospectivo (Costa *et al.*, 2014). Nos estudos retrospectivos existe uma dificuldade em determinar com clareza a razão para a extração, por isso, a diferenciação das causas das extrações costuma ser dividida em apenas razões periodontais e outras razões. Este fato foi observado em nossa revisão sistemática, bem como nos estudos retrospectivos de Tonetti *et al.*, (2000) e König *et al.*, (2002).

O estudo de Chambrone & Chambrone (2010) considerou todos os pacientes, sem distinção da condição de tabagismo, podendo agir como um fator de confusão nos resultados encontrados. A revisão sistemática de Lee *et al.* (2015) menciona a condição de tabagismo, porém em três estudos incluídos não foi relatada essa questão, não inferindo-a aos resultados. Os autores sugeriram um menor risco de PD em pacientes com maior cooperação durante a TMP. Na presente revisão sistemática, tentamos isolar o fator tabagismo para perda dental. Todos os esforços foram feitos na pesquisa literária, através da busca na literatura, busca manual e literatura cinzenta, ausência de restrição de data de publicação e idioma de publicação. Embora não tenha sido possível realizar o gráfico de funil, há um predomínio de estudos com resultados positivos para PD e tabagismo, indicando um possível viés de publicação. Outro viés identificável é o de citação, em que muitos estudos pertenciam ao mesmo grupo de pesquisa.

Assim, no nosso entendimento, independente da presença de diferentes fatores de risco para PD em TMP (OR: 4.73; 95% CI: 2.63–8.50), apenas a presença do tabagismo pode ser um fator para classificar indivíduos em alto risco e determinar curtos intervalos de chamada para os mesmos. Entretanto, é importante ressaltar a escassez e a necessidade de estudos coortes prospectivos bem delineados, uma vez que na avaliação GRADE a qualidade da evidência científica foi considerada moderada.

Embora a meta-análise tenha apresentado relativa homogeneidade estatística, ela é limitada por apenas três estudos. Sete estudos foram excluídos da meta-análise devido à insuficiência de dados que possibilitassem extração para a

meta-análise. Outras limitações também podem ser observadas como a heterogeneidade clínica e metodológica entre os estudos incluídos. A qualidade da evidência foi moderada, uma vez que houve “séria” imprecisão devida ao largo intervalo de confiança e observou-se viés de publicação (Iorio *et al.*, 2015).

Para futuras pesquisas é imperativo que exista uma padronização metodológica para as seguintes questões: (1) caracterização do tabagismo tanto na frequência quanto na dose-exposição, e (2) protocolos únicos de atendimentos e procedimentos periodontais realizados durante a TMP. E finalmente, estudos com maiores amostras e maior tempo de acompanhamento são necessários para minimizar a heterogeneidade.

Em conclusão, há uma evidência científica moderada de que o tabagismo pode ser associado à ocorrência da perda dental em pacientes em TMP. Assim, mais estudos prospectivos longitudinais são necessários para confirmar a evidência científica.

AGRADECIMENTOS

São colaboradores deste estudo: Profa Dr^a. Carolina Castro Martins, Prof Dr. Fernando Oliveira Costa, Dr^a. Renata Magalhães Cyrino, Dr^a. Andrea Mara de Oliveira Azevedo e Prof Dr. Luís Otávio Miranda Cota.

REFERÊNCIAS

1. Allen, E., Ziada, H., Irwin, C., Mullally, B. & Byrne, P.J. (2008) Periodontics: 10. Maintenance in periodontal therapy. *Dental Update* **35**:150-156.
2. Al-Shammari, K.F., Al-Khabbaz, A.K., Al-Ansari, J.M., Neiva, R. & Wang, H.L. (2005) Risk indicators for tooth loss due to periodontal disease. *Journal of Periodontology* **76**:1910-1918.
3. American Academy of Periodontology. (2000) Parameter on periodontal maintenance. *Journal of Periodontology* **71**:849-850.
4. Axelsson, P., Nyström, B. & Lindhe, J. (2004) The long-term effect of a plaque control program on tooth mortality, caries and periodontal disease in adults: results after 30 years of maintenance. *Journal of Clinical Periodontology*

- 31:749–757.**
5. Carnevale, G., Cairo, F. & Tonetti, M. (2007) Long-term effects of supportive therapy in periodontal patients treated with fibre retention osseous resective surgery. I: recurrence of pockets, bleeding on probing and tooth loss. *Journal of Clinical Periodontology* **34**:334-341.
 6. Chace, R.Sr. & Low, S.B. (1993) Survival characteristics of periodontally-involved teeth: a 40-year study. *Journal of Periodontology* **64**:701-705.
 7. Chambrone, L., Chambrone, D., Lima, L.A. & Chambrone, L.A. (2010) Predictors of tooth loss during long-term periodontal maintenance: a systematic review of observational studies. *Journal of Clinical Periodontology* **37**:675-684.
 8. Chambrone, L.A. & Chambrone, L. (2006) Tooth loss in well-maintained patients with chronic periodontitis during long-term supportive therapy in Brazil. *Journal of Clinical Periodontology* **33**:759-764.
 9. Checchi, L., Montececchi, M., Gatto, M.R. & Trombelli, L. (2002) Retrospective study of tooth loss in 92 treated periodontal patients. *Journal of Clinical Periodontology* **29**:651-656.
 10. Costa, F.O., Cota, L.O.M., Lages, E.J.P., Lorentz, T.C.M., Oliveira, A.M.S.D., Oliveira, P.A.D. & Costa, J.E. (2011) Progression of periodontitis in a sample of regular e irregular compliers under maintenance therapy: a 3-year follow-up study. *Journal of Periodontology* **82**:1279-1287.
 11. Costa, F.O., Cota, L.O.M, Lages, E.J.P., Oliveira, A.M.S.D., Oliveira, P.A.D., Cyrino, R.M., Lorentz, T.C.M, Cortelli, S.C. & Cortelli, J.R. (2013) Progression of periodontitis and tooth loss associated with glycemic control in individuals undergoing periodontal maintenance therapy: a 5-year follow-up study. *Journal of Periodontology* **84**:595-605.
 12. Costa, F.O., Cota, L.O.M., Lages, E.J.P, Oliveira, A.P.L., Cortelli, S.C., Cortelli, J.R., Lorentz, T.C.M. & Costa, J.E. (2012)^a Periodontal risk assessment model in a sample of regular and irregular compliers under maintenance therapy: a 3-year prospective study. *Journal of Periodontology* **83**:292–300.
 13. Costa, F.O., Lages, E.J.P., Cota, L.O.M., Lorentz, T.C.M., Soares, R.V. & Cortelli, J.R. (2014) Tooth loss in individuals under periodontal maintenance therapy: 5-year prospective study. *Journal of Periodontal Research* **49**:121-

- 128.
14. Costa, F.O., Santuchi, C.C., Lages, E.J.P., Cota, L.O.M., Cortelli, S.C., Cortelli, J.R., Lorentz, T.C.M. & Costa, J.E. (2012)^b Prospective study in periodontal maintenance therapy: comparative analysis between academic and private practices. *Journal of Periodontology* **83**:301-311.
 15. Deeks, J.J., Higgins, J.P.T, Altman, D.G. & Cochrane Statistical Methods Group. (2015) Analysing data and undertaking meta-analyses. In: Higgins JPT & Green S. *Cochrane handbook for systematic reviews of interventions*. Willey-Blackwell: Chinchester.
 16. Egger, M., Davey, S.G., Schneider, M. & Minder, C. (1997) Bias in meta-analysis detected by a simple graphical test. *British Medical Journal* **315**:629-34.
 17. Fardal, O., Johannessen, A.C. & Linden, G.J. (2004) Tooth loss during maintenance following periodontal treatment in a periodontal practice in Norway. *Journal of Clinical Periodontology* **31**:550–555.
 18. Fisher, S., Kells, L., Picard, J.P., Gelskey, S.C., Singer, D.L., Lix L. & Scott, D.A. (2008) Progression of periodontal disease in a maintenance population of smokers and non-smokers: a 3-year longitudinal study. *Journal of Periodontology* **79**:461-468.
 19. Guyatt, G.H., Oxman, A.D., Vist, G.E., Kung, R., Falck-Ytter, Y., Alonso Coello, P. & Schünemann, H.J. (2008) GRADE: an emerging consensus on rating quality of evidence and strength of recommendations. *British Medical Journal* **336**:924-26.
 20. Heasman, L., Stacey, F., Preshaw, P.M., McCracken, G.I., Hepburn, S. & Heasman, P.A. (2006) The effect of smoking on periodontal treatment response: A review of clinical evidence. *Journal of Clinical Periodontology* **33**:241-253.
 21. Hirschfeld, L. & Wasserman, B. (1978) A long-term survey of tooth loss in 600 treated periodontal patients. *Journal of Periodontology* **49**:225-237.
 22. Iorio, A., Spencer, F.A., Falavigna, M., Alba, C., Lang, E., Bumand, B., McGinn, T., *et al.* (2015) Use of GRADE for assessment of evidence about prognosis: rating confidence in estimates of event rates in broad categories of patients. *British Medical Journal* **350**:h870 | doi: 10.1136/bmj.h870
 23. König, J., Plagmann, H.C., Rühling, A. & Kocher, T. (2002) Tooth loss and

- pocket probing depths in a compliant periodontally treated patients: a retrospective analysis. *Journal of Clinical Periodontology* **29**:1092-1100.
24. Labriola, A., Needleman, I., & Moles, D.R. (2005) Systematic review of the effect of smoking on nonsurgical periodontal therapy. *Periodontology 2000* **37**:124-137.
 25. Lang, N.P & Tonetti, M.S. (2003) Periodontal risk assessment (PRA) for patients in supportive periodontal therapy (SPT). *Oral Health and Preventive Dentistry* **1**:7-16.
 26. Lee, C.T., Huang, H.Y., Sun, T.C. & Karimbux, N. (2015) Impact of patient compliance on tooth loss during supportive periodontal therapy: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Dental Research* **94**:777-786.
 27. Leung, W.K., Ng, D.K.C., Jin, L. & Corbet, E.F. (2006) Tooth loss in treated periodontitis patients responsible for their supportive care arrangements. *Journal of Clinical Periodontology* **33**:265-275.
 28. Lorentz, T.C., Cota, L.O., Cortelli, J.R., Vargas, A.M. & Costa, F.O. (2010) Tooth loss in individuals under periodontal maintenance therapy: prospective study. *Brazilian Oral Research* **2**:231-237.
 29. Matuliene, G., Pjetursson, B.E., Slavi, G.E., Schmidlin, K., Brägger, U., Zwahlen, M. & Lang, N.P. (2008) Influence of residual pockets on progression of periodontitis and tooth loss: Results after 11 years of maintenance. *Journal of Clinical Periodontology* **35**:685-695.
 30. McGuire, M.K. & Nunn, M.E. (1996b) Prognosis versus actual outcome. III. The effectiveness of clinical parameters in accurately predicting tooth survival. *Journal of Periodontology* **67**:666-674.
 31. Meinberg, T.A., Canarsky-Handley, A.M., McClenahan, A.K., Poulsen, D.D., Marx, D.B. & Reinhardt, R.A. (2001) Outcomes associated with supportive periodontal therapy in smokers and nonsmokers. *Journal of Dental Hygiene* **75**:1008-1016.
 32. Page, R.C. & Kornman, K.S. (1997) Pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontology 2000* **14**:9-11.
 33. Papantonopoulos, G.H. (2004) Effect of periodontal therapy in smokers and non-smokers with advanced periodontal disease: Results after maintenance therapy for a minimum of 5 years. *Journal of Periodontology* **75**:839-843.
 34. Ravald, N. & Johansson, C.S. (2012) Tooth loss in periodontally treated

- patients. A long-term study of periodontal disease and root caries. *Journal of Clinical Periodontology* **39**:73-79.
35. Schatzle, M., Faddy, M.J, Cullinan, M.P., Seymour, G.J., Lang, N.P., Burgin, W., Anerud, A., Boysen, H. & Loe, H. (2009) The clinical course of chronic periodontitis: V. Predictive factors in periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology* **36**:365-371.
36. Scott, D.A., Palmer, R.M. & Stapleton, J.A. (2001) Validation of smoking status in clinical research into inflammatory periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology* **28**:715-722.
37. Tonetti, M.S., Steffen, P., Muller-Campanile, V., Suvan, J. & Lang, N.P. (2000) Initial extractions and tooth loss during supportive care in a periodontal population seeking comprehensive care. *Journal of Clinical Periodontology* **27**:824-831.
38. Tsami, A., Pepelassi, E., Kodovazenitis, G. & Komboli, M. (2009) Parameters affecting tooth loss during periodontal maintenance in a Greek population. *Journal of the American Dental Association* **140**:1100-1107.
39. Wood, W.R., Greco, G.W., McFall & W.T.Jr. (1989) Tooth loss in patients with moderate periodontitis after treatment and long-term maintenance care. *Journal of Periodontology* **60**:516-520.

Figura 1 - Fluxograma da seleção de artigos

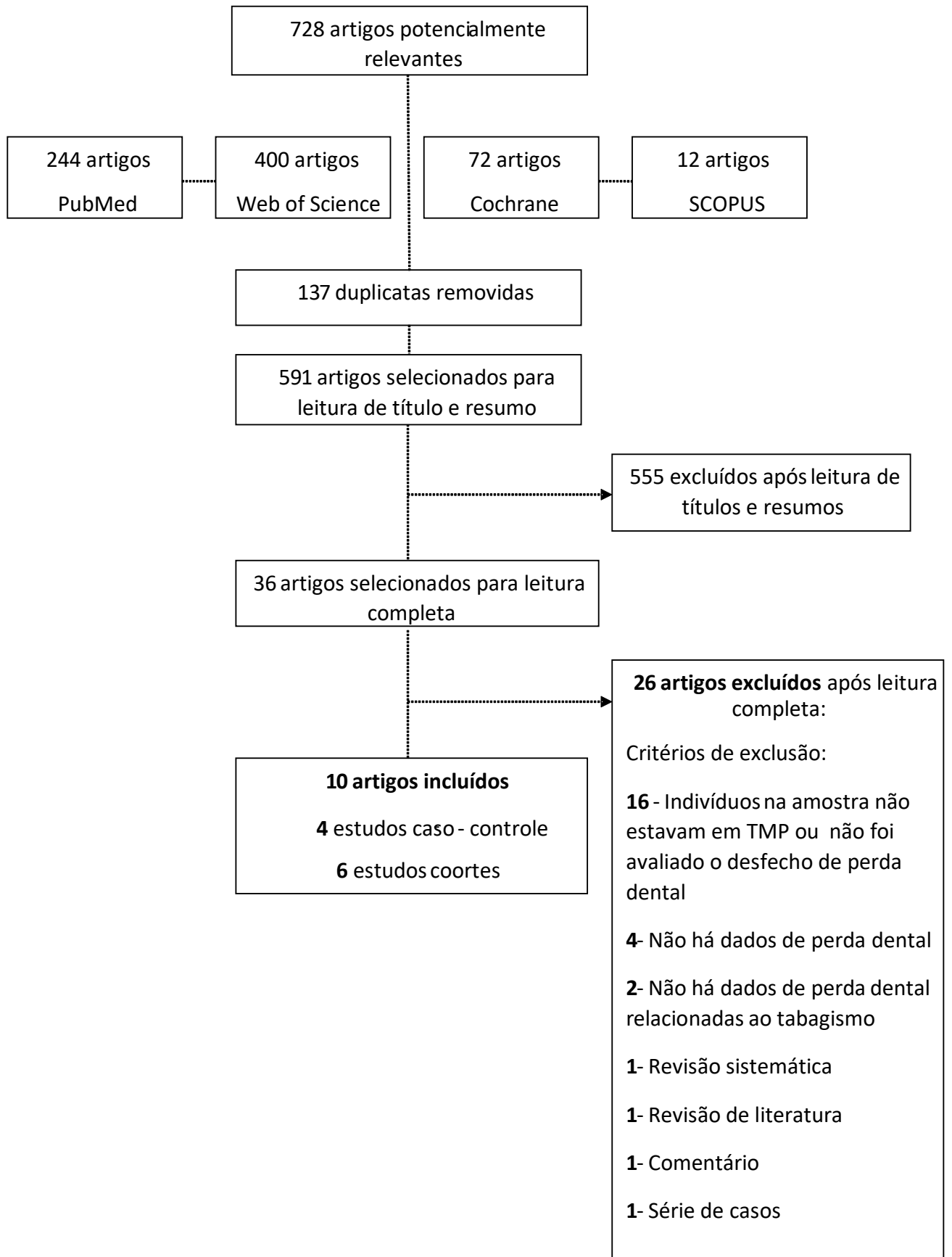


Figura 2 – Meta-análise

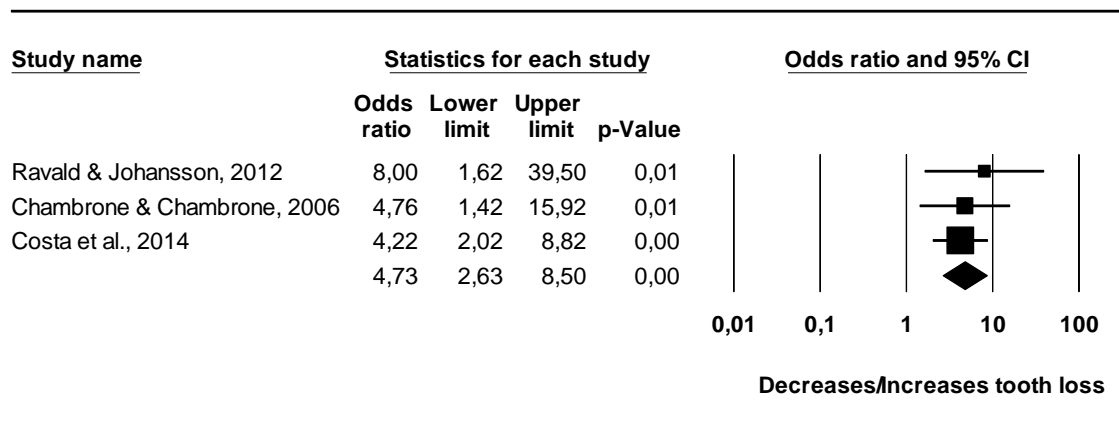


Figura 2. Meta-análise dos estudos coortes comparando tabagistas (exposição) a não tabagistas (comparação) para risco de perda dental (desfecho). OR ≥ 1 aumenta o risco de perda dental $I^2=0.0\%$ ($p=0.776$), teste de heterogeneidade, modelo de efeito fixo.

Tabela 1 - Características dos estudos coorte incluídos

<i>Estudo</i>	<i>Desenho do estudo</i>	<i>Participantes</i>	<i>Terapia de manutenção periodontal</i>	<i>Caracterização do tabagismo</i>	<i>Resultado</i>
Costa <i>et al.</i> (2014)	Avaliar a incidência da PD, razões subjacentes e influência dos preditores de risco para a ocorrência da PD em TMP.	212 indivíduos com periodontite crônica de moderada a avançada.	5 anos Todos os indivíduos foram submetidos TPA. 96 CR tiveram intervalos de 6 meses e 116 CI tiveram intervalos de 18 meses entre as rechamadas.	Incluiu não fumantes/ex-fumantes e fumantes: 10 a 19 ou >19 cigarros por dia.	Indivíduos fumantes CI perderam significativamente mais dentes. OR adj = 4,22 (95% IC: 2,01-8,78).
Chambrone & Chambrone (2006)	Avaliar as razões para a PD nos indivíduos submetidos a TPA e TMP.	120 indivíduos com periodontite crônica de moderada a avançada.	Acima de 10 anos Todos os indivíduos seguiram um protocolo deTMP: instruções em higiene oral; raspagem e alisamento radicular; polimento coronário; reavaliação e terapia periodontal cirúrgica, quando indicada, com intervalo de 6 a 12 meses.	Os indivíduos foram agrupados em fumantes ou não fumantes, sendo que o número de cigarros fumados por dia não foi incluído.	Indivíduos fumantes apresentaram as mais altas taxas de PD. OR adj = 4,76 (95% IC: 1,42 – 15,89).
Fisher <i>et al.</i> (2008)	Avaliar a progressão da periodontite crônica, longitudinalmente, em indivíduos fumantes e não fumantes submetidos a TMP.	108 indivíduos com periodontite crônica de moderada a avançada.	Acima de 3 anos Os indivíduos em TMP foram submetidos a avaliação dos parâmetros: IP, SS, PS e NCI, com intervalos de 3 a 4 meses para cada rechamada.	Tabagismo foi determinado pelo autorrelato e a análise da concentração do monóxido de carbono do ar expirado. Concentração ≤ 8 ppm determinava não fumantes e > 8 ppm identificava os fumantes.	Não houve diferença significativa na média do número de dentes perdidos entre fumantes e não fumantes no baseline ou após 3 anos da TMP (p>0,05).

König <i>et al.</i> (2002)	Determinar o resultado da cooperação dos indivíduos na TMP.	142 indivíduos com periodontite crônica de moderada a avançada.	8 – 13 anos Indivíduos receberam TPA. TMP incluiu profilaxia dental e/ou debridamento subgengival quando necessário. Condições periodontais foram documentadas anualmente com gráficos de PS e valores de IP, com intervalo de 12 meses entre cada rechamada.	O artigo menciona fumantes e não fumantes, mas não descreve o critério para determinar tabagismo.	O tabagismo foi significativamente associado com a PD ($r^2 = 0,12$).
Leung <i>et al.</i> (2006)	Identificar os indicadores de risco associados com PD e periodontite em indivíduos submetidos a TMP.	97 indivíduos com periodontite crônica de moderada a avançada.	5 – 12 anos Os indivíduos foram todos instruídos a realizarem sua própria TMP. A cada primeira visita de rechamada, eles completavam um questionário com um entrevistador treinado para registrar as razões para a PD.	11,3% dos indivíduos eram fumantes atuais, com autorrelato de consumo de 0,5 a 56,9 maços/ano.	A PD devido a razões periodontais foi 2,5 vezes maior nos fumantes que nos não fumantes.
Ravald & Joahansson (2012)	Avaliar os números e as causas para perdas dentais depois da TPA e durante a TMP.	64 indivíduos submetidos aTMP.	11-14 anos Os indivíduos foram submetidos a TMP com intervalos variando de 1 a 4 vezes por ano, avaliando os parâmetros: SS, IP, PS e nível ósseo mensurado radiograficamente.	Os indivíduos foram divididos em três grupos: fumantes com consumo de 1-9 cigarros/dia, fumantes com consumo de mais que 10 cigarros/dia e não fumantes.	A PD foi significativamente mais prevalente entre os fumantes que não fumantes OR = 8,0 (95% IC: 1,6-39,0).

CI cooperadores irregulares; CR, cooperadores regulares; IP, índice de placa; NCI, nível clínico de inserção; PD, perda dental; PS, profundidade de sondagem; SS, sangramento à sondagem; TMP, terapia de manutenção periodontal; TPA, terapia periodontal ativa; OR, *odds ratio*; IC, intervalo de confiança.

Tabela 2 - Características dos estudos de caso-controle incluídos

<i>Estudo</i>	<i>Características Gerais</i>	<i>Participantes</i>	<i>Terapia periodontal de manutenção</i>	<i>Caracterização do tabagismo</i>	<i>Resultado</i>
Costa <i>et al.</i> (2013)	Investigar a influência do controle glicêmico na progressão da periodontite e PD durante a TMP.	92 indivíduos recrutados de um coorte prospectivo com 238 participantes durante a TMP.	5 anos Indivíduos monitorados em uma clínica odontológica privada. A TMP foi realizada com intervalos de rechamadas de 4 a 6 meses para todos os participantes.	Esse estudo incluiu fumantes/ex-fumantes (relataram ter fumado >100 cigarros durante suas vidas) e não fumantes.	Tabagismo apresentou OR = 4,1 (95% IC: 1,98-11,6) para PD.
Costa <i>et al.</i> (2012) ^a	Investigar a associação do modelo de avaliação de risco periodontal (ARP) com a recorrência da doença periodontal e PD durante aTMP.	164 indivíduos (75 CR e 89 CI).	3 anos Os dados obtidos depois da TPA foram determinados no baseline (T1) e comparados aos dados obtidos depois de 3 anos de acompanhamento (T2). T2 foi realizado depois de 9 visitas de rechamadas para os CR e 4 visitas para os CI. Foram analisados: PS, NCI, envolvimento de furca, SS, supuração, evidência radiográfica de perda óssea, coletados depois do T1 e T2.	Esse estudo incluiu não fumantes/ex-fumantes e fumantes: 10 a 19 ou >19 cigarros por dia.	Tabagismo apresentou OR = 3,41 (95% IC: 1,26 – 11,41) para PD.
Costa <i>et al.</i> (2012) ^b	Avaliar e comparar a condição periodontal, progressão da periodontite, PD e influência das variáveis	288 indivíduos (138 no grupo público e 150 no grupo privado).	Mínimo de 12 meses. Em cada visita de reavaliação (T1, T2, T3 e T4), realizada a cada 3 meses, os seguintes	Esse estudo incluiu fumantes/ex-fumantes (relataram ter fumado >100 cigarros durante	Para o grupo privado, o modelo final da regressão logística multivariada demonstrou que o tabagismo

	de risco em dois programas de TMP (público e privado) no período acima de 12 meses.		procedimentos foram realizados: entrevistas para determinar possíveis mudanças nas variáveis de interesse; avaliação de parâmetros clínicos periodontais; instruções de higiene bucal, por meio da técnica de Bass, escovas interproximais e fio dental; e debridamento mecânico, quando apropriado, incluindo profilaxia, polimento coronário e aplicação tópica de flúor.	suas vidas) e não fumantes.	apresentou OR = de 3,1 (95% IC: 1,98 – 11,6) para PD. Não foi reportado OR para PD associada a tabagismo no grupo público.
Costa <i>et al.</i> (2011)	Determinar e comparar a condição periodontal, especialmente a progressão da periodontite e PD entre CR e CI, fumantes e não fumantes, durante a TMP.	116 indivíduos (58 CR e 58 CI).	3 anos Em cada visita de reavaliação (T1, T2, T3 e T4), realizada a cada 3 meses, os seguintes procedimentos foram realizados: entrevistas para determinar possíveis mudanças nas variáveis de interesse; avaliação de parâmetros clínicos periodontais; instruções de higiene bucal, por meio da técnica de Bass, escovas interproximais e fio dental; e debridamento mecânico, quando apropriado, incluindo	Incluiu fumantes/ex-fumantes (relataram ter fumado >100 cigarros durante suas vidas) e não fumantes.	Os fumantes no grupo CI apresentaram OR = 7,3 (95% IC: 1,17 – 14,9) para PD. Os fumantes CR apresentaram OR = 4,2 (95% IC: 1,42 – 9,89) para PD.

	profilaxia, polimento coronário e aplicação tópica de flúor.
--	--

ARP, avaliação de risco periodontal; CI cooperadores irregulares; CR, cooperadores regulares; NCI, nível clínico de inserção; PD, perda dental; PS, profundidade de sondagem; SS, sangramento à sondagem; TMP, terapia de manutenção periodontal; TPA, terapia periodontal ativa; OR, *odds ratio*; IC, intervalo de confiança.

Costa *et al.* (2012)^a : Costa FO, Cota LOM, Lages EJP, Oliveira APL, Cortelli SC, Cortelli JR, Lorentz TCM, Costa JE. Periodontal Risk Assessment Model in a Sample of Regular and Irregular Compliers Under Maintenance Therapy: A 3-Year Prospective Study. *J Periodontol* 2012;83:292–300.

Costa *et al.* (2012)^b : Costa FO, Santuchi CC, Lages EJP, Cota LOM, Cortelli SC, Cortelli JR, Lorentz TCM, Costa JE. Prospective Study in Periodontal Maintenance Therapy: Comparative Analysis Between Academic and Private Practices. *J Periodontol* 2012;83:301-311.

Tabela 3 - Avaliação da qualidade metodológica dos estudos *coorte* através da Escala de Newcastle-Ottawa

	König <i>et al.</i> , 2002	Leung <i>et al.</i> , 2006	Chambrone & Chambrone <i>et al.</i> , 2006	Fisher <i>et al.</i> , 2008	Ravald & Joahsson, 2012	Costa <i>et al.</i> , 2014
CRITÉRIOS DE SELEÇÃO DA AMOSTRA						
1) Representatividade da coorte exposta (indivíduos em terapia de manutenção periodontal)						
a) Verdadeira representatividade da média de indivíduos em TMP (20%) na comunidade ★						
b) Parcialmente representativo da média de indivíduos em TMP na comunidade ★	★	★	★	★	★	★
c) Grupo selecionado de indivíduos afetados						
d) Sem descrição da origem da coorte						
2) Seleção da coorte não exposta (indivíduos não tabagistas em terapia de manutenção periodontal)						
a) Selecionados da mesma comunidade da coorte exposta ★	★	★	★	★	★	★
b) Selecionados de uma fonte diferente						
c) Sem descrição da fonte da coorte não exposta.						
3) Avaliação da exposição (indivíduos tabagistas em terapia de manutenção periodontal)						
a) Avaliação segura utilizando parâmetros clínicos ou radiográficos ★						
b) Avaliação clínica e radiográfica ★	★	★	★	★	★	★
c) Autorrelato ou avaliação de fichas ou relato de TMP						
d) Sem descrição						
4) Demonstração que o desfecho primário (perda dental) não estava presente no início do estudo						
a) Sim ★	★	★	★	★	★	★
b) Não						
COMPARABILIDADE DAS COORTES						
1) Controle dos fatores de confusão						
a) A exposição de interesse (tabagismo) é ajustada para um fator (diabetes) ★	★	★	★	★★	★	★★
b) A exposição de interesse (tabagismo) é ajustada para dois ou mais fatores (diabetes, gênero, idade, etc...) ★★						
AVALIAÇÃO DO DESFECHO PRIMÁRIO (PERDA DENTAL)						
1) Diagnóstico da perda dental						
a) Avaliação segura utilizando parâmetros clínicos e radiográficos ★	★	★	★	★	★	★
b) Exame clínico sem avaliação radiográfica ou não satisfaz os critérios em parte (a/b)						
c) Baseado em autorrelato ou avaliação de prontuário						
2) O tempo de acompanhamento foi suficiente para o desfecho acontecer (perda dental)						
a) Sim (mais de 12 meses) ★	★	★	★	★	★	★
b) Não						
3) Taxa de recuperação da amostra do coorte						
a) Acompanhamento da amostra – todos os indivíduos ★						
b) Taxa de perdas ≤ 20%, mesma para ambos os grupos ★	d	★	★	★	★	★
c) Taxa de perdas > 20%, não respondentes descritos						
d) Não especificado						
SOMA DOS ESCORES (Estrelas) ***	7/10 (alto)	8/10 (alto)	8/10 (alto)	9/10 (alto)	8/10 (alto)	9/10 (alto)

★ Máximo de 1 ponto para cada item; ** máximo de 2 pontos para cada item; *** máximo de 10 pontos; ★ 1 ponto

Tabela 4 - Avaliação da qualidade metodológica dos estudos de caso-controle através da Escala de Newcastle-Ottawa

	Costa et al., 2011	Costa et al., 2012 ^a	Costa et al., 2012 ^b	Costa et al., 2013
CRITÉRIOS DE SELEÇÃO DA AMOSTRA				
1) O diagnóstico da perda dental em indivíduos tabagistas em terapia de manutenção periodontal (casos) foi adequado?				
a) Exame clínico e exame radiográfico ★	★	★	★	★
b) Exame clínico sem exame radiográfico				
c) Baseado em autorrelato ou fichas de pacientes				
2) Representatividade e seleção dos indivíduos tabagistas em terapia de manutenção periodontal (casos)				
a) Casos selecionados de clinica privada ou escola, amostra randomizada, calculo amostral ★	★	★	★	★
b) Seleção com viés ou não satisfaz os critérios em "a" parcialmente				
3) Seleção dos participantes indivíduos não tabagistas em terapia de manutenção periodontal (controles)				
a) Controles selecionados de clinica privada ou escola, amostra randomizada, calculo amostral ★	★	★	★	★
b) Seleção com viés ou não satisfaz os critérios em "a" parcialmente				
c) Sem descrição				
4) Definição dos controles				
a) Indivíduos não tabagistas em terapia de manutenção periodontal ★	★	★	★	★
b) Sem descrição da fonte ou se o indivíduo era tabagista/auto relato de tabagismo				
COMPARABILIDADE DE CASOS/ CONTROLES				
1) Controle para fatores de confusão				
a) A exposição de interesse (tabagismo) foi ajustada para um fator (diabetes) ★				
b) A exposição de interesse (tabagismo) foi ajustada para dois ou mais fatores (diabetes, gênero, idade, etc...) ★★	★	★	★	★
c) Sem descrição da análise dos fatores de confusão				
AVALIAÇÃO DA EXPOSIÇÃO (PERDA DENTAL)				
1) Diagnóstico da perda dental				
a) Avaliação segura utilizando parâmetros clínicos e radiográficos ★	★	★	★	★
b) Baseado em autorrelato ou avaliação de prontuário ou não satisfaz requisições de "a/b" em parte				
c) Sem descrição				
2) Mesmo método de avaliação para casos e controles				
a) Sim ★	★	★	★	★
b) Não				
3) Taxa de resposta				
a) Taxa de perdas ≤ 20%, mesma para ambos os grupos (casos/controles) ★	★	★	c	c
b) Taxa de perdas > 20%, não respondentes descritos				
c) Não especificado				
SOMA DOS ESCORES (Estrelas) ***	8/9 (alto)	8/9 (alto)	7/9 (alto)	7/9 (alto)

^aMáximo de 1 ponto para cada item; ^{**}máximo de 2 pontos para cada item; ^{***}máximo de 9 pontos; ★ 1 ponto

Tabela 5: Qualidade da evidência avaliada pelo GRADE.

Avaliação da qualidade							Efeito		Qualidade
Nº de estudos	Desenho do estudo	Risco de viés	Inconsistência	Evidência indireta	Imprecisão	Outras considerações	Odds Ratio (95% IC)	Absoluta (95% IC)	
3	Observacionais (coortes)	Não séria ^a	Não séria ^b	Não séria ^c	Séria ^d	Viés de publicação (fortemente suspeito) Associação (forte) Confundidores (podem reduzir o efeito demonstrado) Dose-resposta (não)	OR 4,73 (2,63 – 8,50)	5 menos por 1.000 (de menos de 3 a menos de 9)	⊕⊕⊕○ MODERADA

IC: intervalo de confiança; **OR:** Odds ratio

a. Risco de viés: Estudos incluídos tinham baixo risco de viés.

b. Não há variação no efeito sumário final entre os estudos, os ICs se sobrepõem, não há heterogeneidade estatisticamente significativa ($p=0.776$) e I^2 é baixo.

c. Evidência indireta: não detectada.

d. Imprecisão: os limites inferior e superior do 95% IC podem gerar diferentes recomendações.

APÊNDICE – Artigo 1

Estudos selecionados para leitura completa do texto

1. Airila-Mansson, S., Söder, B. & Klinge, B. (2005) Bone height changes in individuals with periodontal disease: a 17-year prospective longitudinal study. *Journal of Periodontology* **32**:822-827.
2. Albandar, J.M., Streckfus, C.F., Adesanya, M.R. & Winn, D.M. (2000) Cigar, pipe and cigarette smoking as risk factors for periodontal disease and tooth loss. *Journal of Periodontology* **71**:1874-1881.
3. Al-Bayaty, F.H., Wahid, N.A.A. & Bulgiba, A.M. (2008) Tooth mortality in smokers and nonsmokers in a selected population in Sana'a Yemen. *Journal of Periodontal Research* **43**:9-13.
4. Al-Shammari, K.F., Al-Khabbaz, A.K., Al-Ansari, J.M., Neiva, R. & Wang, H.L. (2005) Risk indicators for tooth loss due to periodontal disease. *Journal of Periodontology* **76**:1910-1918.
5. Al-Wahadni, A. & Linden, G.J. (2003) The effects of cigarette smoking on the periodontal condition of young Jordanian adults. *Journal of Clinical Periodontology* **30**:132-137.
6. Anand, P.S., Kamath, K.P., Shefar, B.R.C. & Anil, S. (2012) Relationship of smoking and smokeless tobacco use to tooth loss in a central indian population. *Oral Health and Preventive Dentistry* **10**:243-252.
7. Arora, M., Weuve, J., Weisskopf, M.G., Sparrow, D., Nie, H. & Garcia, R.I. (2009) Cumulative lead exposure and tooth loss in men: the normative aging study. *Environmental Health Perspectives* **117**:1531-1534.
8. Axelsson, P., Paidander, J. & Lindhe, J. (1998) Relationship between smoking and dental status in 35-, 50-, 65-, and 75-year-old individuals. *Journal of Clinical Periodontology* **25**:297-305.
9. Baharin, B., Palmer, R.M., Coward, P. & Wilson, R.F. (2006) Investigation of periodontal destruction patterns in smokers and non-smokers. *Journal of Clinical Periodontology* **33**:485-490.
10. Baljoon, M., Natto, S. & Bergström, J. (2005) Long-term effect of smoking on vertical periodontal bone loss. *Journal of Clinical Periodontology* **32**:789-797.
11. Baljoon, M., Natto, S. & Bergström, J. (2004) The association of smoking with vertical periodontal bone loss. *Journal of Periodontology* **75**:844-851.

12. Barros, S.P., Suruki, R., Loewy, Z.G., Beck, J.D. & Offenbacher, S. (2013) A cohort study of the impact of tooth loss and periodontal disease on respiratory events among COPD subjects: modulatory role of systemic biomarkers of inflammation. *PLoS ONE* **8**(8): e68592 doi:10.1371/journal.pone.0058592
13. Bergström, J. (2004) Influence of tobacco smoking on periodontal bone height. Long-term observations and a hypothesis. *Journal of Clinical Periodontology* **31**:260-266.
14. Chambrone, L., Chambrone, D., Lima, L.A. & Chambrone, L.A. (2010) Weak evidence to support benefit of periodontal maintenance therapy in prevention of tooth loss. Abstracted from: Chambrone, L., Chambrone, D., Lima, L.A. & Chambrone, L.A. Predictors of tooth loss during long-term periodontal maintenance: a systematic review of observational studies. *Journal of Clinical Periodontology* **37**:675-684.
15. Chambrone, L.A. & Chambrone, L. (2006) Tooth loss in well-maintained patients with chronic periodontitis during long-term supportive therapy in Brazil. *Journal of Clinical Periodontology* **33**:759-764.
16. Costa, F.O., Cota, L.O.M., Lages, E.J.P., Lorentz, T.C.M., Oliveira, A.M.S.D., Oliveira, P.A.D. & Costa, J.E. (2011) Progression of periodontitis in a sample of regular and irregular compliers under maintenance therapy: a 3-year follow-up study. *Journal of Periodontology* **82**:1279-1287.
17. Costa, F.O., Cota, L.O.M., Lages, E.J.P., Oliveira, A.M.S.D., Oliveira, P.A.D., Cyrino, R.M., Lorentz, T.C.M., Cortelli, S.C. & Cortelli, J.R. (2013) Progression of periodontitis and tooth loss associated with glycemic control in individuals undergoing periodontal maintenance therapy: a 5-year follow-up study. *Journal of Periodontology* **84**:595-605.
18. Costa, F.O., Cota, L.O.M., Lages, E.J.P., Oliveira, A.P.L., Cortelli, S.C., Cortelli, J.R., Lorentz, T.C.M. & Costa, J.E. (2012) Periodontal risk assessment model in a sample of regular and irregular compliers under maintenance therapy: a 3-year prospective study. *Journal of Periodontology* **83**:292–300.
19. Costa, F.O., Lages, E.J.P., Cota, L.O.M., Lorentz, T.C.M., Soares, R.V. & Cortelli, J.R. (2014) Tooth loss in individuals under periodontal maintenance therapy: 5-year prospective study. *Journal of Periodontal Research* **49**:121-128.

20. Costa, F.O., Santuchi, C.C., Lages, E.J.P., Cota, L.O.M., Cortelli, S.C., Cortelli, J.R., Lorentz, T.C.M. & Costa, J.E. (2012) Prospective study in periodontal maintenance therapy: comparative analysis between academic and private practices. *Journal of Periodontology* **83**:301-311.
21. Fisher, S., Kells, L., Picard, J.P., Gelskey, S.C., Singer, D.L., Lix, L. & Scott, D.A. (2008) Progression of periodontal disease in a maintenance population of smokers and non-smokers: a 3-year longitudinal study. *Journal of Periodontology* **79**:461-468.
22. Jansson, L. & Lavsted, S. (2002) Influence of smoking on marginal bone loss and tooth loss – a prospective study over 20 years. *Journal of Clinical Periodontology* **29**:750-756.
23. Jimenez, M., Hu, F.B., Marino, M., Li, Y. & Joshipura K.J. (2012) Type 2 diabetes mellitus and 20 year incidence of periodontitis and tooth loss. *Diabetes Research and Clinical Practice* **98**:494-500.
24. Johannsen, A., Susin, C. & Gustafsson, A. (2014) Smoking and inflammation: evidence for a synergistic role in chronic disease. *Periodontology 2000* **64**:111-128.
25. Kaldahl, W.B., Johnson, G.K., Patil, K.D. & Kalkwarf, K.L. (1996) Levels of cigarette consumption and response to periodontal therapy. *Journal of Periodontology* **67**:675-681.
26. Kaldahl, W.B., Kalkwarf, K.L., Patil, K.D., Molvar, M.P. & Dyer, J.K. (1996) Long-term evaluation of periodontal therapy: II. Incidence of sites. Breaking down. *Journal of Periodontology* **67**:103-108.
27. König, J., Plagmann., H.C., Rühling, A. & Kocher, T. (2002) Tooth loss and pocket probing depths in a compliant periodontally treated patients: a retrospective analysis. *Journal of Clinical Periodontology* **29**:1092-1100.
28. Leung WK, Ng DKC, Jin L, Corbet EF. (2006) Tooth loss in treated periodontitis patients responsible for their supportive care arrangements. *Journal of Clinical Periodontology* **33**:265-275.
29. Machtei, E.E., Hausmann, E., Dunford, R., Grossi, S., Ho, A., Davis, G., Chandler, J., Zambon, J. & Genco, R.J. (1999) Longitudinal study of predictive factors for periodontal disease and tooth loss. *Journal of Clinical Periodontology* **26**: 374-380.

30. Mendoza, A.R., Newcomb, G.M. & Nixon, K.C. (1991) Compliance with supportive periodontal therapy. *Journal of Periodontology* **62**:731-736.
31. Muzzi, L., Nieri, M., Cattabriga, M., Rotundo, R., Cairo, F. & Pini Prato, G.P. (2006) The potential prognostic value of some periodontal factors for tooth loss: a retrospective multilevel analysis on periodontal patients treated and maintained over 10 years. *Journal of Periodontology* **77**:2084-2089.
32. Papantonopoulos, G.H. (2004) Effect of periodontal therapy in smokers and non-smokers with advanced periodontal disease: results after maintenance therapy for a minimum of 5 years. *Journal of Periodontology* **75**:839-843.
33. Ramseier, C.A., Kobrehel, S., Staub, P., Sculean, A., Lang, N.P. & Salvi, G.E. (2014) Compliance of cigarette smokers with scheduled visits for supportive periodontal therapy. *Journal of Clinical Periodontology* **41**:473-480.
34. Ramseier, C.A., Mirra, D., Schütz, C., Sculean, A., Lang, N.P., Walter, C. & Salvi, G.E. (2015) Bleeding on probing as it relates to smoking status in patients enrolled in supportive periodontal therapy for at least 5 years. *Journal of Clinical Periodontology* **42**:150-159.
35. Ravald, N. & Johansson, C.S. (2012) Tooth loss in periodontally treated patients. A long-term study of periodontal disease and root caries. *Journal of Clinical Periodontology* **39**:73-79.
36. Tonetti, M.S., Steffen, P., Muller-Campanile, V., Suvan, J. & Lang, N.P. (2000) Initial extractions and tooth loss during supportive care in a periodontal population seeking comprehensive care. *Journal of Clinical Periodontology* **27**:824-83.

Artigo 2:**Efeito da cooperação durante a terapia de manutenção periodontal nos níveis de bactérias associadas com periodontite: um estudo prospectivo de 6 anos****RESUMO**

Objetivo: Está bem estabelecido que a cooperação regular durante a terapia de manutenção periodontal (TMP) mantém a estabilidade dos parâmetros clínicos periodontais obtidos depois da terapia periodontal ativa (TPA). Entretanto, até o momento, nenhum estudo relacionou níveis de bactérias subgengivais ao grau de cooperação dos indivíduos em TMP. Assim, este estudo acompanhou indivíduos em TMP durante 6 anos e avaliou longitudinalmente o efeito da cooperação dos indivíduos nos níveis de bactérias associadas à periodontite e sua relação com a condição periodontal.

Metodologia: De um estudo coorte prospectivo com 212 participantes em TMP, 91 foram considerados elegíveis. Desse total, 28 indivíduos cooperadores regulares (CR) foram randomizados e pareados pelo gênero e idade a 28 indivíduos cooperadores irregulares (CI). Exame clínico periodontal completo e amostras microbiológicas foram obtidas em 5 tempos: T1 (anterior à TPA), T2 (após a TPA), T3 (2 anos), T4 (4 anos) e T5 (6 anos). A quantificação de bactérias em carga total e dos níveis de *Actinomyces naeslundii*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tanerella forsythia* e *Treponema denticola* foi executada pela reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR).

Resultados: CR apresentou menor perda dental e melhores condições clínicas e microbiológicas em todas as avaliações quando comparado a CI. CI apresentou maior carga bacteriana total e maiores níveis de *T. denticola*. Além disso, a carga bacteriana total foi positivamente associada com índice de placa e sangramento à sondagem entre CI, enquanto níveis de *A. naeslundii*, *T. forsythia*, *T. denticola* foram negativamente associados com nível clínico de inserção (4-5 mm) entre CR.

Conclusão: A cooperação do indivíduo durante a TMP contribuiu para a estabilidade da condição clínica periodontal e sustentou os benefícios microbiológicos advindos da TPA durante o período de 6 anos.

Palavras-chave: Terapia de manutenção periodontal; cooperação; biofilme; patógenos bacterianos; fator de risco; progressão.

Título curto: Níveis de bactérias em terapia de manutenção periodontal

Sentença sumária: Visitas de re-chamadas regulares, durante terapia de manutenção periodontal, sustentaram benefícios microbiológicos alcançados após terapia periodontal ativa durante 6 anos.

INTRODUÇÃO

Estudos têm demonstrado que a doença periodontal (DP) pode ser tratada com sucesso pela terapia não cirúrgica e cirúrgica.¹⁻³ Entretanto, sem um programa regular de terapia de manutenção periodontal (TMP) incluindo reavaliações clínicas periódicas, adequado controle do biofilme dental e reforços na higiene bucal, os benefícios da terapia periodontal ativa (TPA) não podem ser mantidos.⁴⁻⁸ Cooperadores regulares (CR) apresentam menor recorrência e progressão de periodontite e perda dental comparados aos cooperadores irregulares (CI).⁷⁻⁹

Recentes revisões sistemáticas apontaram que estudos avaliando os resultados clínicos periodontais durante a TMP são numerosos.¹⁰⁻¹¹ Entretanto, poucos estudos têm focado nas alterações microbiológicas ao longo do tempo durante a TMP.¹²⁻¹⁷

A compreensão dos resultados da TMP sob uma perspectiva microbiológica é relevante e oportuna, uma vez que a doença periodontal começa e/ou progride quando a homeostase do biofilme subgengival é rompida.¹⁸⁻²⁰ Espécies bacterianas como *Porphyromonas gingivalis*, *Tanarella forsythia* e *Treponema denticola* apresentam uma forte correlação com os indicadores clínicos de periodontite.²⁰⁻²² Após a TPA, essas bactérias associadas à periodontite diminuem em níveis, proporções e prevalência.²³⁻²⁸ No entanto, até o presente momento, a cooperação do indivíduo durante a TMP não foi relacionada aos níveis de bactérias subgengivais.

Adicionalmente, a periodontite está diretamente relacionada a um biofilme polimicrobiano complexo.^{16,29} Esse microbioma, embora relativamente estável, apresenta intra e inter variações individuais ao longo do tempo que são determinadas por múltiplos fatores,^{16,30,31} incluindo as intervenções terapêuticas.³⁰ Portanto, é hipotetizado que mudanças favoráveis na microbiota subgengival podem ocorrer entre CR em comparação a CI durante a TMP.

É importante ressaltar que, de acordo com o nosso conhecimento, este é o primeiro estudo com um desenho prospectivo que relaciona a cooperação ao longo do tempo durante a TMP com os níveis de bactérias subgengivais. Neste sentido, o objetivo do presente estudo foi avaliar longitudinalmente durante 6 anos o efeito da cooperação em TMP nos níveis das bactérias *A. naeslundii*, *P. gingivalis*, *T. forsythia* e *T. dentícola* e sua correlação com a condição periodontal.

METODOLOGIA

Desenho do estudo e estratégia amostral

A amostra deste estudo coorte prospectivo foi recrutada de um estudo coorte de 212 indivíduos, de 23 a 70 anos de idade, que foram incluídos no programa de TMP e monitorados em uma clínica odontológica privada na cidade de Belo Horizonte – Brasil (de agosto/2006 a fevereiro/2014), durante 6 anos em rechamadas consecutivas para consultas de TMP. O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (protocolo #060/05) (ANEXO 1). Todos os indivíduos participantes assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido antes de iniciar sua participação e os direitos dos indivíduos foram protegidos em todos os momentos.

Inicialmente, os indivíduos com boa saúde geral que tinham sido submetidos a TPA (compreendendo procedimentos não cirúrgicos e/ou cirúrgicos) foram incluídos na amostra de acordo com os seguintes critérios: (a) diagnóstico de periodontite crônica moderada a avançada³² (excluindo qualquer possibilidade de casos de periodontite agressiva), com pelo menos 4 sítios com profundidade de sondagem (PS) \geq 6mm e nível clínico de inserção (NCI) \geq 4mm, sangramento à sondagem (SS) e/ou supuração (SU) e evidência radiográfica de perda óssea anterior à TPA; (b) completa TPA em um período inferior a 4 meses anteriormente à entrada no programa da TMP e (c) presença de pelo menos 14 dentes na cavidade bucal.⁶

A condição clínica periodontal e a perda dental desse estudo coorte prospectivo de 5 anos (n = 212) foi reportado em Costa *et al.*⁸ Assim, nesse presente estudo, de acordo com o padrão de cooperação durante as visitas de TMP, os indivíduos foram classificados em cooperadores regulares (CR; n = 85 indivíduos

que foram 100% colaboradores assíduos nas consultas da TMP, com um intervalo máximo de 6 meses) e cooperadores irregulares (CI; n = 99 indivíduos que faltaram em alguma visita da TMP, mas continuaram comparecendo, irregularmente, com um intervalo máximo de 18 meses).³ Durante esse período de 6 anos de acompanhamento, 28 indivíduos foram perdidos.

Assim, em uma análise dos dados *post hoc*, dos 85 CR e 99 CI, 93 foram excluídos do estudo microbiológico pelas seguintes razões: uso de antimicrobiano durante o período inferior a 3 meses anteriormente à última visita para TMP (n = 34); fumantes e ex-fumantes (n = 41) e diabéticos (n = 18). Finalmente, de 44 CR e 47 CI elegíveis, 28 CR foram randomizados e pareados pelo gênero e idade a 28 CI. Grupos foram pareados com o intuito de minimizar os efeitos de confundimento do gênero e idade. Tabagismo, diabetes, idade e gênero foram controlados, pois são reconhecidos fatores de confundimento. Portanto, o presente estudo compreendeu dois grupos: 28 CR e 28 CI (Figura 1). O cálculo amostral foi realizado considerando as mudanças na PS ($\geq 4\text{mm}$) como o resultado primário para a recorrência da periodontite. Considerando um nível de significância de 5%, poder de 80% e um mínimo de 15% de diferença entre os grupos em relação às mudanças na PS (valores médios), um número de ~23 indivíduos por grupo foi determinado como necessário. Alterações na contagem bacteriana foram determinadas como o resultado secundário, baseadas na média de contagem bacteriana *posteriori* encontrada no presente estudo. É importante destacar que o coeficiente de variação para a contagem de bactérias no presente estudo foi ~15%, indicando precisão dos resultados do estudo.

Coleta de dados

Os dados clínicos foram coletados em 5 tempos: T1 (anterior à TPA), T2 (após a TPA), T3 (última visita em 2 anos), T4 (última visita em 4 anos) e T5 (última visita em 6 anos). Foi realizado um exame clínico periodontal de boca toda, e os dados relacionados ao índice de placa (IP)³³, profundidade de sondagem (PS), nível clínico de inserção (NCI) e sangramento à sondagem (SS) foram registrados em 4 sítios periodontais, por dente, com a sonda periodontal[‡] (sondagem circunferencial, anotando os valores mais altos de cada sítio mesial, distal, vestibular e lingual). A metodologia para a coleta dos dados e procedimentos clínicos periodontais foram as

[‡] PCPUNC15BR and PQ2NBR, Hu-Friedy®, Chicago, USA

mesmas reportadas por Lorentz *et al.*⁶ e Costa *et al.*³ Durante as consultas da TMP, os seguintes procedimentos foram realizados: (a) instruções em higiene bucal; (b) profilaxia coronal e aplicação tópica de flúor e (c) debridamento mecânico não cirúrgico ou cirúrgico, quando apropriado.

Dados relacionados ao gênero, idade, condição habitacional, nível educacional, tabagismo (de acordo com Lang & Tonetti)³⁴ e diabetes (segundo a American Diabetes Association)³⁵ foram coletados para todos os indivíduos. Em adição, todos os dados que poderiam apresentar mudanças temporais foram confirmados na última visita da TMP.

Determinação da recorrência de periodontite e necessidade de retratamento

Sítios com recorrência da periodontite depois da TPA, que apresentaram PS ≥ 4 mm e NCI ≥ 3 mm, juntamente com a persistência e/ou presença de SS e/ou supuração, durante qualquer das subseqüentes avaliações de rechamadas,^{3,5} foram determinados como tendo necessidade de retratamento. Indivíduos diagnosticados com recorrência ou tendo sítios com PS residual foram primeiro retratados com debridamento mecânico subgingival (tratamento não cirúrgico). Depois do período de reavaliação (45 a 60 dias), sítios com persistência de PS ≥ 4 mm e NCI ≥ 3 mm foram submetidos a procedimentos cirúrgicos (preferencialmente cirurgia a retalho de Widman modificado). Técnicas regenerativas, biomateriais e antibióticos não foram usados nos procedimentos cirúrgicos.

Calibração inter e intra-examinador

Todas as entrevistas, exames e procedimentos clínicos periodontais foram realizados por dois periodontistas treinados e calibrados (F.O.C. e E.J.P.L), aleatoriamente para CR e CI. As mensurações de PS e NCI foram registradas e repetidas dentro de um intervalo de uma semana em 10 indivíduos selecionados randomicamente de ambos os grupos no momento do exame inicial (T1) e final (T5). Os dados foram analisados por meio do teste não paramétrico de Kappa e correlação intraclasse. O coeficiente de Kappa para ambos intra e interexaminadores, tanto quanto os coeficientes de correlação intraclasse foram maiores que 0,87.

Análise e coleta microbiológica

Amostras subgingivais foram coletadas no T1, T2, T3, T4 e T5 em oito sítios periodontais, dois em cada quadrante (sítios periodontais com maior PS, associada

com SS e NCI foram avaliados em cada tempo), para cada indivíduo, como descrito previamente por nosso grupo.²⁷ As células bacterianas nos minitubos foram dispersadas usando um *mixer* com uma velocidade máxima por um minuto e o resultado da suspensão bacteriana foi estocado em um freezer a -80°C até o processamento laboratorial.

O genoma do DNA (gDNA) foi extraído e purificado do *pellet* usando um mini kit[§] DNA comercial, de acordo com as recomendações dos fabricantes. A quantificação do número total de células bacterianas e níveis de *Actinomyces naeslundii*; *Tannerella forsythia*; *Porphyromonas. Gingivalis* e *Treponema denticola*, foi executada pela reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR) usando um teste TaqMan^{**}. Os seguintes primers foram projetados usando a versão online do software primer[¶] e foram descritos previamente pelo nosso grupo³⁶: *A. naeslundii* (sequência para a frente: GTC TCA GTT CGG ATC GGT GT; sequência reversa: CCG GTA CGG CTA CCT TGT TA; primer: TAC GTT CTC GGG CCT TGT AC); *T. denticola* (sequência para a frente: CCG AAT GTG CTC ATT TAC ATA AAG GT; sequência reversa: GAT ACC CAT CGT TGC CTT GGT; primer: 6FAMATG GGC CCG CGT CCC ATT AGC TAMRA); *P. gingivalis* (sequência para a frente: ACC TTA CCC GGG ATT GAA ATG; sequência reversa: CAA CCA TGC AGC ACC TAC ATA GAA; primer: VICATG ACT GAT GGT GAA AAC CGT CTT CCC TTC TAMRA); *T. forsythia* (sequência para a frente: AGC GAT GGT AGC AAT ACC TGT C; sequência reversa: TTC GCC GGG TTA TCC CTC; primer: 6FAMCAC GGG TGA GTA ACGTAMRA); e Universal para a contagem total (carga total) do número de bactérias (sequência para a frente: TGG AGC ATG TGG TTT AAT TCG A; sequência reversa: TGC GGG ACT TAA CCC AAC A; primer: VICCAC GAG CTG ACG ACA AGC CAT GCATAMRA) em um sistema^{@##} de PCR Fast Real Time ABI 7500, seguindo as instruções do fabricante em reações de 20 ul. As condições de qPCR foram: 50°C durante 2 minutos, 95°C durante 10 minutos, 40 ciclos de 95°C durante 15 segundos e 60°C durante 1 minuto.

A quantidade absoluta dos organismos alvo foi determinada pela plotagem *Cycle threshold* (Ct) valor obtido de cada amostra clínica diante de uma curva padrão generalizada com concentrações conhecidas de referência do gDNA de

[§] PureLink® Genomic, Life Technologies, Carlsbad, USA.

^{##}Life Technologies, Carlsbad USA.

cepas bacterianas em 10 dobras de diluição em série (10^2 - 10^7 cells). Um controle negativo (PCR purificado-água graduada ao invés de modelo de DNA) foi incluído em todas as reações de PCR.

Análise estatística

O teste não paramétrico de Mann-Whitney foi utilizado na comparação entre os grupos CR e CI em relação aos dados microbiológicos e clínicos em cada um dos 5 tempos do estudo (T1 a T5). As comparações entre os 5 tempos do estudo em relação aos dados microbiológicos e clínicos em cada um dos grupos do estudo foi realizada pelo teste de Friedman. Valores médios foram obtidos pela soma dos valores da PS, NCI e SS de todos os sítios divididos pelo número de sítios avaliados. A porcentagem refere ao total de sítios afetados em relação ao número total de sítios presentes em todos os tempos de avaliação. Para a análise microbiológica foi calculada a mudança em percentual nos tempos T3, T4 e T5 em relação ao resultado observado no T2 (após a TPA), considerando-se a seguinte fórmula:

$$\frac{\text{Resultado (T3 ou T4 ou T5)} - \text{Resultado T2}}{\text{Resultado T2}} \times 100\%$$

Deve ser salientado que os dados microbiológicos no T1 foram apresentados apenas para caracterizar a condição inicial microbiológica (anterior à TPA; sem comparação com os outros tempos). Os indivíduos foram as unidades de análises. A *correlação de Spearman (r)* foi utilizada para avaliar a relação entre os níveis bacterianos e a condição periodontal entre os grupos e tempos de avaliação. Todos os resultados foram analisados no programa estatístico^{§§} e foram considerados significativos para uma probabilidade de significância inferior a 5% ($p < 0,05$), tendo, portanto, pelo menos 95% de confiança nas conclusões apresentadas.

RESULTADOS

Após a aplicação dos critérios de exclusão selecionados, randomização, idade e pareamento por gênero, a população final desse estudo microbiológico foi

^{§§}SPSS 17.0 – Statistical Package for Social Sciences, Version for Windows - SPSS Inc., Chicago, IL.

composta por 28 CR e 28 CI. Devido à estratégia de pareamento dos grupos, no *baseline* a média de idade foi similar nos dois grupos CR (52,5±7,3 anos) e CI (54,6±7,5 anos) e uma igual distribuição por gênero (50% do gênero feminino [n = 14/grupo] e 50% do gênero masculino [n = 14/grupo]). Em relação ao número médio de visitas para TMP, foi reportada em CR uma média de 12,5 (±1,1), enquanto CI apresentou média de apenas 4,9 (±0,8) visitas, no período de 6 anos de acompanhamento. Quando CR e CI foram comparados (análise intergrupos), os resultados indicaram que CR mantiveram condições clínicas periodontais mais saudáveis. No período de manutenção (T3, T4 e T5) CR apresentaram melhoras mais expressivas no IP e na porcentagem de sítios com PS 4-5mm, PS>5mm e SS. Nenhuma diferença foi observada entre CR e CI em relação ao NCI (Tabela 1).

Entre CI, o IP e a porcentagem de sítios periodontais apresentando PS >5mm e SS aumentou em diferentes tempos do estudo (Tabela 1; análise intra-grupos). Ao contrário, entre CR apenas um aumento foi observado. A porcentagem de sítios apresentando PS >5mm foi maior em T4. Entretanto, no T5 essa porcentagem diminuiu e retornou a valores similares àqueles observados após a TPA (T2).

Os grupos foram homogêneos em relação ao número de dentes presentes no T1 (CR=23,9 ± 2,9 and CI = 24,0 ± 2,8; p=0,42) e T2 (CR=23,7 ±2,8 e CI=23,5 ±2,9; p=0,47). Durante os 6 anos de monitoramento (entre T2 eT5), o grupo CR perdeu 12 dentes (média de 0,7 ±0,8 dentes perdidos) e o grupo CI perdeu 39 dentes (média de 1,8 ±1,4 dentes perdidos), refletindo uma maior taxa de perda dental entre indivíduos CI (p=0,002).

Em relação aos dados microbiológicos, a análise intra-grupos mostrou que a carga bacteriana total permaneceu inalterada no CR durante o estudo. Por outro lado, no CI a redução da carga bacteriana total foi observada após a terapia (T2) e houve aumento ao longo do tempo (T3, T4 e T5) (Tabela 2).

Adicionalmente, a análise intergrupos (Tabela 2) demonstrou que após a TPA (T2) os parâmetros microbiológicos não apresentaram diferença entre CI e CR. Entretanto, a carga bacteriana total e os níveis de *T. denticola* foram maiores entre CI no 2º, 4º e 6º ano de observação. *A. naeslundii* manteve níveis similares em ambos os grupos ao longo do tempo. No CI, entre as espécies bacterianas pesquisadas, *T. forsythia* demorou o maior tempo para aumentar e *T. denticola* apresentou um aumento progressivo através dos anos. No CR, *P. gingivalis*

apresentou níveis mais baixos no T2 com uma redução adicional observada no T4. Curiosamente, os níveis de *T. denticola* diminuíram apenas no T3 demonstrando os adicionais benefícios bacterianos alcançados com os procedimentos de manutenção periodontal (Tabela 2). A Figura 2 ilustra a diferença microbiológica (2A) e clínica (2B) entre os grupos CR e CI. Relativa homogeneidade entre os grupos é observada apenas no T2. Melhoras clínicas providas pela TPA tenderam a ser mantidas ao longo do tempo no grupo CR. Por outro lado, a condição clínica no grupo CI tendeu a se tornar pior ao longo do tempo. Microbiologicamente, também pode ser observada uma tendência de reduções adicionais no grupo CR em T3, T4 e/ou T5.

Associações entre parâmetros clínicos e microbiológicos foram determinadas pelo teste de correlação de Spearman. A maioria das correlações de significância foram moderadas. Correlações positivas foram mais frequentes no grupo CI enquanto correlações negativas foram mais frequentes no grupo CR. No 6^o ano de manutenção nenhuma correlação significativa foi observada entre os parâmetros clínicos ou microbiológicos. No 2^o e 4^o ano a carga bacteriana total foi positivamente associada com Índices de placa e sangramento no CI. Também no 2^o e 4^o ano, *A. naeslundii*, *T. forsythia* e *T. denticola* foram negativamente associadas com a categoria de NCI (4-5mm) no grupo CR (Tabela 3).

DISCUSSÃO

A periodontite é uma doença crônica de natureza episódica, cuja recidiva é uma grande preocupação dos pacientes e profissionais.³ No entanto, devido ao alto custo, logística e dificuldades de execução, poucos estudos longitudinais têm avaliado o comportamento dos pacientes periodontais ao longo do tempo.^{3,6-8,14} Adicionalmente, a influência da cooperação nos resultados clínicos e microbiológicos também tem sido pouco investigada. Portanto, a definição de intervalos apropriados entre as visitas de TMP é parcialmente empírica.

Dois perfis distintos de pacientes foram acompanhados nesse estudo: aqueles que permaneceram aderentes à TMP após TPA e aqueles que participaram irregularmente nas visitas de manutenção. Deve-se destacar que fatores de confusão importantes foram controlados na presente amostra (idade, gênero, tabagismo e diabetes). O tabagismo e o controle metabólico deficiente do diabetes

influenciam fortemente a progressão da periodontite.^{34,37,38} Além da avaliação do grau de cooperação, deve ser dada especial atenção às observações sobre o quarto (T4) e o sexto ano (T5) de monitorização desse coorte. Deve ser ressaltado que nos estudos em TMP os tempos de acompanhamento foram menores: 3 meses¹⁷, 9 meses¹², 12 meses¹⁵, 2 anos¹⁶ ou 3 anos¹⁴. Ainda não se sabia, até agora, se a TMP seria suficiente para manter a condição periodontal ao longo de seis anos.

Muitos estudos têm relatado baixas taxas de cooperação e têm enfatizado sua importância na manutenção da estabilidade periodontal.^{6,11,39,40} Curiosamente, todas as estratégias para aumentar a adesão às visitas de TMP (instruções em higiene bucal, escritas e em vídeo) também estavam disponíveis para todos participantes. Além disso, não houve custos para os indivíduos participarem desta pesquisa. Assim, observa-se que a adesão e a cooperação envolvem inúmeros fatores, incluindo traços de personalidade, aspectos psicoemocionais e atividades profissionais.^{7,10}

No presente estudo, o grupo CI apresentou média de 4,9 (\pm 0,8) visitas, enquanto no grupo CR a média foi de 12,5 (\pm 1,1) visitas, mostrando a influência positiva nos parâmetros periodontais monitorados. Essa diferença na cooperação foi um fator determinante para a pior condição clínica e microbiológica observada entre os CI. No período de manutenção, CR mostrou melhorias mais expressivas no IP e porcentagem de PS 4-5mm, PS > 5mm, SS e perda dental significativamente menor. Em geral, o grupo RC apresentou um melhor estado clínico e microbiológico do que o CI. Desta forma, os achados do presente estudo corroboram os achados clínicos^{5,6,8,39,40}, microbiológicos^{12-16,42} e de perda dental que determinaram o papel crucial da TMP para uma boa saúde periodontal. Nenhuma diferença foi observada entre CR e CI em relação ao NCI. Entretanto, a análise isolada do NCI pode refletir a perda de inserção periodontal passada, em vez da atividade da doença.^{5,41}

Os resultados do presente estudo demonstraram que a carga bacteriana total pode permanecer nos níveis pós-terapia por longos períodos de tempo. Essa manutenção mostrou ser compatível com alterações benéficas nos parâmetros clínicos periodontais. Demirel & Efeodlu³⁹, Demetriou *et al.*⁴⁰, Lorentz *et al.*⁶ e Costa *et al.*⁷ têm enfatizado previamente que os indivíduos cooperadores apresentaram menor progressão da periodontite do que os não cooperadores.

Está bem estabelecido na literatura que o controle do biofilme é um fator determinante para o sucesso da TMP.^{5,7,10,11} No presente estudo, o grupo CI apresentou valores significativamente mais elevados que os do grupo CR em todas as fases do estudo, com exceção do *baseline*. Além disso, o grupo CI apresentou um aumento significativo no IP nas três últimas fases do estudo (T3, T4 e T5). Estudos prévios^{6,7,37} reforçaram a importância da motivação constante e das instruções de higiene bucal durante a TMP. Curiosamente, houve semelhanças entre os padrões de IP e SS ao longo do tempo (Figura 2B). No *baseline*, os grupos CR e CI não diferiram em relação à percentagem de sítios com SS, enquanto nos outros tempos de avaliação, valores significativamente menores foram observados no grupo CR. Vários estudos reportaram que a ausência de SS durante as visitas de TMP tem sido um bom preditor da estabilidade periodontal.^{7,43,44} Quando comparado ao grupo CI, o grupo CR apresentou níveis mais baixos de bactérias (*P. Gingivalis* e *T. denticola*), espécies tipicamente associadas ao SS e à atividade da doença periodontal.^{14,18} Esses resultados foram corroborados por estudos prévios.^{44,45}

As bolsas periodontais são ambientes propícios ao desenvolvimento do biofilme subgingival. O grupo CR apresentou menor percentagem de sítios com PS entre 4-5mm nas avaliações após TPA e conseguiu manter o percentual de bolsas profundas inalterado, enquanto o grupo CI apresentou um aumento no segundo ano de monitoramento. Outros estudos^{4,46} também reportaram melhoras de PS em indivíduos durante a TMP, que foram considerados fundamentais para a manutenção da estabilidade periodontal.^{3,10} Além das reduções na percentagem de sítios com PS > 4mm, o grupo CR também apresentou redução significativa na carga bacteriana total, que foi mantida ao longo do tempo. Esse resultado é muito relevante porque, na transição da saúde para a doença, as alterações quantitativas ocorrem primeiro^{18,19} e as mudanças qualitativas só são observadas mais tarde no biofilme.²⁰ No estudo de Teles *et al.*¹⁴, com 55 indivíduos periodontalmente saudáveis e 57 indivíduos com periodontite que foram clinicamente e microbiologicamente monitorados por 3 anos, sugeriu-se que um maior risco para a progressão da periodontite estava relacionado à maior exposição a bactérias associadas à periodontite. Esse fato também foi observado por outros estudos^{15,41,48}. O presente estudo tem algumas limitações, como a avaliação de um número reduzido de espécies bacterianas de alguns sítios periodontais, além do uso de

qPCR que não pode distinguir células bacterianas viáveis do DNA extracelular e pode superestimar contagens bacterianas.⁴⁹ Entretanto, existem grandes desafios na interpretação de estudos sobre o biofilme subgingival de forma multifatorial. No entanto, é importante ressaltar que qualquer alteração no ambiente pode ter um impacto sobre a microbiota, que por sua vez é capaz de induzir mudanças na resposta do hospedeiro, gerando um ciclo de amplificação do processo da doença periodontal^{22,30}. Assim, a TMP pode ser uma estratégia importante para gerar impactos positivos na microbiota subgingival.

Nesse sentido, durante o período de acompanhamento de 6 anos, os indivíduos do grupo CR apresentaram melhores condições periodontais, tanto clínicas como microbiológicas, e menor perda dental, demonstrando a importância de visitas regulares, motivação constante e reinstrução durante a TMP. Além disso, uma vez que os indivíduos são devidamente monitorizados durante a TMP, processos inflamatórios incipientes podem ser detectados e tratados antes da progressão da doença.

Em conclusão, a cooperação do indivíduo durante a TMP contribuiu para a estabilidade da condição clínica periodontal e sustentou os benefícios microbiológicos advindos da TPA durante o período de 6 anos.

Agradecimentos

Os autores (Thaís Riberal Vieira, Fernando Oliveira Costa, Maria Cássia Ferreira Aguiar, Sheila Cavalca Cortelli, Luís Otávio Miranda Cota e José Roberto Cortelli) agradecem à Sra. Ana Cláudia Couto Abreu por seu suporte na análise estatística (consultoria estatística privada), Dr. Eugênio José Pereira Lages, Sra. Milene Aparecida Mendes da Rocha, Sra Elizabeth Dolher e Sra. Wilciane Machado da Silva (clínica particular de Belo Horizonte, Brasil) por sua assistência nas visitas de terapia de manutenção periodontal e monitoramento de pacientes periodontais.

REFERÊNCIAS

1. Claffey N, Polyzois I, Ziaka P. An overview of non-surgical and surgical therapy. *Periodontol.* 2000;36:35-44.
2. Harrel SK, Nunn ME. Longitudinal comparison of the periodontal status of patients with moderate and severe periodontal disease receiving no treatment,

- non-surgical treatment, and surgical treatment utilizing individual sites for analysis. *J Periodontol.* 2001;72:1509-1519.
3. Costa FO, Cota LO, Cortelli, JR. et al Surgical and non-surgical procedures associated with recurrence of periodontitis in periodontal maintenance therapy: 5-year prospective study. *PLoS One* 2015;23:e0140847.
 4. Fardal O. Interviews and assessments of returning non-compliant periodontal maintenance patients. *J Clin Periodontol.* 2006;33:216-220.
 5. Matuliene G, Studer R, Lang NP, et al. Significance of periodontal risk assessment in the recurrence of periodontitis and tooth loss. *J Clin Periodontol.* 2010;37:191-199.
 6. Lorentz TCM, Cota LOM, Cortelli JR, Vargas AMD, Costa FO. Prospective study of complier individuals under periodontal maintenance therapy: analysis of clinical periodontal parameters, risk predictors and the progression of periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2009;36:58–67.
 7. Costa FO, Miranda Cota LO, Pereira Lages EJ, et al. Oral impact on daily performance, personality traits, and compliance in periodontal maintenance therapy. *J Periodontol.* 2011;82:1146-1154.
 8. Costa FO, Lages EJP, Cota LOM, et al. Tooth loss in individuals under periodontal maintenance therapy: 5-year prospective study. *J Periodont Res* 2014;49:121-128.
 9. Renvert S, Persson GR. Supportive periodontal therapy. *Periodontol.* 2000 2004;36:179–195.
 10. Lee CT, Huang HY, Sun TC, Karimbux N. Impact of patient compliance on tooth loss during supportive periodontal therapy: a systematic review and meta-analysis. *J Dent Res* 2015;94:777-786.
 11. Armitage GC, Xenoudi P. Post-treatment supportive care for the natural dentition and dental implants. *Periodontol.* 2000 2016;71:164-184.
 12. Colombo AP, Teles RP, Torres MC, et al. Effects of non-surgical mechanical therapy on the subgingival microbiota of Brazilians with untreated chronic periodontitis: 9-month results. *J Periodontol.* 2005;76:778-84.
 13. Agerbaek MR, Lang NP, Persson GR. Microbiological composition associated with interleukin-1 gene polymorphism in subjects undergoing supportive periodontal therapy. *J Periodontol.* 2006;77:1397-1402.

14. Teles R, Socransky SS, Haffajee AD. Disease progression in periodontally healthy and maintenance subjects. *J Periodontol.* 2008;79:784-794.
15. Byrne SJ, Dashper SG, Darby IB, Adams GG, Hoffmann B, Reynolds EC. Progression of chronic periodontitis can be predicted by the levels of *Porphyromonas ginigvalis* and *Treponema denticola* in subgingival plaque. *Oral Microbiol Immunol.* 2009;24:469-477.
16. Charalampakis G, Dahlén G, Carlén A, Leonhardt A. Bacterial markers vs. clinical markers to predict progression of chronic periodontitis: a 2-yr prospective observational study. *Eur J Oral Sci.* 2013;121:394-402.
17. Cosyn J, Princen K, Miremadi R, Decat E, Vaneechoutte M, De Bruyn H. A double-blind randomized placebo-controlled study on the clinical and microbial effects of an essential oil mouth rinse used by patients in supportive periodontal care. *Int J Dent Hyg.* 2013;11:53-61.
18. Haffajee AD, Cugini MA, Tanner A. et al. Subgingival microbiota in healthy, well-maintained elder and periodontitis subjects. *J Clinical Periodontol.* 1998;25:346-353.
19. Abusleme L, Dupuy AK, Dutzan N. et al. The subgingival microbiome in health and periodontitis and its relationship with community biomass and inflammation. *Int Soc Microbial Ecol J.* 2013;7:1016-1025.
20. Diaz PI, Hoare A, Hong B.Y. Subgingival microbiome shifts and community dynamics in periodontal diseases. *J Dent Californian Assoc.* 2016;44:421-35.
21. Haffajee AD, Socransky SS. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontol.* 2000 1994;5:78-111.
22. Loozen G, Ozcelik O, Boon N, et al. Inter-bacterial correlations in subgingival biofilms: a large-scale survey. *J Clin Periodontol.* 2014;41:1-10.
23. Haffajee AD. Systemic antibiotics: to use or not use in the treatment of periodontal infections. That is the question. *J Clin Periodontol.* 2006;33:359-361.
24. Oteo A, Herrera D, Figuero E, O'Connor A, Gonzalez I, Sanz M. Azithromycin as an adjunct to scaling and root planing in the treatment of *Porphyromonas gingivalis*-associated periodontitis: a pilot study. *J Clin Periodontol.* 2010;37:1005-1015.
25. Sampaio E, Rocha M, Figueiredo LC, et al. Clinical and microbiological effects

- of azithromycin in the treatment of generalized chronic periodontitis: a randomized placebo-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2011;38:838–846.
26. Silva MP, Feres M, Siroto TA *et al.* Clinical and microbiological benefits of metronidazole alone or with amoxicillin as adjuncts in the treatment of chronic periodontitis: a randomized placebo-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2011; 38:828–837.
27. Fonseca DC, Cortelli JR, Cortelli SC *et al.* Clinical and microbiological evaluation of scaling and root planing per quadrant and one-stage full mouth disinfection associated with azithromycin or chlorhexidine: a clinical randomized controlled trial. *J Periodontol.* 2015;86:1340-1351.
28. Tamashiro NS, Duarte PM, Miranda TS. *et al.* Amoxicillin plus metronidazole therapy for patients with periodontitis and type 2 diabetes: a 2-year randomized controlled trial. *J Dental Res.* 2016;95:829-36.
29. Teles RP, Haffajee AD, Socransky SS. Microbiological goals of periodontal therapy. *Periodontol.* 2000 2006;43:180–218.
30. Marsh P., Moter A, Devine DA. Dental plaque biofilms: Communities, conflict and control. *Periodontol.* 2000 2011;55:16-35.
31. Socransky SS, Haffajee AD, Teles R, *et al.* Effect of periodontal therapy on the subgingival microbiota over a 2-year monitoring period. I. Overall effect and kinetics of change. *J Clin Periodontol.* 2013;40:771-780.
32. Armitage, G.C. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol.* 1999;4:1-6.
33. Turesky S, Gimore ND, Glickman I. Reduced plaque formation by the chloromethyl analogue of vitamin C. *J Periodontol.* 1970;41:41-43.
34. Lang NP, Tonetti MS. Periodontal risk assessment (PRA) for patients in supportive periodontal therapy (SPT). *Oral Health Preven Dentist.* 2003;1:7-16.
35. American Diabetes Association. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2003;26:S5-S20.

36. Cortelli SC, Costa FO, Rodrigues E, Cota LO, Cortelli JR. Periodontal therapy effects on nitrite related to oral bacteria: A 6-month randomized clinical trial. *J Periodontol.* 2015;86:984-94
37. Preshaw PM, Heasman PA. Periodontal maintenance in a specialist periodontal clinic and in general dental practice. *J Clin Periodontol.* 2005;32:280-286.
38. Bandyopadhyay D, Marlow NM, Fernandes JK, Leite RS. Periodontal disease progression and glycaemic control among Gullah African Americans with type 2 diabetes. *J Clin Periodontol.* 2010;37:501-509.
39. Demirel K, Efeodlu A. Retrospective evaluation of patient compliance with supportive periodontal treatment. *J Nihon Univ Sch Dent.* 1995;37:131-137.
40. Demetriou N, Tsami-Pandi A, Parashis A. Compliance with supportive periodontal treatment in private periodontal practice. A 14-year retrospective study. *J Periodontol.* 1995;66:145-149.
41. Beltrán-Aguilar ED, Eke PI, Thornton-Evans G, Petersen PE. Recording and surveillance systems for periodontal diseases. *Periodontol.* 2000 2012;60:40–53.
42. Mineoka T, Awano S, Rikimaru T, et al. Site-specific development of periodontal disease is associated with increased levels of *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia* in subgingival plaque. *J Periodontol.* 2008;79:670-676.
43. Lang NP, Adler R, Joss A, Nyman S. Absence of bleeding on probing. An indicator of periodontal stability. *J Clin Periodontol.* 1990;17:714-721.
44. Badersten A, Nilvéus R, Egelberg J. Scores of plaque, bleeding, suppuration and probing depth to predict probing attachment loss: 5 years of observation following nonsurgical periodontal therapy. *J Clin Periodontol.* 1990;17:102-107.
45. Claffey N, Polyzois I, Ziaka P. An overview of non-surgical and surgical therapy. *Periodontol.* 2000 2000;36:35-44.
46. Kocher T, König J, Dzierzon U, Sawaf H, Plagmann HC. Disease progression in periodontally treated and untreated patients – a retrospective study. *J Clin Periodontol.* 2000;27:866-872.
47. Papapanou PN, Baelum V, Luan WM *et al.* Subgingival microbiota in adult

- Chinese: prevalence and relation to periodontal disease progression. *J Periodontol.* 1997;68:651-666.
48. Holt SC, Ebersole JL. *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia*: The “red complex”, a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. *Periodontol.* 2000 2005;38:72-12.
49. Sánchez MC, Marín MJ, Figuero E, et al. Quantitative real-time PCR combined with propidium monoazide for the selective quantification of viable periodontal pathogens in an in vitro subgingival biofilm model. *J Periodontal Res.* 2014;49:20-8.

Figura 1 - Fluxograma da estratégia e seleção amostral

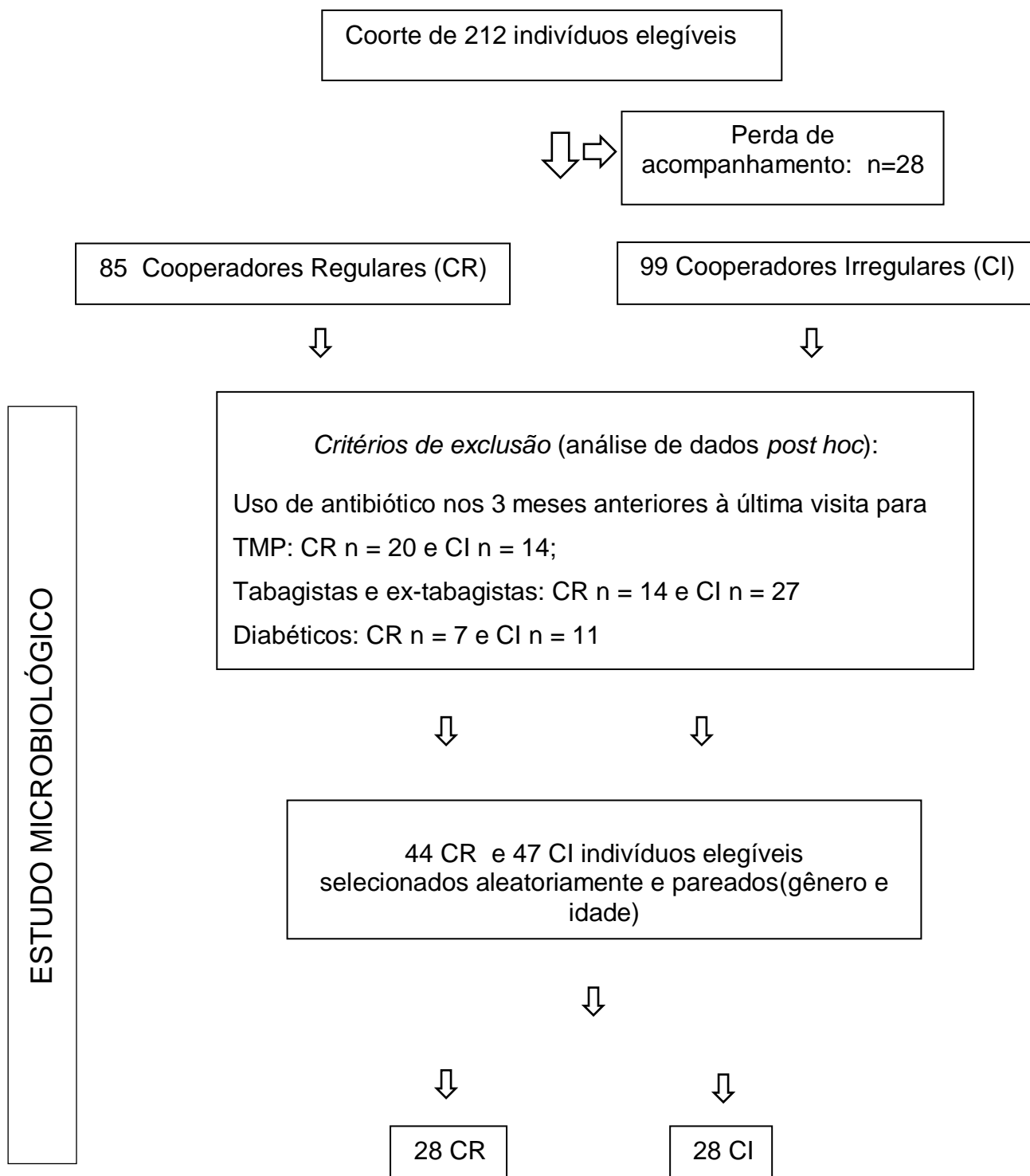


Tabela 1. Análise comparativa entre os grupos e tempos de avaliação em relação aos parâmetros clínicos periodontais.

Variável	Tempo	Grupo		p
		Irregular (CI) n=28	Regular (CR) n=28	
Índice de placa	T1	46.5 ± 9.7 (Md = 44.0)	42.2 ± 8.7 (Md = 40.5)	0.065 (CI = CR)
	T2	28.9 ± 4.0 (Md = 28.0)	26.4 ± 4.2 (Md = 25.5)	0.015 (CI > CR)
	T3	37.6 ± 6.3 (Md = 36.5)	26.6 ± 4.7 (Md = 26.0)	< 0.001 (CI > CR)
	T4	39.4 ± 7.5 (Md = 3.08)	26.7 ± 6.6 (Md = 26.0)	< 0.001 (CI > CR)
	T5	40.7 ± 8.3 (Md = 37.5)	25.6 ± 4.9 (Md = 24.0)	< 0.001 (CI > CR)
	p	< 0.001 [T ₁ > (T ₃ = T ₄ = T ₅) > T ₂]		< 0.001 [T ₁ > (T ₃ = T ₄ = T ₅ = T ₂)]
% de superfícies com PS ₄₋₅	T1	21.9 ± 10.2 (Md = 21.1)	28.8 ± 12.2 (Md = 28.5)	0.019 (CI < CR)
	T2	18.5 ± 10.6 (Md = 18.3)	11.1 ± 10.1 (Md = 9.0)	0.003 (CI > CR)
	T3	15.7 ± 9.3 (Md = 15.7)	8.5 ± 9.0 (Md = 5.6)	< 0.001 (CI > CR)
	T4	16.3 ± 7.2 (Md = 15.3)	7.3 ± 7.4 (Md = 4.9)	< 0.001 (CI > CR)
	T5	17.7 ± 7.2 (Md = 17.1)	7.1 ± 5.8 (Md = 6.1)	< 0.001 (CI > CR)
	p	0.218 [T ₁ = T ₂ = T ₃ = T ₄ = T ₅]	< 0.001 [T ₁ > T ₂ > (T ₃ = T ₄ = T ₅)]	
% de superfícies com PS _{>5}	T1	16.9 ± 10.7 (Md = 16.8)	13.9 ± 11.2 (Md = 11.7)	0.154 (CI = CR)
	T2	0.3 ± 1.0 (Md = 0.0)	0.1 ± 0.5 (Md = 0.0)	0.631 (CI = CR)
	T3	8.0 ± 5.5 (Md = 7.5)	1.1 ± 2.0 (Md = 0.0)	< 0.001 (CI > CR)
	T4	7.1 ± 5.5 (Md = 6.0)	1.3 ± 2.9 (Md = 0.0)	0.003 (CI > CR)
	T5	5.8 ± 5.7 (Md = 4.2)	0.1 ± 0.4 (Md = 0.0)	< 0.001 (CI > CR)
	p	< 0.001 [T ₁ > (T ₃ = T ₄ = T ₅) > T ₂]	< 0.001 [T ₁ > (T ₃ = T ₄) > (T ₂ = T ₅)]	
% de superfícies com NCI ₄₋₅	T1	6.7 ± 8.7 (Md = 2.7)	6.5 ± 6.9 (Md = 5.4)	0.750 (CI = CR)
	T2	5.2 ± 7.7 (Md = 2.3)	3.7 ± 4.7 (Md = 3.1)	0.848 (CI = CR)
	T3	5.6 ± 8.8 (Md = 1.5)	2.8 ± 3.3 (Md = 2.5)	0.852 (CI = CR)
	T4	4.7 ± 7.3 (Md = 0.0)	2.4 ± 2.8 (Md = 1.6)	0.606 (CI = CR)
	T5	4.6 ± 7.0 (Md = 0.0)	2.2 ± 2.7 (Md = 1.2)	0.577 (CI = CR)
	p	0.091 [T ₁ = T ₂ = T ₃ = T ₄ = T ₅]	0.012 [T ₁ > (T ₂ = T ₃ = T ₄ = T ₅)]	
% de superfícies com NCI _{>5}	T1	9.3 ± 8.0 (Md = 7.0)	9.7 ± 9.8 (Md = 6.2)	0.954 (CI = CR)
	T2	10.8 ± 8.7 (Md = 6.6)	10.7 ± 13.6 (Md = 6.9)	0.385 (CI = CR)
	T3	12.2 ± 8.1 (Md = 10.9)	11.1 ± 14.0 (Md = 7.6)	0.095 (CI = CR)
	T4	11.4 ± 8.3 (Md = 9.5)	10.5 ± 14.2 (Md = 6.8)	0.198 (CI = CR)
	T5	9.2 ± 7.4 (Md = 6.4)	10.4 ± 14.3 (Md = 7.6)	0.931 (CI = CR)
	p	0.219 [T ₁ = T ₂ = T ₃ = T ₄ = T ₅]	0.816 [T ₁ = T ₂ = T ₃ = T ₄ = T ₅]	
% de superfície com SS	T1	57.3 ± 17.3 (Md = 57.6)	51.7 ± 17.8 (Md = 55.8)	0.350 (CI = CR)
	T2	30.6 ± 15.0 (Md = 28.2)	18.6 ± 10.1 (Md = 17.4)	0.001 (CI > CR)
	T3	46.0 ± 13.0 (Md = 49.1)	20.4 ± 12.1 (Md = 19.8)	< 0.001 (CI > CR)
	T4	45.3 ± 12.9 (Md = 45.5)	22.8 ± 13.8 (Md = 18.2)	< 0.001 (CI > CR)
	T5	48.1 ± 14.7 (Md = 51.1)	23.4 ± 11.4 (Md = 21.7)	< 0.001 (CI > CR)
	p	< 0.001 [T ₁ > (T ₅ = T ₃ = T ₄) > T ₂]	< 0.001 [T ₁ > (T ₅ = T ₃ = T ₄) > T ₂]	

BASE DE DADOS: 56 pacientes → Irregular (28) e Regular (28)

Nota: os valores apresentados na tabela referem-se à $\bar{x} \pm dp$ e mediana (Md)

A probabilidade de significância na comparação entre os tempos refere-se ao teste de Friedman.

A probabilidade de significância na comparação entre os grupos refere-se ao teste de Mann-Whitney.

Tabela 2. Análise comparativa inter e intra-grupos CR e CI em relação aos dados microbiológicos ($\times 10^3$).

Variável	Tempo	Grupo		p
		Irregular (CI); n=28	Regular (CR); n=28	
Carga total	T1	15,367.9 ± 23,484.5 (Md = 6,087.7)	10,05.1 ± 18,386.9 (Md = 2.,723.8)	0.095 (IC = CR)
	T2	75.8 ± 389.5 (Md = -34.9)	-36.3 ± 85.6 (Md = -49.3)	0.334 (IC = CR)
	T3	69.4 ± 364.6 (Md = -7.0)	-4.4 ± 232.6 (Md = -46.9)	0.010 (IC > CR)
	T4	82.0 ± 226.8 (Md = 6.6)	50.6 ± 512.3 (Md = -50.6)	0.001 (IC > CR)
	T5	75.3 ± 179.5 (Md = 9.1)	-1.6 ± 160.2 (Md = -61.1)	< 0.001 (IC > CR)
	P	0.001 [T ₂ < (T ₃ = T ₄ = T ₅); T ₃ < T ₅]	0.127 [(T ₂ = T ₃ = T ₄ = T ₅)]	
<i>A. naeslundii</i>	T1	12,549.9 ± 17.,963.8 (Md = 7.729.0)	13,198.8 ± 26,640.7 (Md = 4.141.6)	0.909 (IC = CR)
	T2	258.0 ± 749.1 (Md = -9.2)	5,896.4 ± 31,281.5 (Md = -15.0)	0.281 (IC = CR)
	T3	397.4 ± 1,329.0 (Md = -15.1)	4,934.9 ± 25,874.6 (Md = -48.3)	0.117 (IC = CR)
	T4	493.9 ± 1,224.6 (Md = -10.4)	4,423.3 ± 22,937.8 (Md = -41.6)	0.143 (IC = CR)
	T5	260.6 ± 556.3 (Md = -5.6)	6,006.9 ± 31.,252.9 (Md = -7.2)	0.219 (IC = CR)
	P	0.695 [T ₁ = T ₂ = T ₃ = T ₄ = T ₅]	0.062 [T ₁ = T ₂ = T ₃ = T ₄ = T ₅]	
<i>T. forsythia</i>	T1	972.3 ± 2,247.7 (Md = 81.8)	807.0 ± 2,093.6 (Md = 58.8)	0.731 (IC = CR)
	T2	14,305.2 ± 52,230.9 (Md = -32.5)	2,148.2 ± 9,117.5 (Md = -40.4)	0.806 (IC = CR)
	T3	112,348.8 ± 45,5753.4 (Md = -17.7)	345.3 ± 1,456.8 (Md = -64.0)	0.123 (IC = CR)
	T4	37,262.0 ± 140,584.6 (Md = -6.7)	263.8 ± 1,072.3 (Md = -44.0)	0.422 (IC = CR)
	T5	9,539.0 ± 29,819.8 (Md = -2.0)	614.1 ± 2,245.7 (Md = -50.9)	0.088 (IC = CR)
	P	0.013 [T ₅ > (T ₂ = T ₃ = T ₄)]	0.008 [T ₂ > (T ₃ = T ₄ = T ₅)]	
<i>P. gingivalis</i>	T1	447.4 ± 1.902.4 (Md = 0.4)	115.3 ± 298.3 (Md = 0.1)	0.342 (IC = CR)
	T2	42.4 ± 316.9 (Md = -33.8)	493.7 ± ,.396.7 (Md = 0.0)	0.088 (IC = CR)
	T3	822.8 ± 3.597.3 (Md = -4.5)	574.6 ± 1,821.3 (Md = -6.0)	0.921 (IC = CR)
	T4	3,709.4 ± 19.134.1 (Md = -1.1)	841.4 ± 3,564.2 (Md = -30.5)	0.588 (IC = CR)
	T5	617.5 ± 3.163.6 (Md = -5.3)	417.2 ± 1,084.8 (Md = 0.0)	0.430 (IC = CR)
	P	0.010 [T ₂ < (T ₃ = T ₄ = T ₅)]	0.043 [T ₄ < (T ₂ = T ₃ = T ₅)]	
<i>T. denícolá</i>	T1	593.1 ± 1.512 (Md = 0.4)	94.6 ± 248.5 (Md = 1.8)	0.555 (IC = CR)
	T2	169.2 ± 919.5 (Md = -47.0)	142.3 ± 853.8 (Md = -48.0)	0.869 (IC = CR)
	T3	444.7 ± 2,296.1 (Md = -23.8)	385.5 ± 2,308.8 (Md = -64.8)	0.005 (IC > CR)
	T4	18,779.4 ± 95,166.8 (Md = 0.0)	338.3 ± 1.,529.7 (Md = -60.0)	0.044 (IC > CR)
	T5	2,922.4 ± 14,792.3 (Md = 10.3)	-20.6 ± 114.1 (Md = -66.3)	0.007 (IC > CR)
	P	< 0.001 [T ₂ < T ₃ ; T ₃ < T ₄ ; T ₄ < T ₅]	0.004 [T ₂ > (T ₃ = T ₄ = T ₅)]	

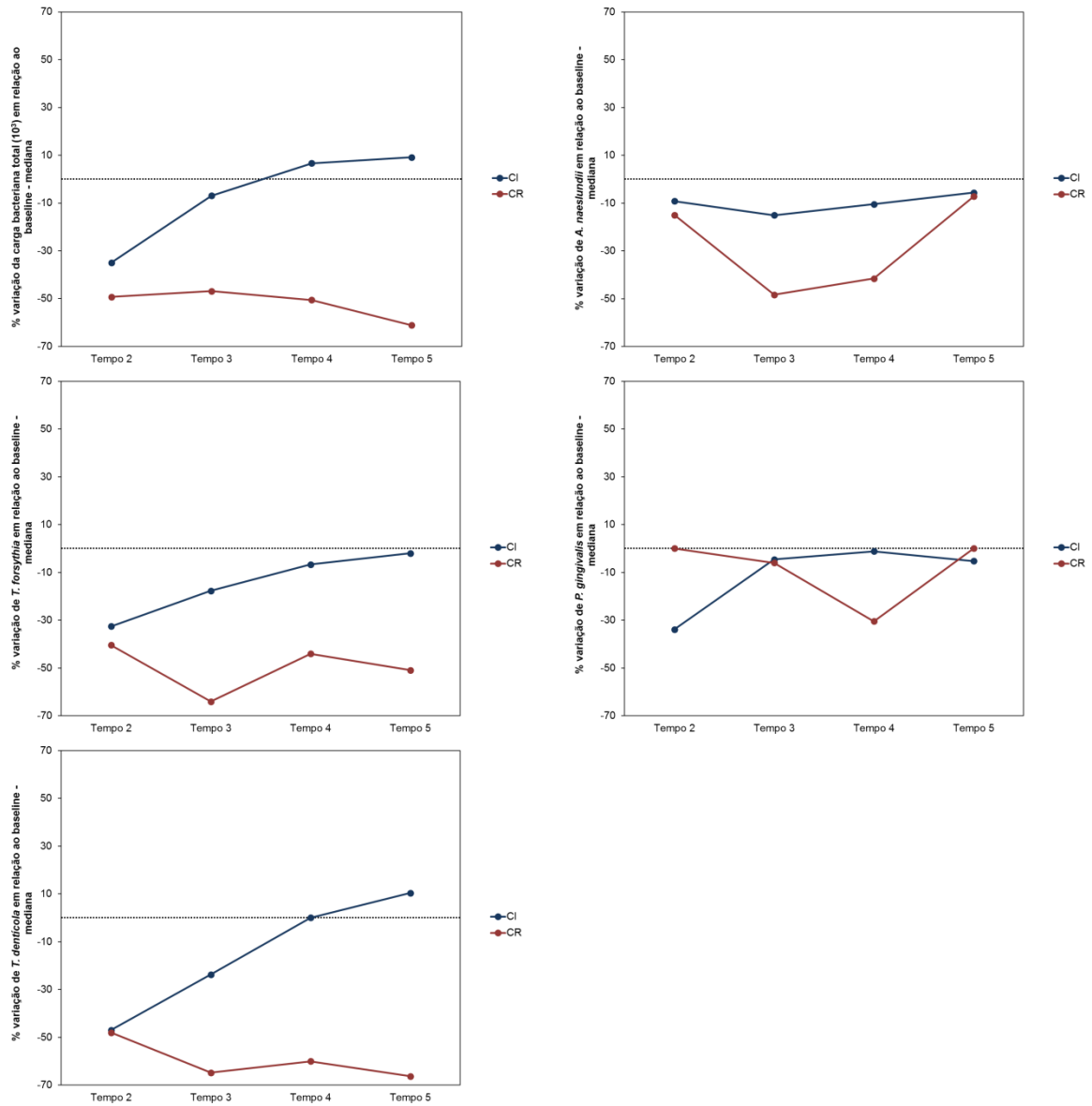
Nota: os valores apresentados na tabela referem-se à $\bar{x} \pm dp$ e mediana (Md)

A probabilidade de significância na comparação entre os tempos refere-se ao teste de Friedman.

A probabilidade de significância na comparação entre os grupos refere-se ao teste de Mann-Whitney.

Figura 2 - Evolução dos parâmetros microbiológicos (2A) e clínicos (2B) durante 6 anos de TMP (grupos CR e CI)

(2A) Parâmetros microbiológicos



(2B) Parâmetros clínicos

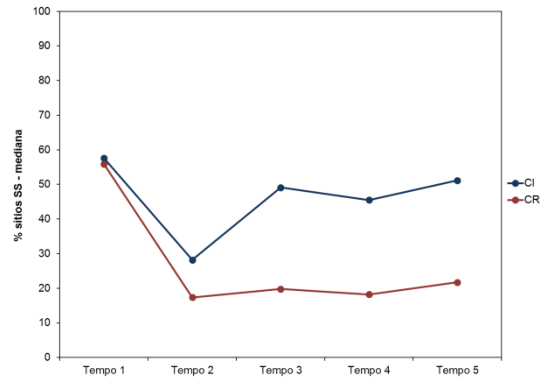
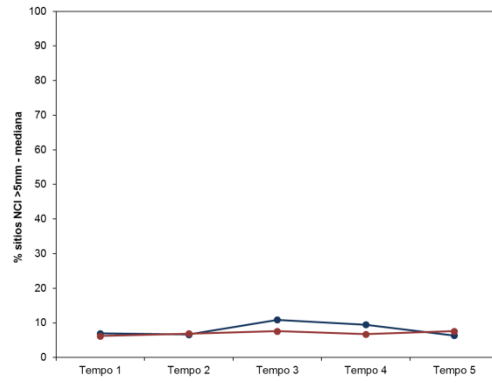
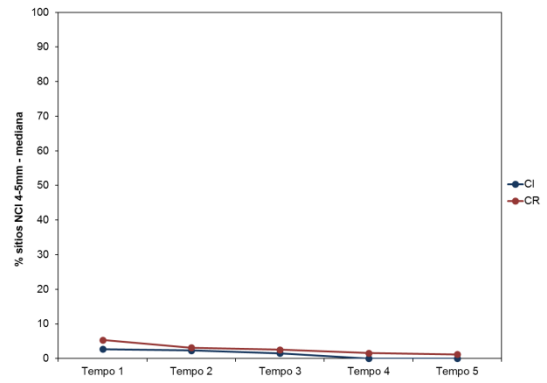
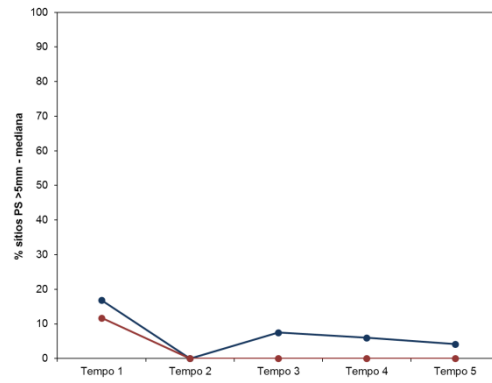
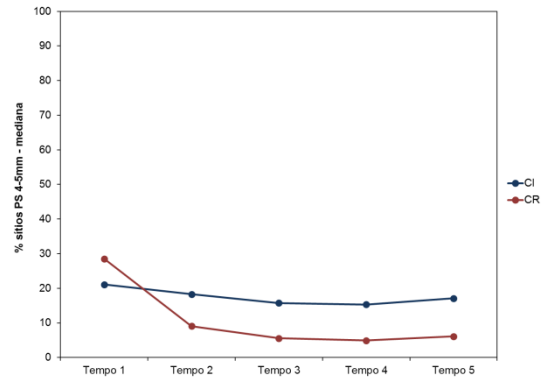
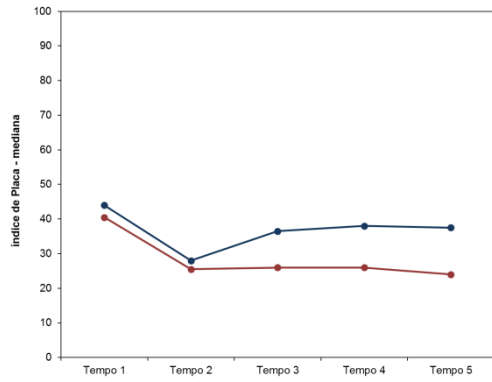


Tabela 3. Análise de correlação entre os dados clínicos e microbiológicos considerando os grupos do estudo.

Tempo	Dados Clínicos	Carga total									
		Carga total		<i>T. forsythia</i>		<i>A. naeslundii</i>		<i>P. gingivalis</i>		<i>T. denticola</i>	
		CI	CR	CI	CR	CI	CR	CI	CR	CI	CR
T1	IP	0.48 (0.011)	0.04 (0.839)	-0.15 (0.450)	-0.23 (0.242)	0.10 (0.600)	-0.19 (0.341)	0.16 (0.413)	0.11 (0.577)	0.17 (0.398)	0.19 (0.325)
	PS _{4-5mm}	-0.27 (0.161)	-0.20 (0.301)	-0.23 (0.232)	0.18 (0.355)	-0.55 (0.003)	-0.11 (0.561)	0.01 (0.961)	-0.20 (0.309)	0.02 (0.920)	-0.30 (0.125)
	PS _{>5mm}	-0.17 (0.379)	-0.22 (0.263)	-0.14 (0.462)	-0.08 (0.674)	0.06 (0.744)	-0.37 (0.055)	-0.16 (0.425)	0.17 (0.374)	0.07 (0.714)	-0.09 (0.632)
	NCL _{4-5mm}	0.29 (0.137)	0.13 (0.508)	-0.05 (0.813)	-0.22 (0.254)	0.07 (0.718)	0.06 (0.778)	0.21 (0.278)	0.19 (0.341)	-0.17 (0.383)	0.33 (0.087)
	NCL _{>5mm}	0.09 (0.644)	-0.01 (0.948)	0.07 (0.728)	-0.13 (0.515)	0.21 (0.274)	-0.16 (0.404)	-0.04 (0.833)	0.19 (0.343)	0.13 (0.497)	0.06 (0.763)
	SS	-0.09 (0.637)	-0.14 (0.476)	-0.23 (0.244)	-0.18 (0.357)	-0.21 (0.277)	-0.14 (0.480)	-0.03 (0.889)	0.12 (0.550)	0.20 (0.301)	-0.13 (0.504)
T2	IP	0.02 (0.904)	-0.52 (0.004)	-0.10 (0.619)	-0.17 (0.379)	0.13 (0.522)	-0.29 (0.133)	-0.10 (0.613)	-0.08 (0.680)	-0.25 (0.212)	-0.22 (0.274)
	PS _{4-5mm}	-0.03 (0.868)	0.14 (0.478)	0.08 (0.690)	-0.02 (0.915)	-0.22 (0.263)	-0.08 (0.692)	0.10 (0.608)	0.14 (0.465)	0.13 (0.529)	-0.16 (0.424)
	PS _{>5mm}	0.15 (0.459)	-0.17 (0.378)	0.39 (0.043)	-0.21 (0.280)	0.25 (0.206)	-0.08 (0.698)	0.22 (0.255)	-0.15 (0.448)	0.34 (0.086)	-0.34 (0.079)
	NCL _{4-5mm}	-0.17 (0.376)	-0.44 (0.019)	0.20 (0.320)	-0.47 (0.012)	-0.34 (0.084)	-0.31 (0.109)	0.40 (0.036)	0.02 (0.905)	-0.07 (0.730)	-0.16 (0.438)
	NCL _{>5mm}	-0.19 (0.330)	0.07 (0.728)	0.04 (0.825)	-0.34 (0.076)	-0.23 (0.253)	0.12 (0.538)	0.39 (0.042)	0.12 (0.543)	-0.24 (0.234)	-0.09 (0.652)
	SS	0.32 (0.098)	-0.05 (0.809)	0.15 (0.443)	-0.13 (0.530)	-0.05 (0.799)	-0.08 (0.705)	-0.04 (0.821)	0.12 (0.549)	0.30 (0.126)	-0.17 (0.395)
T3	IP	0.12 (0.551)	-0.21 (0.287)	-0.18 (0.371)	-0.26 (0.181)	-0.08 (0.676)	-0.13 (0.496)	0.06 (0.779)	0.08 (0.674)	-0.2 (0.313)	-0.29 (0.143)
	PS _{4-5mm}	-0.13 (0.503)	0.03 (0.862)	-0.13 (0.498)	-0.03 (0.871)	-0.01 (0.957)	-0.04 (0.859)	-0.08 (0.703)	-0.13 (0.526)	-0.1 (0.634)	0.01 (0.998)
	PS _{>5mm}	0.33 (0.082)	-0.08 (0.687)	0.12 (0.529)	-0.17 (0.398)	0.01 (0.957)	-0.18 (0.362)	0.32 (0.094)	0.23 (0.233)	0.06 (0.769)	-0.22 (0.263)
	NCL _{4-5mm}	0.01 (0.970)	-0.36 (0.063)	-0.16 (0.423)	-0.53 (0.003)	0.17 (0.388)	-0.51 (0.005)	-0.10 (0.611)	-0.09 (0.637)	0.02 (0.934)	-0.57 (0.002)
	NCL _{>5mm}	0.12 (0.552)	0.24 (0.212)	0.15 (0.459)	-0.08 (0.690)	-0.01 (0.954)	0.03 (0.891)	0.03 (0.891)	0.28 (0.148)	-0.42 (0.029)	0.01 (0.943)
	SS	0.15 (0.445)	-0.08 (0.710)	-0.07 (0.719)	-0.08 (0.699)	0.05 (0.802)	-0.15 (0.467)	-0.29 (0.132)	0.08 (0.694)	0.12 (0.560)	-0.19 (0.350)
T4	IP	0.44 (0.020)	0.13 (0.496)	-0.13 (0.497)	-0.20 (0.297)	0.13 (0.512)	-0.10 (0.595)	-0.07 (0.739)	0.07 (0.713)	-0.06 (0.756)	0.08 (0.688)
	PS _{4-5mm}	0.05 (0.784)	-0.08 (0.675)	0.03 (0.894)	-0.25 (0.196)	-0.09 (0.672)	-0.12 (0.533)	-0.17 (0.393)	-0.24 (0.211)	0.15 (0.470)	-0.13 (0.513)
	PS _{>5mm}	0.05 (0.820)	0.28 (0.153)	-0.09 (0.631)	0.06 (0.774)	-0.10 (0.620)	0.06 (0.746)	0.02 (0.910)	0.02 (0.916)	-0.01 (0.947)	0.41 (0.0320)
	NCL _{4-5mm}	-0.08 (0.679)	0.01 (0.992)	0.06 (0.775)	-0.42 (0.025)	-0.04 (0.827)	-0.35 (0.066)	0.16 (0.420)	-0.11 (0.565)	-0.15 (0.448)	-0.13 (0.509)
	NCL _{>5mm}	0.05 (0.791)	0.31 (0.103)	-0.16 (0.402)	0.32 (0.094)	-0.27 (0.174)	0.04 (0.855)	0.02 (0.921)	0.03 (0.860)	-0.11 (0.577)	0.14 (0.481)
	SS	0.58 (0.001)	-0.17 (0.401)	-0.16 (0.425)	-0.38 (0.050)	0.25 (0.214)	-0.10 (0.637)	0.12 (0.547)	0.01 (0.942)	0.39 (0.045)	-0.04 (0.851)
T5	IP	0.13 (0.498)	0.03 (0.889)	0.12 (0.549)	-0.03 (0.898)	-0.06 (0.781)	-0.18 (0.363)	-0.21 (0.283)	-0.16 (0.426)	0.08 (0.677)	-0.14 (0.483)
	PS _{4-5mm}	0.07 (0.741)	0.05 (0.784)	-0.15 (0.455)	0.04 (0.836)	-0.25 (0.205)	0.19 (0.344)	-0.20 (0.298)	0.09 (0.663)	0.08 (0.688)	-0.02 (0.928)
	PS _{>5mm}	-0.26 (0.184)	0.27 (0.158)	-0.10 (0.627)	0.18 (0.363)	0.02 (0.908)	0.18 (0.363)	0.22 (0.268)	-0.11 (0.587)	-0.02 (0.926)	0.18 (0.379)
	NCL _{4-5mm}	0.01 (0.948)	-0.11 (0.573)	-0.05 (0.782)	-0.23 (0.246)	0.21 (0.302)	-0.15 (0.437)	0.32 (0.093)	0.05 (0.806)	-0.05 (0.801)	0.14 (0.497)
	NCL _{>5mm}	-0.09 (0.656)	0.21 (0.276)	0.14 (0.493)	0.01 (0.958)	-0.31 (0.121)	0.05 (0.789)	-0.31 (0.107)	0.24 (0.223)	-0.09 (0.648)	0.11 (0.572)
	SS	0.12 (0.530)	0.01 (0.990)	0.06 (0.746)	-0.27 (0.165)	0.03 (0.868)	0.22 (0.268)	-0.01 (0.971)	-0.16 (0.421)	0.18 (0.382)	0.05 (0.809)

BASE DE DADOS: 56 pacientes

NOTA: Os valores da tabela referem-se ao coeficiente de correlação de Spearman (r) e a probabilidade de significância (p).

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados do estudo microbiológico demonstraram que o grau de cooperação dos indivíduos é um fator determinante para o sucesso da TMP.

Cooperadores irregulares apresentaram maior carga bacteriana total e maiores níveis de *T. dentícola*.

A carga bacteriana total foi positivamente associada com índice de placa e sangramento à sondagem entre CI, enquanto níveis de *A. naeslundii*, *T. forsythia*, *T. dentícola* foram negativamente associados com nível clínico de inserção (4-5 mm) entre CR.

Assim, o estudo concluiu que CI apresentaram pior condição clínica periodontal com uma maior PS, SS e PD, bem como maiores níveis de carga bacteriana total que os CR, refletindo o papel benéfico da cooperação na TMP em manter a estabilidade da condição periodontal.

A revisão sistemática foi baseada na pergunta clínica (PECO): “Qual é o efeito do tabagismo na perda dental em indivíduos em terapia de manutenção periodontal?”. De 728 artigos, foram selecionados 36 artigos para leitura completa do texto. Na revisão sistemática foram incluídos 10 artigos (6 coortes e 4 casos-controle), sendo possível meta-análise em 3 estudos coortes. A qualidade da evidência científica foi moderada para indivíduos tabagistas em TMP apresentarem maior chance de perda dental que indivíduos não tabagistas (OR: 4,73; 95% IC: 2,63-8,50).

É importante ressaltar a escassez e a necessidade de estudos coortes prospectivos bem delineados. Em futuras pesquisas é imperativo que haja uma padronização metodológica quanto à caracterização do tabagismo tanto na frequência quanto na dose-exposição e também em relação aos critérios de protocolos de atendimentos e procedimentos periodontais realizados durante a TMP. E finalmente, além das recomendações citadas, estudos com maiores amostras e maior tempo de acompanhamento são necessários para minimizar a heterogeneidade.

6 REFERÊNCIAS GERAIS

1. Abusleme L, Dupuy AK, Dutzan N. *et al.* The subgingival microbiome in health and periodontitis and its relationship with community biomass and inflammation. *Int Soc Microbial Ecol J.* 2013; 7:1016-1025.
2. Agerbaek MR, Lang NP, Persson GR. Microbiological composition associated with interleukin-1 gene polymorphism in subjects undergoing supportive periodontal therapy. *J Periodontol* 2006; 77:1397-1402.
3. Aimetti M, Romano F, Guzzi N, Carnevale G. One-stage full-mouth disinfection as a therapeutic approach for generalized aggressive periodontitis. *J Periodontol* 2011; 82:845–853.
4. Al-Shammari KF, Al-Khabbaz AK, Al-Ansari JM, Neiva R, Wang HL. Risk indicators for tooth loss due to periodontal disease. *J Periodontol* 2005; 76, 1910-1918.
5. American Academy of Periodontology. Parameter on periodontal maintenance. *J Periodontol* 2000; 71, 849-850.
6. American Diabetes Association. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2003; 26: S5-S20.
7. Armitage, G.C. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol* 1999; 4: 1-6.
8. Armitage GC, Xenoudi P. Post-treatment supportive care for the natural dentition and dental implants. *Periodontol 2000* 2016;71:164-184.
9. Axelsson P, Nyström B, Lindhe J. The long-term effect of a plaque control program on tooth mortality, caries and periodontal disease in adults: results after 30 years of maintenance. *J Clin Periodontol* 2004; 31, 749–757.
10. Badersten A, Nilvéus R, Egelberg J. Scores of plaque, bleeding, suppuration and probing depth to predict probing attachment loss: 5 years of observation following nonsurgical periodontal therapy. *J Clin Periodontol* 1990; 17: 102-107.
11. Bandyopadhyay D, Marlow NM, Fernandes JK, Leite RS. Periodontal disease progression and glycaemic control among Gullah African Americans with type 2 diabetes. *J Clin Periodontol* 2010; 37: 501-509.
12. Beltrán-Aguilar ED, Eke PI, Thornton-Evans G, Petersen PE. Recording and surveillance systems for periodontal diseases. *Periodontol 2000* 2012; 60: 40–53.

13. Berglundh T, Krok L, Liljenberg B, Westfelt E, Serino G, Lindhe J. The use of metronidazole and amoxicillin in the treatment of advanced periodontal disease. A prospective, controlled clinical trial. *J Clin Periodontol* 1998; 25:354–362.
14. Byrne SJ, Dashper SG, Darby IB, Adams GG, Hoffmann B, Reynolds EC. Progression of chronic periodontitis can be predicted by the levels of *Porphyromonas ginigvalis* and *Treponema denticola* in subgingival plaque. *Oral Microbiol Immunol*. 2009; 24: 469-477.
15. Carnevale G, Cairo F, Tonetti M. Long-term effects of supportive therapy in periodontal patients treated with fibre retention osseous resective surgery. I: recurrence of pockets, bleeding on probing and tooth loss. *J Clin Periodontol* 2007; 34, 334-341.
16. Chace RSr., Low SB. Survival characteristics of periodontally-involved teeth: a 40-year study. *J Periodontol* 1993; 64, 701-705.
17. Chambrone L, Chambrone D, Lima LA, Chambrone LA. Predictors of tooth loss during long-term periodontal maintenance: a systematic review of observational studies. *J Clin Periodontol* 2010; 37, 675-684.
18. Chambrone LA, Chambrone L. Tooth loss in well-maintained patients with chronic periodontitis during long-term supportive therapy in Brazil. *J Clin Periodontol* 2006; 33, 759-764.
19. Charalampakis G, Dahlén G, Carlén A, Leonhardt A. Bacterial markers vs. clinical markers to predict progression of chronic periodontitis: a 2-yr prospective observational study. *Eur J Oral Sci*. 2013;121:394–402.
20. Checchi L, Montecocchi M, Gatto MR, Trombelli L. Retrospective study of tooth loss in 92 treated periodontal patients. *J Clin Periodontol* 2002; 29, 651-656.
21. Claffey N, Polyzois I, Ziaka P. An overview of non-surgical and surgical therapy. *Periodontol 2000* 2000; 36: 35-44.
22. Colombo AP, Teles RP, Torres MC, *et al*. Effects of non-surgical mechanical therapy on the subgingival microbiota of Brazilians with untreated chronic periodontitis: 9-month results. *J Periodontol*. 2005; 76:778-84.
23. Cortelli SC, Costa FO, Rodrigues E, Cota LO, Cortelli JR. Periodontal therapy effects on nitrite related to oral bacteria: A 6-month randomized clinical trial. *J Periodontol* 2015; 86: 984-94.

24. Costa FO, Cota LOM, Cortelli JR, *et al.* Surgical and non-surgical procedures associated with recurrence of periodontitis in periodontal maintenance therapy: 5-year prospective study. *PLoS One* 2015; 23:e0140847.
25. Costa FO, Cota LOM, Lages EJP, Lorentz TCM, Oliveira AMSD, Oliveira PAD, Costa JE. Progression of periodontitis in a sample of regular e irregular compliers under maintenance therapy: a 3-year follow-up study. *J Periodontol* 2011; 82: 1279-1287.
26. Costa FO, Cota LOM, Lages EJP, Oliveira AMSD, Oliveira PAD, Cyrino RM, Lorentz TCM, Cortelli SC, Cortelli JR. Progression of periodontitis and tooth loss associated with glycemic control in individuals undergoing periodontal maintenance therapy: a 5-year follow-up study. *J Periodontol* 2013; 84: 595-605.
27. Costa FO, Cota LOM, Lages EJP, Oliveira APL, Cortelli SC, Cortelli JR, Lorentz TCM, Costa JE. Periodontal risk assessment model in a sample of regular and irregular compliers under maintenance therapy: a 3-year prospective study. *J Periodontol* 2012; 83: 292–300.
28. Costa FO, Lages EJP, Cota LOM, Lorentz TCM, Soares RV, Cortelli JR. Tooth loss in individuals under periodontal maintenance therapy: 5-year prospective study. *J Periodont Res* 2014; 49: 121-128.
29. Costa FO, Miranda Cota LO, Pereira Lages EJ, *et al.* Oral impact on daily performance, personality traits, and compliance in periodontal maintenance therapy. *J Periodontol* 2011; 82:1146-1154.
30. Costa FO, Santuchi CC, Lages EJP, Cota LOM, Cortelli SC, Cortelli JR, Lorentz TCM, Costa JE. Prospective study in periodontal maintenance therapy: comparative analysis between academic and private practices. *J Periodontol* 2012; 83: 301-311.
31. Cosyn J, Princen K, Miremedi R, Decat E, Vaneechoutte M, De Bruyn H. A double-blind randomized placebo-controlled study on the clinical and microbial effects of an essential oil mouth rinse used by patients in supportive periodontal care. *Int J Dent Hyg* 2013;11: 53-61.
32. Dahlen G. Microbiological diagnostic in oral diseases. *Acta Odontol Scand* 2006; 64:164-168.
33. Deeks JJ, Higgins JPT, Altman DG, Cochrane Statistical Methods Group. Analysing data and undertaking meta-analyses. In: Higgins JPT, Green S.

Cochrane handbook for systematic reviews of interventions. Wiley-Blackwell: Chinchester, 2015.

34. Demirel K, Efeodlu A. Retrospective evaluation of patient compliance with supportive periodontal treatment. *J Nihon Univ Sch Dent* 1995; 37: 131-137.
35. Demetriou N, Tsami-Pandi A, Parashis A. Compliance with supportive periodontal treatment in private periodontal practice. A 14-year retrospective study. *J Periodontol* 1995; 66: 145-149.
36. Diaz PI, Hoare A, Hong BY. Subgingival microbiome shifts and community dynamics in periodontal diseases. *J Dent Californian Assoc.* 2016;44:421-35.
37. Egger M, Davey Smith G, Schneider M, Minder C. Bias in meta-analysis detected by a simple graphical test. *BMJ* 1997; 315, 629-34
38. Fardal O. Interviews and assessments of returning non-compliant periodontal maintenance patients. *J Clin Periodontol.* 2006;33:216-220.
39. Fardal O, Johannessen AC, Linden GJ. Tooth loss during maintenance following periodontal treatment in a periodontal practice in Norway. *J Clin Periodontol* 2004; 31, 550–555.
40. Feres M, Cortelli SC, Figueiredo LC, Haffajee AD, Socransky SS. Microbiological basis for periodontal therapy. *J Appl Oral Sci* 2004;12:256-266.
41. Fisher S, Kells L, Picard JP, Gelskey SC, Singer DL, Lix L, Scott DA. Progression of periodontal disease in a maintenance population of smokers and non-smokers: a 3-year longitudinal study. *J Periodontol* 2008; 79, 461-468.
42. Fonseca DC, Cortelli JR, Cortelli SC *et al.* Clinical and microbiological evaluation of scaling and root planing per quadrant and one-stage full mouth disinfection associated with azithromycin or chlorhexidine: a clinical randomized controlled trial. *J Periodontol* 2015; 86:1340-1351.
43. Guyatt GH, Oxman AD, Vist GE, Kung R, Falck-Ytter Y, Alonso Coello P, Schünemann HJ. GRADE: an emerging consensus on rating quality of evidence and strength of recommendations. *BMJ* 2008; 336: 924-26.
44. Haffajee AD. Systemic antibiotics: to use or not use in the treatment of periodontal infections. That is the question. *J Clin Periodontol* 2006; 33:359-361.
45. Haffajee AD, Cugini MA, Tanner A. *et al.* Subgingival microbiota in healthy, well-maintained elder and periodontitis subjects. *J Clinical Periodontol.* 1998; 25:346-353.

46. Haffajee AD, Dibart S, Kent RL Jr, Socransky SS. Clinical and microbiological changes associated with the use of 4 adjunctive systemically administered agents in the treatment of periodontal infections. *J Clin Periodontol* 1995; 22:618–627.
47. Haffajee AD, Socransky SS. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontol. 2000* 1994; 5:78-111.
48. Harrel SK, Nunn ME. Longitudinal comparison of the periodontal status of patients with moderate and severe periodontal disease receiving no treatment, non-surgical treatment, and surgical treatment utilizing individual sites for analysis. *J Periodontol* 2001; 72:1509-1519.
49. Heasman L, Stacey F, Preshaw PM, McCracken GI, Hepburn S, Heasman PA. The effect of smoking on periodontal treatment response: A review of clinical evidence. *J Clin Periodontol* 2006; 33, 241-253.
50. Hirschfeld L, Wasserman B. A long-term survey of tooth loss in 600 treated periodontal patients. *J Periodontol* 1978; 49, 225-237.
51. Holt SC, Ebersole JL. *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia*: The “red complex”, a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. *Periodontol. 2000* 2005; 38: 72-12.
52. Iorio A, Spencer FA, Falavigna M, Alba C, Lang E, Bumand B, McGinn T, et al. Use of GRADE for assessment of evidence about prognosis: rating confidence in estimates of event rates in broad categories of patients. *BMJ* 2015; 350:h870 | doi: 10.1136/bmj.h870.
53. Kocher T, König J, Dzierzon U, Sawaf H, Plagmann HC. Disease progression in periodontally treated and untreated patients – a retrospective study. *J Clin Periodontol* 2000; 27: 866-872.
54. König J, Plagmann HC, Rühling A, Kocher T. Tooth loss and pocket probing depths in a compliant periodontally treated patients: a retrospective analysis. *J Clin Periodontol* 2002; 29, 1092-1100.
55. Labriola A, Needleman I, Moles DR. Systematic review of the effect of smoking on nonsurgical periodontal therapy. *Periodontol 2000* 2005; 37, 124-137.
56. Lang NP, Adler R, Joss A, Nyman S. Absence of bleeding on probing. An indicator of periodontal stability. *J Clin Periodontol* 1990; 17: 714-721.
57. Lang NP, Tonetti MS. Periodontal risk assessment (PRA) for patients in supportive periodontal therapy (SPT). *Oral Health Prev Dent* 2003; 1, 7-16.

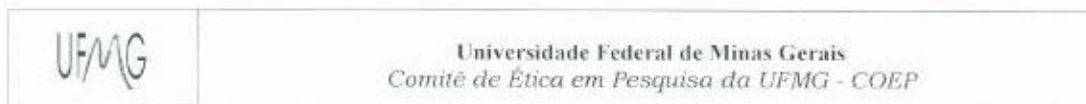
58. Lee CT, Huang HY, Sun TC, Karimbux N. Impact of patient compliance on tooth loss during supportive periodontal therapy: a systematic review and meta-analysis. *J Dent Res* 2015; 94, 777-786.
59. Leung WK, Ng DK, Jin L, Corbet EF. Tooth loss in treated periodontitis patients responsible for their supportive care arrangements. *J Clin Periodontol* 2006; 33, 265-275.
60. Loozen G, Ozcelik O, Boon N, et al. Inter-bacterial correlations in subgingival biofilms: a large-scale survey. *J Clin Periodontol* 2014; 41:1-10.
61. Lorentz TCM, Cota LOM, Cortelli JR, Vargas AMD, Costa FO. Prospective study of complier individuals under periodontal maintenance therapy: analysis of clinical periodontal parameters, risk predictors and the progression of periodontitis. *J Clin Periodontol* 2009; 36: 58–67.
62. Lorentz TC, Cota LO, Cortelli JR, Vargas AM, Costa FO. Tooth loss in individuals under periodontal maintenance therapy: prospective study. *Braz Oral Res* 2010; 24, 231-237.
63. Marsh P., Moter A, Devine DA. Dental plaque biofilms: Communities, conflict and control. *Periodontol. 2000* 2011; 55: 16-35.
64. Matuliene G, Pjetursson BE, Slavi GE, Schmidlin K, Brägger U, Zwahlen M, Lang NP. Influence of residual pockets on progression of periodontitis and tooth loss: Results after 11 years of maintenance. *J Clin Periodontol* 2008; 35, 685-695.
65. Matuliene G, Studer R, Lang NP, et al. Significance of periodontal risk assessment in the recurrence of periodontitis and tooth loss. *J Clin Periodontol.* 2010;37:191-199.
66. McGuire MK, Nunn ME. Prognosis versus actual outcome. III. The effectiveness of clinical parameters in accurately predicting tooth survival. *J Periodontol* 1996b; 67, 666-674.
67. Meinberg TA, Canarsky-Handley AM, McClenahan AK, Poulsen DD, Marx DB, Reinhardt RA. Outcomes associated with supportive periodontal therapy in smokers and nonsmokers. *J Dent Hyg* 2001; 75, 1008-1016.
68. Mineoka T, Awano S, Rikimaru T, et al. Site-specific development of periodontal disease is associated with increased levels of *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia* in subgingival plaque. *J Peridontol* 2008; 79: 670-676.

69. Moher, D., Liberati, A., Altman, D.G., Tetzlaff, J., Mulrow, C., Gotzsche, P.C., Ioannidis, J.P.A., Clarke, M., Devereaux, P.J. & Kleijnen, J. (2009) The PRISMA Statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate health care interventions: explanation and elaboration. *PLoS Med* 6(7): e1000100.doi:10.1371/journal.pmed.1000100.
70. Oteo A, Herrera D, Figuero E, O'Connor A, Gonzalez I, Sanz M. Azithromycin as an adjunct to scaling and root planing in the treatment of *Porphyromonas gingivalis*-associated periodontitis: a pilot study. *J Clin Periodontol*. 2010;37:1005-1015.
71. Page RC, Kornman KS. Pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol 2000* 1997; 14, 9-11.
72. Papantonopoulos GH. Effect of periodontal therapy in smokers and non-smokers with advanced periodontal disease: Results after maintenance therapy for a minimum of 5 years. *J Periodontol* 2004; 75, 839-843.
73. Papapanou PN, Baelum V, Luan WM *et al*. Subgingival microbiota in adult Chinese: prevalence and relation to periodontal disease progression. *J Periodontol* 1997; 68: 651-666.
74. Pavicic MJ, van Winkelhoff AJ, Douque NH, Steures RW, de Graaff J. Microbiological and clinical effects of metronidazole and amoxicillin in *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-associated periodontitis. A 2-year evaluation. *J Clin Periodontol* 1994; 21:107–112.
75. Preshaw PM, Heasman PA. Periodontal maintenance in a specialist periodontal clinic and in general dental practice. *J Clin Periodontol* 2005; 32: 280-286.
76. Ravald N, Johansson CS. Tooth loss in periodontally treated patients. A long-term study of periodontal disease and root caries. *J Clin Periodontol* 2012; 39, 73-79.
77. Renvert S, Persson GR. Supportive periodontal therapy. *Periodontol 2000* 2004;36: 179-195.
78. Sampaio E, Rocha M, Figueiredo LC, *et al*. Clinical and microbiological effects of azithromycin in the treatment of generalized chronic periodontitis: a randomized placebo-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2011;38:838–846.
79. Sánchez MC, Marín MJ, Figuero E, *et al*. Quantitative real-time PCR combined with propidium monoazide for the selective quantification of viable periodontal

- pathogens in an in vitro subgingival biofilm model. *J Periodontal Res* 2014; 49: 20-8.
80. Santuchi CC, Cortelli JR, Cortelli SC, Cota LOM, Fonseca DC, Alencar CO, and Costa FO. Scaling and root planing per quadrant versus one-stage full-mouth disinfection: assessment of the impact of chronic periodontitis treatment on quality of life — a clinical randomized, controlled trial. *J Periodontol* 2016; 87:114-123.
81. Schatzle M, Faddy MJ, Cullinan MP, Seymour GJ, Lang NP, Burgin W, Anerud A, Boysen H, Loe H. The clinical course of chronic periodontitis: V. Predictive factors in periodontal disease. *J Clin Periodontol* 2009; 36, 365-371.
82. Silva MP, Feres M, Siroto TA *et al.* Clinical and microbiological benefits of metronidazole alone or with amoxicillin as adjuncts in the treatment of chronic periodontitis: a randomized placebo-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2011; 38:828–837.
83. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 1998; 25: 134-144.
84. Socransky SS, Haffajee AD, Teles R, *et al.* Effect of periodontal therapy on the subgingival microbiota over a 2-year monitoring period. I. Overall effect and kinetics of change. *J Clin Periodontol* 2013; 40: 771-780.
85. Tamashiro NS, Duarte PM, Miranda TS. *et al.* Amoxicillin plus metronidazole therapy for patients with periodontitis and type 2 diabetes: a 2-year randomized controlled trial. *J Dental Res* 2016; 95: 829-36.
86. Teles RP, Haffajee AD, Socransky SS. Microbiological goals of periodontal therapy. *Periodontol 2000* 2006; 43:180–218.
87. Teles R, Socransky SS, Haffajee AD. Disease progression in periodontally healthy and maintenance subjects. *J Periodontol* 2008; 79:784-794.
88. Tomar, S.L. & Asma, S. (2000) Smoking-attributable periodontitis in the United States: Finding from NHANES III. National Health and Nutritional Examination Survey. *Journal of Periodontology* 71:743-751.
89. Tonetti MS, Steffen P, Muller-Campanile V, Suvan J, Lang NP. Initial extractions and tooth loss during supportive care in a periodontal population seeking comprehensive care. *J Clin Periodontol* 2000; 27, 824-831.
90. Tsami A, Pepelassi E, Kodovazenitis G, Komboli M. Parameters affecting tooth loss during periodontal maintenance in a Greek population. *J Am Dent Assoc*

2009; 140, 1100-1107.

91. Turesky S, Gimore ND, Glickman I. Reduced plaque formation by the chloromethyl analogue of vitamin C. *J Periodontol* 1970;41:41-43.
92. van Winkelhoff AJ, Tijnhof CJ, de Graaff J. Microbiological and clinical results of metronidazole plus amoxicillin therapy in Actinobacillus actinomycetemcomitans-associated periodontitis. *J Periodontol* 1992; 63:52–57.
93. Winkel EG, Van Winkelhoff AJ, Barendregt DS, Van der Weijden GA, Timmerman MF, Van der Velden U. Clinical and microbiological effects of initial periodontal therapy in conjunction with amoxicillin and clavulanic acid in patients with adult periodontitis. A randomised double-blind, placebo-controlled study. *J Clin Periodontol* 1999; 26:461-468.
94. Wood WR, Greco GW, McFall WT Jr. Tooth loss in patients with moderate periodontitis after treatment and long-term maintenance care. *J Periodontol* 1989; 60, 516-520.
95. Xajigeorgiou C, Sakellari D, Slini T, Baka A, Konstantinidis A. Clinical and microbiological effects of different antimicrobials on generalized aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol* 2006; 33:254–264.

ANEXO 1**Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG****Parecer nº. ETIC 060/05**


Interessado: Prof. Fernando de Oliveira Costa
Departamento de Clínica Patologia e Cirurgia Odontológicas
Faculdade de Odontologia-UFMG

DECISÃO

O Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG – COEP, aprovou no dia 11 de maio 2005, o projeto de pesquisa intitulado “**Monitoramento dos parâmetros clínicos periodontais sob terapia periodontal de suporte: um estudo prospectivo**” bem como o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do referido projeto.

O COEP recomenda que o pesquisador explicita a questão da divulgação dos resultados, sejam eles favoráveis ou não, tendo em vista que o projeto não apresenta outros problemas.

O relatório final ou parcial deverá ser encaminhado ao COEP um ano após o início do projeto.


Profa. Dra. Maria Elena de Lima Perez Garcia
Presidente do COEP/UFMG

ANEXO 2

Effects of smoking on tooth loss among individuals under periodontal maintenance therapy: a systematic review and meta-analysis

Clinical Relevance

Rationale for the study: Dental mortality has been reported in longitudinal studies, however, the isolated effect of smoking on TL among individuals under PMT has not yet been evaluated, with no other confounding variables.

Main findings: There is moderate evidence that smoking was associated with the occurrence of TL in patients with PMT.

Clinical implications: Regardless of the presence of different risk factors for TL in PMT, the simple presence of smoking should be a factor to classify individuals in PMT as high risk and determine short recall intervals for them.

Conflict of interest and sources of funding: The authors declare that there are no conflicts of interest. This study was supported by the National Council of Scientific and Technological Development – CNPq Brazil (Productivity Research fellow #402158/2016-4).

Abstract

Aim: This systematic review is to assess and analyze the isolated effect of smoking on tooth loss (TL) in patients undergoing periodontal maintenance therapy (PMT).

Methods: Electronic, manual, and gray literature were searched up to and including articles from February 2017, without restriction regarding the language and date of publication. Epidemiological clinical studies that reported TL data in smoking individuals undergoing PMT compared to a non-smokers control group were included. Methodological quality was assessed using the Newcastle-Ottawa Scale. Meta-analysis was performed, as well as tests of I^2 heterogeneity and sensitivity. The quality of the evidence was assessed using GRADE (*Grading of Recommendations, Assessment, Development and Evaluation*

Results: Ten papers were included in the systematic review: four case-control and six cohorts. Nine of the ten studies of this systematic review concluded that smoking was an important risk factor for the occurrence of TL. The meta-analysis of three cohort studies found that smokers presented a 4.73 higher chance of occurrence of TL than non-smokers in PMT (95%CI; 2.63–8.50). Overall, the studies were at low risk of bias.

Conclusions: The quality of the scientific evidence moderately supports that smoking individuals undergoing PMT present a greater chance of tooth loss than non-smokers.

Key words: Supportive periodontal therapy; tooth loss; risk factors; smoking/adverse effects; systematic review.

Introduction

Periodontal maintenance therapy (PMT) can be considered a critical factor for success in controlling periodontal disease and long-term maintenance of teeth (Lee *et al.*, 2015). In addition, neglect of a regular PMT program has been associated with increased risk of reinfection and progression of periodontitis, as well as increased tooth loss (TL) (American Academy of Periodontology, 2000; Costa *et al.*, 2012).

During periodontal clinical re-evaluation in PMT, it is important to analyze the biological, behavioral, and social risk variables associated with periodontal disease, especially smoking, biofilm scores, and diabetes mellitus (Page & Kornman, 1997; Fisher *et al.*, 2008; Schätzle *et al.*, 2009). In addition, many factors affect clinical outcomes during PMT: the degree of compliance and adherence to the proposed recommendations, oral hygiene practice, age of patients, smoking status, different systemic diseases that compromise the immune response, initial tooth prognosis, tooth location, residual pockets, and bleeding on probing (BOP). These factors have been cited as critical for the stability of the periodontal condition (Wood, 1989; Chambrone *et al.*, 2010).

The identification of variables of risk for TL in PMT programs can help clinicians and periodontists to establish the frequency of return visits and improve adherence to maintenance programs with greater compliance of individuals (Costa *et al.*, 2014). Several studies have demonstrated the effectiveness of periodontal

therapy in reducing the TL rate, as well as the importance of patient compliance with PMT (Chace & Low, 1993; Tonetti *et al.*, 2000; Al-Shammari *et al.*, 2005; Lorentz *et al.*, 2010).

An important risk factor for periodontitis is smoking. Several studies have shown that this deleterious habit is strongly associated with the susceptibility, increased severity, and progression of periodontitis, as well as higher TL (Meinberg *et al.*, 2001; Papantonopoulos, 2004; Labriola *et al.*, 2005; Heasman *et al.* 2006).

Although TL has already been reported in longitudinal studies among individuals undergoing PMT (Hirschfeld & Wasserman, 1978; Wood *et al.*, 1989, Checchi *et al.*, 2002, König *et al.*, 2002, Axelsson *et al.*, 2004, Fardal *et al.* 2004; Chambrone & Chambrone, 2006; Leung *et al.*, 2006; Carnevale *et al.*, 2007; Matuliene *et al.*, 2008; Chambrone *et al.*, 2010; Lee *et al.*, 2015), the isolated effect of smoking on TL in individuals submitted to PMT has not yet been evaluated, without other confounding variables, through a systematic review and meta-analysis. Therefore, the aim of this study is to evaluate the scientific evidence of the effect of smoking on TL in patients undergoing PMT.

Methods

This systematic review was registered in PROSPERO under the number CRD42016026083. This systematic review was conducted in accordance with the guidelines of Transparent Reporting of Systematic Reviews and Meta-Analyses PRISMA statement (Moher *et al.*, 2009).

Focal Question

The clinical question (PICO) was, "What is the effect of smoking on tooth loss in individuals under periodontal maintenance therapy?" (P=individuals in PMT, I=smokers, C=non-smokers, O=tooth loss).

Inclusion Criteria

Epidemiological clinical studies (observational and clinical trials) with data on dental loss in smokers and non-smokers in periodontal maintenance therapy were included. There was no restriction regarding age and follow-up time.

Exclusion Criteria

Papers with absence of non-smokers, case reports or series of cases, letters to the editor, and literature reviews were excluded.

Search Strategy

The databases included were Medline through Pubmed (<http://www.pubmed.gov>), Web of Science (<http://www.isiknowledge.com>), Cochrane Library (<http://www.cochrane.org/index.htm>), and SCOPUS (<https://www.scopus.com>).

No restrictions were imposed with regard to language or year of publication. MeSH terms, key words, and other free terms were used for searching, and Boolean operators (OR, AND) were used to combine searches. The following search strategy was used in electronic searching in Medline, Web of Science, Cochrane and SCOPUS:

((periodontal disease [Mesh] OR periodontal disease OR periodontitis [Mesh] OR periodontitis OR maintenance periodontal therapy OR periodontal maintenance OR supportive periodontal therapy OR maintenance care OR long-term care [Mesh] OR long-term maintenance) AND (Smoke [Mesh] OR Smoke OR Smoker* OR Tobacco OR Tobacco Smoker*) AND (tooth loss [Mesh] OR tooth loss OR tooth mortality OR dental mortality)).

A manual and gray literature search was performed through the IRSTC Registry databases (<https://www.isrctn.com/>) and Clinical Trials (<https://clinicaltrials.gov/>), and also manual searches in the reference lists of articles were included.

The reference list of the searches sought by the electronic databases was organized by EndNote[®] software (version 17.0).

Initially, 728 references were found. After the removal of 137 duplicates, there were 591 articles for selection based on abstracts and titles. The selection of abstracts and titles was carried out independently by three trained and calibrated researchers (AMOA, RMC, and TRV). An initial reading of 10% of the sample of abstracts and titles was performed, and the Kappa concordance test was 0.84. Thus, the three researchers continued reading the remaining texts. Disagreements were resolved by discussion and consensus. After this phase, 36 studies were selected for analysis of the full text (Supplemental appendix 1). This analysis was performed

independently by the three researchers and the disagreements were also resolved by consensus (Figure 1). When the need for additional information or missing data was required, the corresponding authors were contacted.

Data Extraction and Methodological Quality Assessment

Data extraction followed a form in which the following information was extracted: study design, sample size, time and manner of PMT conduction, smoking status, and number and/or mean of teeth lost during PMT (Tables 1 and 2 for cohort studies and case-control studies, respectively).

The methodological quality of the included studies was assessed by the Newcastle-Ottawa Scale (NOS) by two independent reviewers (AMOA and TRV). Case-control studies were evaluated by the Newcastle-Ottawa Scale (NOS) for case-control studies. Cohort studies were evaluated using the cohort version of the NOS scale. The criteria comprised three main items: sample selection, comparability, and exposure (Tables 3 and 4).

Selection: Cases were considered if the smoking status data during the PMT were present in the study and controlled for non-smokers. In cohort studies, the cases were considered exposed if they had data from smoking individuals in PMT.

Comparability: Cases were comparable if smoking was adjusted. If smoking was adjusted for two or more factors, e.g., diabetes, age, gender, and other risk variables. In this case, a maximum of two points can be assigned (one for each confounder).

Outcome of Interest or Exposure: If the teeth lost were clinically examined or through existing data, recorded linkage, using clinical or radiographic examination.

The NOS scale ranges from 0 (lower methodological quality) to 9 (higher methodological quality) for case-control studies and from 0 to 10 for cohort studies.

Meta-Analysis

Comprehensive Meta-Analysis Software[®] (version 2) was used for meta-analysis. Odds ratio (OR) and 95% confidence interval (CI) were extracted as reported in the studies for chance of TL in smokers and non-smokers. I^2 heterogeneity tests and sensitivity tests were performed (Deeks *et al.*, 2015). For

heterogeneity considered from medium to moderate, the random effect ($\geq 25\%$) and the fixed effect for low heterogeneity ($<25\%$) were used (Figure 2). Funnel plot analysis was not performed due to the absence of sufficient numbers to be included in the graphic (Egger *et al.*, 1997). Instead, the publication bias was analyzed qualitatively.

Quality of Evidence

Two reviewers (CCM and FOC) evaluated the quality of evidence using GRADE (Grading of Recommendations, Assessment, Development and Evaluation) (Guyatt *et al.*, 2008). Disagreements were resolved by discussion and consensus. GRADE evaluates the quality of the evidence as high, moderate, low, and very low. The quality of the evidence was presented through the evidence table using the GRADE PRO® software (www.gradepr.org) (Table 5).

Results

Selection of Studies

Ten papers were included in this systematic review (Figure 1), with six cohort studies (Konig *et al.*, 2002; Chambrone & Chambrone, 2006; Leung *et al.*, 2006; Ravald & Joahansson, 2012; Costa *et al.*, 2008), and four case-control studies (Costa *et al.*, 2011, Costa *et al.*, 2012). No controlled clinical trials were found in the final selection.

Quality Assessment

The results of the quality assessment are summarized in Tables 3 and 4 for case-control and cohort studies, respectively. The studies were evaluated by the Newcastle-Ottawa Scale, with scores varying from 7 to 9 in the cohort studies and from 7 to 8 in the case-control studies. Among the cohort studies, one did not specify the rate of loss of their sample (Konig *et al.*, 2002) and in four studies smoking was adjusted to only one confounding factor (Konig *et al.*, 2002; Leung *et al.*, 2006; Chambrone & Chambrone, 2006 and Ravald & Johansson, 2012). Among the case-control studies, the methodological failures were not specifications of the rate loss of the samples (Costa *et al.*, 2012b and Costa *et al.*, 2013) and adjust to only one confounding factor (Costa *et al.*, 2011; Costa *et al.*, 2012a; Costa *et al.*, 2012b and Costa *et al.*, 2013).

Studies Description

In a global survey, the follow-up time of individuals in PMT ranged from one year (Costa *et al.*, 2012b) to 36 years (Chambrone & Chambrone, 2006).

The study sample included a minimum of 64 (Ravald & Johansson, 2012) and a maximum of 288 individuals (Costa *et al.*, 2012b). Of these, three are case-control studies nested in a cohort study including 238 individuals (Costa *et al.*, 2011; Costa *et al.*, 2012^a and Costa *et al.*, 2013). The studies of Costa *et al.* (2011) and Costa *et al.* (2012^a) evaluated the number of teeth lost and percentage of TL comparing regular compliance (RC) and irregular compliance (IC) individuals. The study by Costa *et al.* (2013) evaluated the number of teeth lost and percentage of TL in individuals with diabetes and good glycemic control compared with individuals with diabetes and low glycemic control and with individuals without diabetes.

The ten selected studies recruited and treated patients in different clinics. Patients from five studies were treated in private clinics (Chambrone & Chambrone, 2006; Costa *et al.*, 2011; Costa *et al.*, 2012^a; Costa *et al.*, 2013; Costa *et al.*, 2014) and patients from four studies were treated in university clinics (Konig *et al.*, 2002; Leung *et al.*, 2006; Fisher *et al.*, 2008; Ravald & Johansson, 2012). One study presented a mixed sample, with patients from university clinics and private clinics (Costa *et al.*, 2012^b).

The consultations for the reevaluation during the PMT were performed with different time intervals taking into account the degree of compliance of individuals: 3-month intervals (Fisher *et al.*, 2008; Costa *et al.*, 2011; Costa *et al.*, 2012^b); 4-month intervals (Costa *et al.*, 2012^a); intervals of 4 to 6 months (Costa *et al.*, 2013); 6-month intervals (Chambrone & Chambrone, 2006; Costa *et al.*, 2014); intervals of 3 to 12 months (Ravald & Johansson, 2012); 12-month intervals (Konig *et al.*, 2002; Leung *et al.*, 2006) and 18-month intervals (Costa *et al.*, 2014).

In addition to the differences in reevaluation times, the studies also diverged in relation to the criteria of protocols of care and procedures performed during PMT. In the study by Konig *et al.* (2002), dental prophylaxis and/or subgingival debridement were performed when the operator found necessary, and periodontal conditions were documented annually with probing depth (PD) graphic and plaque index (PI) values. In the study by Leung *et al.* (2006), all subjects were instructed to perform their own PMT. At each first return visit, they completed a questionnaire with a trained

interviewer to record the reasons for TL. In the study by Chambrone & Chambrone (2006), all subjects followed a PMT protocol: oral hygiene instructions, scaling and root planing, crown polishing, and surgical periodontal therapy when indicated. In the study by Fisher *et al.* (2008), the individuals in PMT underwent evaluation of the parameters: PI, PD, bleeding on probing (BOP), and clinical attachment level (CAL). In the study by Ravald & Johansson (2012), the individuals were submitted to PMT, evaluating the parameters PI, PD, BOP, and radiographically measured bone level (Table 1).

In the studies by Costa *et al.*, (2012^a and 2012^b) during the monitoring visits, complete periodontal clinical examinations, no-surgical and surgical procedures were performed (Table 2).

Smoking Characterization

Regarding the characterization of smoking, different definition criteria were adopted. The studies by Costa *et al.* (2011), Costa *et al.*, (2012), Costa *et al.* (2013) included smokers/former smokers (individuals who reported having smoked more than 100 cigarettes during their lifetime) and non-smokers, according to the criteria of Tomar & Asma (2000). The studies by Costa *et al.* (2012^a) and Costa *et al.* (2014) grouped non-smokers/former smokers (individuals who smoked 10 to 19 cigarettes per day) and smokers (individuals who smoked more than 19 cigarettes per day), according to the study by Lang & Tonetti (2003). In the study by Ravald & Johansson (2012), the subjects were divided into three groups: smokers with consumption of 1 to 9 cigarettes per day, smokers with consumption of more than 10 cigarettes per day, and non-smokers. In the study by Leung *et al.* (2006), 11.3% of the individuals were current smokers, with self-reported consumption of 0.5 to 56.9 packets / year. In the study by Chambrone & Chambrone (2006), individuals were grouped into smokers or non-smokers, and the number of cigarettes smoked per day was not included in this study. In the study by Fisher *et al.* (2008), the smoking status was determined by the self-report, and the analysis of the expired carbon monoxide concentration identified and quantified this condition. The concentration ≤ 8 ppm (parts per million) determined non-smokers and > 8 ppm identified smokers, according to the criterion of Scott *et al.* (2001). The study by Konig *et al.* (2002) mentions smokers and non-smokers, but does not describe the smoking status (Tables 1 and 2).

Summarization of Findings

Nine of the ten studies of this systematic review concluded that smoking was an important factor significantly associated with TL. Smokers had a greater chance of TL than non-smokers when observing odds ratio values (OR brut = 8.0; 95% CI: 1.6–39.0; Raval & Johansson, 2012); (OR adj = 4.76; 95% CI: 1.42–15.89; Chambrone & Chambrone, 2006); (OR adj = 4.1; 95% CI: 1.98–11.6; Costa *et al.*, 2013); (OR adj = 3.41; 95% CI: 1.26–11.41; Costa *et al.*, 2012^a).

The TL due to periodontal reasons was 2.5 times higher in smokers than in non-smokers (Leung *et al.*, 2006). According to the study of Konig *et al.* (2002), smoking was significantly associated with TL ($r^2 = 0.12$). The same was also observed for patients in the private clinic, where smoking was significantly associated with TL (OR adj = 3.1; 95% CI: 1.98–11.6; Costa *et al.*, 2012^b).

The smokers in the IC group (OR = 7.3, 95% CI: 1.17–14.9), there was a greater chance of TL than the RC smokers (OR = 4.2, 95% CI: 1.42–9.89) (Costa *et al.*, 2011). In another study of the same team, IC smokers lost significantly more teeth (OR adj = 4.22; 95% CI 2.01–8.78) (Costa *et al.*, 2014).

Only one study did not find a statistically significant difference in the mean number of teeth lost between smokers and non-smokers at baseline or after three years of PMT ($p > 0.05$) (Fisher *et al.*, 2008).

Three papers were included in the meta-analysis (Chambrone & Chambrone, 2006; Raval & Johansson, 2012 and Costa *et al.*, 2014) (Figure 2). There was a statistically significant association for chance of TL and smoking habit (OR: 4.73; 95% CI: 2.63–8.50). The quality of evidence was moderate for smokers in PMT and chance of TL (Table 5).

Discussion

In this systematic review and meta-analysis, the scientific evidence showed that smokers in PMT presented a greater chance of TL than non-smokers in nine out of 10 studies and also in meta-analysis. However, several factors also seem to impact these findings.

Although the meta-analysis has presented relative statistical homogeneity, it is limited by including only three studies. Seven studies were excluded from the

meta-analysis due to insufficient data that would allow extraction for the meta-analysis. Other limitations may also be observed as clinical and methodological heterogeneity among the included studies. The quality of the evidence was moderate, since there was "serious" imprecision due to the wide confidence interval, and publication bias was observed (Iorio *et al.*, 2015).

There were differences between the intervals of return for periodontal reassessment during PMT, varying from three-month intervals (Fisher *et al.*, 2008; Costa *et al.*, 2011; Costa *et al.*, 2012^b) to 18-month intervals (Costa *et al.*, 2014). In addition to the differences in reevaluation times, the studies also diverged in relation to the protocols of the procedures performed, with different clinical parameters evaluated during the PMT. Additionally, different recall periods or time classifications to establish regularity or irregularity in PMT may have a high impact on the different periodontal and TL outcomes in the studies.

Regarding the characterization of smoking, different conditions were considered. In the studies by Chambrone & Chambrone (2006), Leung *et al.*, (2006), Costa *et al.*, (2011), Costa *et al.*, (2012^a), Costa *et al.*, (2012^b), Ravald & Johansson (2012), Costa *et al.*, (2013), and Costa *et al.*, (2014), the individuals were grouped into smokers or non-smokers, according to self-report. In the study by Fisher *et al.* (2008), the analysis of expired carbon monoxide concentration identified and quantified smoking status. The study by König *et al.* (2002) mentioned smokers and non-smokers, but did not describe the characterization of smoking. It should be considered that, even though there is a relative agreement on the TL rates reported in these studies, there is a lack of information in the surveys, mainly methodological ones, which causes difficulties in comparisons between the surveys.

In the study by Fisher *et al.* (2008), it is important to point out the small number of smokers ($n = 16$). Thus, it appears that the small sample of smokers was not able to detect significant differences when compared to non-smokers. These factors may have influenced this outcome, which is atypical compared to the other nine studies in this systematic review.

In the evaluation of the quality of the studies, it was considered that the follow-up time of the studies was sufficient for the occurrence of TL, since there was a great variation in the eligible studies in relation to the period of follow-up of the individuals in PMT, being a minimum of one year (Costa *et al.*, 2012b) and the

maximum 36-year duration of the studies (Chambrone & Chambrone, 2006). The mean time required for TL to occur is subject to many factors and is difficult to establish in the literature. A minimum follow-up of 12 months was considered and all studies fulfilled this quality question. However, a clinical response to the treatment of a tooth over time is unpredictable, because it involves many variables: periodontal diseases (related prognostic factors, such as the severity of periodontal disease and degree of patient compliance during APT and PMT), endodontic pathologies, extensive caries, gender, age, individual prognosis of the tooth, global prognosis, systemic conditions (such as diabetes and smoking), socioeconomic conditions, clinical training and experience, quality of care provided, and philosophical differences in the conduct of treatment (Costa *et al.*, 2014)—particularly issues related to the maintenance or extraction of periodontally compromised teeth and replacement by dental implants (McGuire & Nunn, 1996b; Tsami *et al.*, 2009).

Chambrone & Chambrone (2006) affirmed in their study that 60.3% of all TL due to periodontitis occurred after 20 years of PMT. According to the number of teeth lost during the maintenance phase, 77 patients (64.2%) did not lose teeth. Thus, the authors concluded that patients with generalized chronic periodontitis were treated and maintained in the long run with low TL rates. Older individuals and smokers were more susceptible to TL. The PMT is a successful way of stopping the progression of periodontal disease by preserving the individual's teeth throughout life, because the goal of the therapy is to maintain the natural dentition in a healthy, functional, aesthetically acceptable, and painless state (Tonetti *et al.*, 2000; Konig *et al.*, 2002; Leung *et al.*, 2006; Ravald & Johansson, 2012; Costa *et al.*, 2014).

A systematic review included 13 retrospective cohort studies evaluating prognostic risk factors in patients undergoing PMT (Chambrone & Chambrone, 2010). The results showed that 6.8% of all teeth present were extracted for periodontal reasons. This allows for the emphasis to be made that the preservation of the tooth in the oral cavity by the dentist can be carried out for as long as possible. However, in these studies, other than the teeth being extracted for periodontal reasons, other causes were also considered, such as endodontic complications, root fractures, caries, prosthetic reasons (i.e., loss of crown retention), unknown reasons, or due to differences in treatment philosophies.

Another systematic review (Lee *et al.*, 2015) analyzed the effect of individuals' compliance during PMT for TL, and investigated the potential parameters that affect the association between compliance and TL. In the final analysis, 8 studies were included; seven of these were retrospective cohorts, with only one prospective cohort (Costa *et al.*, 2014). In retrospective studies, there is a difficulty in clearly determining the reason for extraction, so the differentiation of the causes of extractions is usually divided into only periodontal reasons and other reasons. This fact was observed in our systematic review, as well as in the retrospective studies of Tonetti *et al.* (2000) and König *et al.* (2002).

The study by Chambrone & Chambrone (2010) considered all patients, regardless of smoking status, and could act as a confounding factor in the results found. The systematic review by Lee *et al.* (2015) mentions the smoking conditions, but in three included studies this issue was not reported, and are not inferred in the results. The authors suggested a lower risk of TL in patients with greater compliance during PMT. In the present systematic review, we have attempted to isolate the smoking factor for dental loss. All efforts were made in literary research, through a literature search, a manual search, and a gray literature search, with an absence of restriction for date of publication and language of publication. Although it was not possible to perform the funnel plot, there is a predominance of studies with positive results for TL and smoking, indicating a possible publication bias. Another identifiable bias is that of citation, in which many studies belonged to the same research group.

Thus, in our understanding, regardless of the presence of different risk factors for TL in PMT (OR: 4.73; 95% CI: 2.63–8.50), the simple presence of smoking should be a factor to classify individuals at high risk in PMT and determine short recall intervals for them. However, it is important to highlight the scarcity and the need for well-designed prospective cohort studies, since in the GRADE evaluation the quality of the scientific evidence was considered moderate.

For future research, it is imperative that there be a methodological standardization for the following issues: (1) characterization of smoking in both frequency and dose-exposure, and (2) unique protocols of care and periodontal procedures performed during PMT. And finally, studies with larger samples and longer follow-up are necessary to minimize the heterogeneity.

In conclusion, there is moderate scientific evidence that the isolated effect of smoking was associated with the occurrence of tooth loss in patients undergoing PMT. Thus, more prospective longitudinal studies are needed to confirm the scientific evidence.

References

1. Allen, E., Ziada, H., Irwin, C., Mullally, B. & Byrne, P.J. (2008) Periodontics: 10. Maintenance in periodontal therapy. *Dental Update* **35**:150-156.
2. Al-Shammari, K.F., Al-Khabbaz, A.K., Al-Ansari, J.M., Neiva, R. & Wang, H.L. (2005) Risk indicators for tooth loss due to periodontal disease. *Journal of Periodontology* **76**:1910-1918.
3. American Academy of Periodontology. (2000) Parameter on periodontal maintenance. *Journal of Periodontology* **71**:849-850.
4. Axelsson, P., Nyström, B. & Lindhe, J. (2004) The long-term effect of a plaque control program on tooth mortality, caries and periodontal disease in adults: results after 30 years of maintenance. *Journal of Clinical Periodontology* **31**:749–757.
5. Carnevale, G., Cairo, F. & Tonetti, M. (2007) Long-term effects of supportive therapy in periodontal patients treated with fibre retention osseous resective surgery. I: recurrence of pockets, bleeding on probing and tooth loss. *Journal of Clinical Periodontology* **34**:334-341.
6. Chace, R.Sr. & Low, S.B. (1993) Survival characteristics of periodontally-involved teeth: a 40-year study. *Journal of Periodontology* **64**:701-705.
7. Chambrone, L., Chambrone, D., Lima, L.A. & Chambrone, L.A. (2010) Predictors of tooth loss during long-term periodontal maintenance: a systematic review of observational studies. *Journal of Clinical Periodontology* **37**:675-684.
8. Chambrone, L.A. & Chambrone, L. (2006) Tooth loss in well-maintained patients with chronic periodontitis during long-term supportive therapy in Brazil. *Journal of Clinical Periodontology* **33**:759-764.
9. Checchi, L., Montecocchi, M., Gatto, M.R. & Trombelli, L. (2002) Retrospective study of tooth loss in 92 treated periodontal patients. *Journal of Clinical*

- Periodontology* **29**:651-656.
10. Costa, F.O., Cota, L.O.M., Lages, E.J.P., Lorentz, T.C.M., Oliveira, A.M.S.D., Oliveira, P.A.D. & Costa, J.E. (2011) Progression of periodontitis in a sample of regular e irregular compliers under maintenance therapy: a 3-year follow-up study. *Journal of Periodontology* **82**:1279-1287.
 11. Costa, F.O., Cota, L.O.M, Lages, E.J.P., Oliveira, A.M.S.D., Oliveira, P.A.D., Cyrino, R.M., Lorentz, T.C.M, Cortelli, S.C. & Cortelli, J.R. (2013) Progression of periodontitis and tooth loss associated with glycemic control in individuals undergoing periodontal maintenance therapy: a 5-year follow-up study. *Journal of Periodontology* **84**:595-605.
 12. Costa, F.O., Cota, L.O.M., Lages, E.J.P, Oliveira, A.P.L., Cortelli, S.C., Cortelli, J.R., Lorentz, T.C.M. & Costa, J.E. (2012)^a Periodontal risk assessment model in a sample of regular and irregular compliers under maintenance therapy: a 3-year prospective study. *Journal of Periodontology* **83**:292–300.
 13. Costa, F.O., Lages, E.J.P., Cota, L.O.M., Lorentz, T.C.M., Soares, R.V. & Cortelli, J.R. (2014) Tooth loss in individuals under periodontal maintenance therapy: 5-year prospective study. *Journal of Periodontal Research* **49**:121-128.
 14. Costa, F.O., Santuchi, C.C., Lages, E.J.P., Cota, L.O.M., Cortelli, S.C., Cortelli, J.R., Lorentz, T.C.M. & Costa, J.E. (2012)^b Prospective study in periodontal maintenance therapy: comparative analysis between academic and private practices. *Journal of Periodontology* **83**:301-311.
 15. Deeks, J.J., Higgins, J.P.T, Altman, D.G. & Cochrane Statistical Methods Group. (2015) Analysing data and undertaking meta-analyses. In: Higgins JPT & Green S. *Cochrane handbook for systematic reviews of interventions*. Willey-Blackwell: Chinchester.
 16. Egger, M., Davey, S.G., Schneider, M. & Minder, C. (1997) Bias in meta-analysis detected by a simple graphical test. *British Medical Journal* **315**:629-34.
 17. Fardal, O., Johannessen, A.C. & Linden, G.J. (2004) Tooth loss during maintenance following periodontal treatment in a periodontal practice in Norway. *Journal of Clinical Periodontology* **31**:550–555.

18. Fisher, S., Kells, L., Picard, J.P., Gelskey, S.C., Singer, D.L., Lix L. & Scott, D.A. (2008) Progression of periodontal disease in a maintenance population of smokers and non-smokers: a 3-year longitudinal study. *Journal of Periodontology* **79**:461-468.
19. Guyatt, G.H., Oxman, A.D., Vist, G.E., Kung, R., Falck-Ytter, Y., Alonso Coello, P. & Schünemann, H.J. (2008) GRADE: an emerging consensus on rating quality of evidence and strength of recommendations. *British Medical Journal* **336**:924-26.
20. Heasman, L., Stacey, F., Preshaw, P.M., McCracken, G.I., Hepburn, S. & Heasman, P.A. (2006) The effect of smoking on periodontal treatment response: A review of clinical evidence. *Journal of Clinical Periodontology* **33**:241-253.
21. Hirschfeld, L. & Wasserman, B. (1978) A long-term survey of tooth loss in 600 treated periodontal patients. *Journal of Periodontology* **49**:225-237.
22. Iorio, A., Spencer, F.A., Falavigna, M., Alba, C., Lang, E., Bumand, B., McGinn, T., *et al.* (2015) Use of GRADE for assessment of evidence about prognosis: rating confidence in estimates of event rates in broad categories of patients. *British Medical Journal* **350**:h870 | doi: 10.1136/bmj.h870
23. König, J., Plagmann, H.C., Rühling, A. & Kocher, T. (2002) Tooth loss and pocket probing depths in a compliant periodontally treated patients: a retrospective analysis. *Journal of Clinical Periodontology* **29**:1092-1100.
24. Labriola, A., Needleman, I., & Moles, D.R. (2005) Systematic review of the effect of smoking on nonsurgical periodontal therapy. *Periodontology 2000* **37**:124-137.
25. Lang, N.P & Tonetti, M.S. (2003) Periodontal risk assessment (PRA) for patients in supportive periodontal therapy (SPT). *Oral Health and Preventive Dentistry* **1**:7-16.
26. Lee, C.T., Huang, H.Y., Sun, T.C. & Karimbux, N. (2015) Impact of patient compliance on tooth loss during supportive periodontal therapy: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Dental Research* **94**:777-786.
27. Leung, W.K., Ng, D.K.C., Jin, L. & Corbet, E.F. (2006) Tooth loss in treated periodontitis patients responsible for their supportive care arrangements. *Journal of Clinical Periodontology* **33**:265-275.

28. Lorentz, T.C., Cota, L.O., Cortelli, J.R., Vargas, A.M. & Costa, F.O. (2010) Tooth loss in individuals under periodontal maintenance therapy: prospective study. *Brazilian Oral Research* **2**:231-237.
29. Matuliene, G., Pjetursson, B.E., Slavi, G.E., Schmidlin, K., Brägger, U., Zwahlen, M. & Lang, N.P. (2008) Influence of residual pockets on progression of periodontitis and tooth loss: Results after 11 years of maintenance. *Journal of Clinical Periodontology* **35**:685-695.
30. McGuire, M.K. & Nunn, M.E. (1996b) Prognosis versus actual outcome. III. The effectiveness of clinical parameters in accurately predicting tooth survival. *Journal of Periodontology* **67**:666-674.
31. Meinberg, T.A., Canarsky-Handley, A.M., McClenahan, A.K., Poulsen, D.D., Marx, D.B. & Reinhardt, R.A. (2001) Outcomes associated with supportive periodontal therapy in smokers and nonsmokers. *Journal of Dental Hygiene* **75**:1008-1016.
32. Page, R.C. & Kornman, K.S. (1997) Pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontology 2000* **14**:9-11.
33. Papantonopoulos, G.H. (2004) Effect of periodontal therapy in smokers and non-smokers with advanced periodontal disease: Results after maintenance therapy for a minimum of 5 years. *Journal of Periodontology* **75**:839-843.
34. Ravald, N. & Johansson, C.S. (2012) Tooth loss in periodontally treated patients. A long-term study of periodontal disease and root caries. *Journal of Clinical Periodontology* **39**:73-79.
35. Schatzle, M., Faddy, M.J, Cullinan, M.P., Seymour, G.J., Lang, N.P., Burgin, W., Anerud, A., Boysen, H. & Loe, H. (2009) The clinical course of chronic periodontitis: V. Predictive factors in periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology* **36**:365-371.
36. Scott, D.A., Palmer, R.M. & Stapleton, J.A. (2001) Validation of smoking status in clinical research into inflammatory periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology* **28**:715-722.
37. Tonetti, M.S., Steffen, P., Muller-Campanile, V., Suvan, J. & Lang, N.P. (2000) Initial extractions and tooth loss during supportive care in a periodontal population seeking comprehensive care. *Journal of Clinical Periodontology* **27**:824-831.

38. Tsami, A., Pepelassi, E., Kodovazenitis, G. & Komboli, M. (2009) Parameters affecting tooth loss during periodontal maintenance in a Greek population. *Journal of the American Dental Association* **140**:1100-1107.
39. Wood, W.R., Greco, G.W., McFall & W.T.Jr. (1989) Tooth loss in patients with moderate periodontitis after treatment and long-term maintenance care. *Journal of Periodontology* **60**:516-520.

Figure 1 - Flowchart of search strategy and screening process

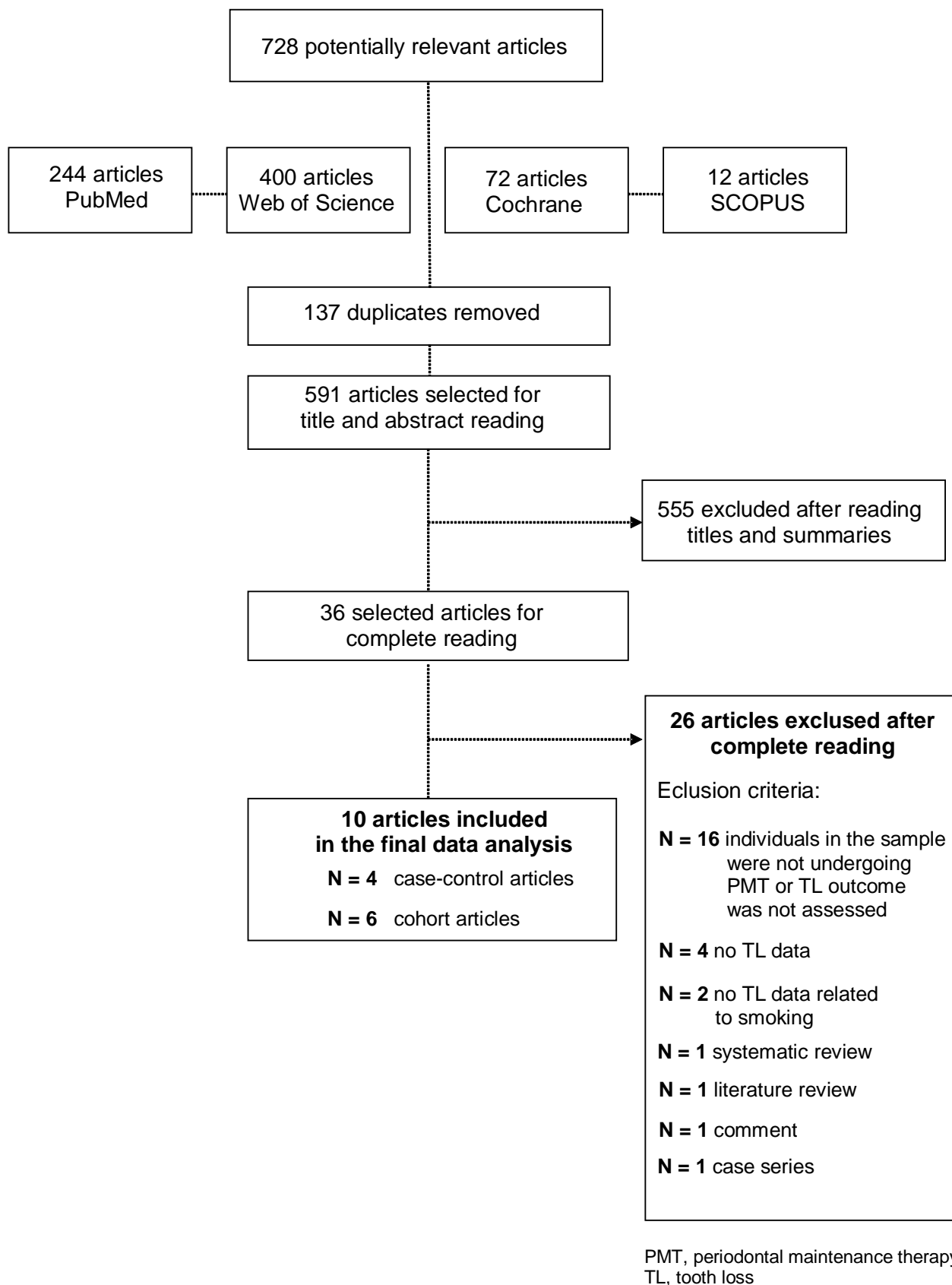


Figure 2 - Meta-analysis

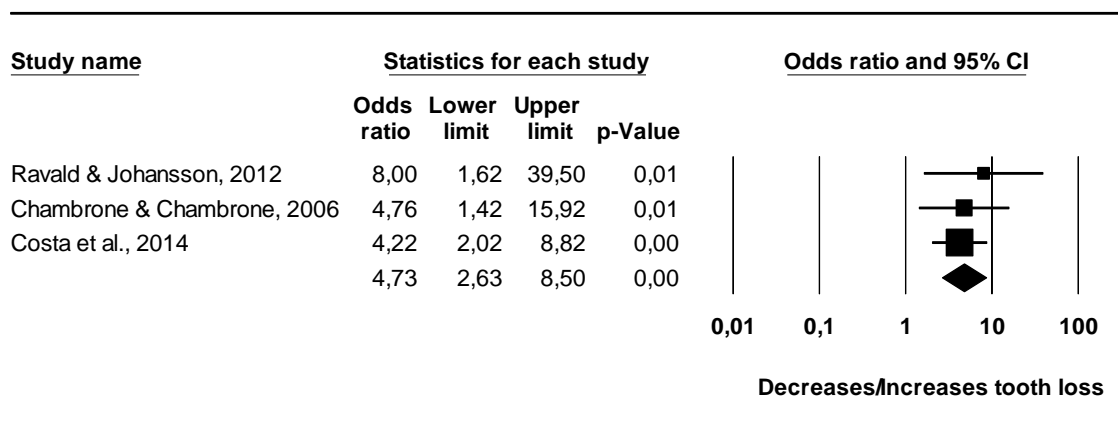


Figure 2. Meta-analysis of smoking (exposure) compared to non-smoking (comparison) for risk of tooth loss (outcome). OR ≥ 1 increases risk of tooth loss. $I^2=0.0\%$, fixed effect model.

Table 1 – Cohort studies characteristics

<i>Study</i>	<i>Study design</i>	<i>Participants</i>	<i>Maintenance interventions</i>	<i>Smoking status</i>	<i>Primary outcome</i>
Costa <i>et al.</i> (2014)	This study evaluated for 5 years the incidence, underlying reasons, and influence of risk predictors for the occurrence of TL in a PMT program.	212 individuals.	5 years. All individuals had undergone APT. In the PMT program 96 RC individuals with interval of 6 months and 116 IC individuals with a maximum interval of 18 months between recalls.	This study included non-smokers/former smokers and smokers: 10 to 19 or > 19 cigarettes per day.	IC smoking individuals lost significantly more teeth. OR = 4.22 (95% CI: 2.01–8.78).
Ravald & Johansson (2012)	This study assessed the numbers of lost teeth and causes for TL during a time period of 11–14 years after APT during PMT.	64 individuals.	11–14 years. The individuals were submitted to PMT with intervals varying from 1 to 4 times per year, evaluating the parameters: BOP, PI, PD, and bone level measured radiographically.	The subjects were divided into three groups: smokers with consumption of 1–9 cigarettes/day, smokers with consumption of more than 10 cigarettes/day, and non-smokers.	TL was significantly more prevalent among smokers than non-smokers. Smoking has contributed to explain TL with OR = 8.0 (95% CI: 1.6–39.0).
Fisher <i>et al.</i> (2008)	This study assessed disease progression longitudinally in smoking and non-smoking subjects with chronic periodontitis undergoing PMT every 3 to 4 months.	108 individuals.	3 years. The individuals in PMT underwent evaluation of the parameters: PI, BOP, PD, and CAL, with intervals of 3 to 4 months for each recall.	The smoking status was determined by the self-report and the analysis of the expired carbon monoxide concentration identified and quantified this condition. The concentration ≤ 8 ppm determined the non-	There was no significant difference in the mean number of teeth lost between smokers and non-smokers at baseline or after 3 years of PMT ($p > 0.05$).

Chambrone & Chambrone (2006)	This study assessed the reasons for TL in individuals under APT and PMT.	120 individuals.	Above 10 years. All subjects followed a PMT protocol: oral hygiene instructions; scaling and root planing; crown polishing; and reassessment and surgical periodontal therapy, when indicated, ranging from 6 to 12 months.	smokers and > 8 ppm identified the smokers. The individuals were grouped in smokers or non-smokers, and the number of cigarettes smoked per day was not included in this study.	Smokers had the highest TL rates. OR = 4.76 (95% CI: 1.42–15.89).
Leung <i>et al.</i> (2006)	This study identified the risk indicators associated with TL and periodontitis in individuals undergoing PMT.	97 individuals.	5–12 years The subjects were all instructed to perform their own PMT. At each first callback visit, they completed a questionnaire with a trained interviewer to record the reasons for TL.	Eleven of the previously treated patients were current smokers, with a self-reported cumulative consumption of 0.5–56.9 pack-years.	TL due to periodontal reasons was 2.5 times higher in smokers than in non-smokers.
Konig <i>et al.</i> (2002)	This study determined the treatment outcomes of compliant periodontal patients observed for at least 8 years. All patients had been treated for moderate to advanced periodontitis and regularly received PMT.	142 individuals.	8–13 years. During PMT, dental prophylaxis and/or subgingival debridement were performed when the operator found necessary, and periodontal conditions were documented annually	The article mentions smokers and non-smokers, but does not describe the criteria for smoking.	Smoking was significantly associated with TL ($r^2 = 0.12$).

	with PD charts and IP values, with a 12-month interval between each recall.
--	---

APT=active periodontal therapy; BOP= bleeding on probing; CAL= clinical attachment level; CI= confidence interval; IC= irregular compliance; OR=odds ratio; PD= probing depth; PI= plaque index; PMT= periodontal maintenance therapy; RC=regular compliance; TL,=tooth loss.

Table 2 – Case-control studies characteristics

<i>Study</i>	<i>Study design</i>	<i>Participants</i>	<i>Maintenance interventions</i>	<i>Smoking status</i>	<i>Primary outcome</i>
Costa <i>et al.</i> (2013)	This study investigated the influence of glycemic control in the progression of periodontitis and TL during PMT.	92 individuals.	5 years. Subjects were monitored at a private dental clinic. PMT was performed with recall intervals of 4 to 6 months for all participants.	This study included smokers/former smokers (reported having smoked > 100 cigarettes during their lifetime) and non-smokers.	Smoking had OR = 4.1 (95% CI: 1.98–11.6) for TL.
Costa <i>et al.</i> (2012) ^a	This study investigated the association of the periodontal risk assessment model with the recurrence of periodontitis and TL during PMT.	164 individuals.	3 years. The data obtained after APT were determined at <i>baseline</i> (T1) and compared to data obtained after 3 years of follow-up (T2). T2 was performed after 9 recall visits to RC and 4 visits to IC individuals. In all the periodontal clinical examinations during the monitoring visits, we analyzed: PD, CAL, furcation involvement, BOP, suppuration, radiographic evidence of bone loss, collected after T1 and T2.	This study included non-smokers/ex-smokers and smokers: 10 to 19 or >19 cigarettes per day.	The smoking had OR = 3.41 (95% CI: 1.26–11.41) for TL.
Costa <i>et al.</i> (2012) ^b	This study evaluated and compared the periodontal status, periodontitis	288 individuals.	A minimal follow-up time of 12 months. At each recall visit (T1,	This study included smokers/former smokers (report of having smoked	For the private group, the final multivariate logistic regression models showed

	progression, TL and influence of predictable risk variables of two PMT programs over a 12-month period.		T2, T3, and T4), the following procedures were performed: interviews to determine possible changes in the variables of interest (demographic, biological, and behavioral); Periodontal assessment through clinical parameters; disclosure of oral hygiene instructions using the Bass technique, interproximal brushes, and dental floss; and mechanical debridement, where appropriate, including prophylaxis, coronary polishing, and topical application of fluoride.	>100 cigarettes throughout their lives) and non-smokers.	that smoking have OR = 3.1 (95% CI: 1.98–11.6) for TL. OR was not reported for TL associated with smoking in the public group.
Costa <i>et al.</i> (2011)	This study determined and compared the periodontal status, especially the progression of periodontitis and TL, among smokers and non-smokers RC and IC patients during PMT.	116 individuals.	3 years At each recall visit (T1, T2, T3 and T4), the following procedures were performed: interviews to determine possible changes in the variables of interest (demographic, biological and behavioral); periodontal assessment through clinical	This study included smokers/former smokers (report of having smoked >100 cigarettes throughout their lives) and non-smokers.	Smokers in the IC group had OR = 7.3 (95% CI: 1.17–14.9) for TL. RC smokers presented OR = 4.2 (95% CI: 1.42–9.89) for TL.

	parameters; disclosure of oral hygiene instructions using the Bass technique, interproximal brushes and dental floss; and mechanical debridement, where appropriate, including prophylaxis, coronary polishing, and topical application of fluoride.
--	--

APT= active periodontal therapy; BOP=bleeding on probing; CAL= clinical attachment level; CI= confidence interval; IC=irregular compliance; OR= odds ratio; PD= probing depth; PI=plaque index; PMT= periodontal maintenance therapy; RC= regular compliance; TL= tooth loss.

Table 3: Quality assessment of included cohort studies based on the Newcastle-Ottawa Scale

	König <i>et al.</i> , 2002	Leung <i>et al.</i> , 2006	Chambrone & Chambrone <i>et al.</i> , 2006	Fisher <i>et al.</i> , 2008	Ravald & Johansson, 2012	Costa <i>et al.</i> , 2014
SAMPLE SELECTION CRITERIA						
1) Representativeness of the cohort exposed (individuals undergoing PMT)						
a) Truly representative of the average individuals undergoing PMT (20%) in the community★						
b) Partially representative of the average individuals undergoing PMT (20%) in the community★	★	★	★	★	★	★
c) Selected group of affected individuals						
d) No description of the derivation of cohort						
2) Selection of the non-exposed cohort						
a) Selected from the same community as the exposed group ★	★	★	★	★	★	★
b) Selected from a different source						
c) No description of the derivation of the non-exposed group.						
3) Ascertainment of exposure (smoking individuals undergoing PMT)						
a) Secure record (pocket probing depth + bone loss + tooth loss) ★						
b) Clinical or radiographic exams ★	★	★	★	★	★	★
c) Written self-reports or data described in the clinical records						
d) No description						
4) Demonstration that outcome of interest (TL) was not presented at start of study						
a) Yes★	★	★	★	★	★	★
b) No						
COMPARABILITY OF COHORTS ★★						
1) Control of confusion factors						
a) The exposure of interest (smoking) is adjusted for one confounding variable (diabetes) ★	★	★	★	★★	★	★★
b) The exposure of interest (smoking) is adjusted for two or more factors (diabetes, gender, age, and other variables.) ★★						
ASSESSMENT OF OUTCOME (TOOTH LOSS)						
1) Tooth loss diagnostic						
a) Secure assessment using clinical and radiographic parameters ★	★	★	★	★	★	★
b) Clinical examination without radiographic assesemnt or did not meet the criteria in part (a/b)						
c) Based in self-report or assessment of clinical data						
2) Adequate follow-up time for the outcome (tooth loss) to occur						
a) Yes (more than 12 months in PMT) ★	★	★	★	★	★	★
b) No						
3) Non-response rate						
a) Complete follow up—all subjects accounted for ★						
b) Non-response rate ≤ 20%★	d	★	★	★	★	★
c) Non-response rate > 20%						
d) Not described						
SUM OF SCORES ★	7/10 (high)	8/10 (high)	8/10 (high)	9/10 (high)	8/10 (high)	9/10 (high)

* a maximum of 1 point for each item; ** a maximum of 2 points for each item; *** a maximum of 10 points; ★1 point

Table 4: Quality assessment of included case-control studies based on the Newcastle-Ottawa Scale

	Costa <i>et al.</i> , 2011	Costa <i>et al.</i> , 2012 ^a	Costa <i>et al.</i> , 2012 ^b	Costa <i>et al.</i> , 2013
SAMPLE SELECTION CRITERIA				
1) The tooth loss diagnostic in smoking individuals undergoing PMT (cases) was adequate?				
a) Clinical and radiographic examination ★	★	★	★	★
b) Clinical examination without radiographic examination				
c) Record linkage or based on self-reports				
2) Representativeness and selection of smoking individuals undergoing PMT (cases)				
a) Cases selected of private or public clinical, random sample, sample calculation ★	★	★	★	★
b) Selection biases or not satisfied the criteria "a"				
3) Selection of non-smoking individuals undergoing PMT (controls)				
a) Controls selected of private or public clinical, random sample, sample calculation ★	★	★	★	★
b) Selection biases or not satisfied the criteria "a"				
c) No description				
4) Definition of controls				
a) Non-smoking individuals undergoing PMT ★	★	★	★	★
b) No description				
COMPARABILITY OF CASES AND CONTROLS ★ ★				
1) Control of confusion factors				
a) The exposure of interest (smoking) is adjusted for one confounding variable (diabetes) ★				
b) The exposure of interest (smoking) is adjusted for two or more factors (diabetes, gender, age, and other variables) ★ ★	★	★	★	★
c) No description				
ASSESSMENT OF OUTCOME (TOOTH LOSS)				
1) Tooth loss diagnostic				
a) Secure assessment using clinical and radiographic parameters ★	★	★	★	★
b) Based in self-report or assessment of clinical data				
c) No description				
2) The same method of assessment for cases and controls				
a) Yes ★	★	★	★	★
b) No				
3) Non-response rate				
a) Non-response rate ≤ 20%, for both groups (cases and controls) ★	★	★	c	c
b) Non-response rate > 20%				
c) Not described				
SUM OF SCORES ★	8/9 (high)	8/9 (high)	7/9 (high)	7/9 (high)

* a maximum of 1 point for each item; ** a maximum of 2 points for each item; *** a maximum of 9 points; ★ 1 point

Table 5: Quality of evidence evaluated through GRADE

Quality assessment							Effect		Quality
No of studies	Study design	Risk of bias	Inconsistency	Indirectness	Imprecision	Other considerations	Relative (95% CI)	Absolute (95% CI)	
3	observational studies	not serious ^a	not serious ^b	not serious ^c	serious ^d	publication bias strongly suspected; very strong association; all plausible residual confounding would reduce the demonstrated effect	OR 4.73 (2.63 to 8.50)	5 fewer per 1,000 (from 3 fewer to 9 fewer)	⊕⊕⊕○ MODERATE

CI: Confidence interval; **OR:** Odds ratio

Explanations

a. Risk of bias due to adjusting for just one confounder; not reporting missing data. Could they have adjusted for number of cigarettes per day? But in general, studies had low risk of bias. It was considered "not serious."

b. No variation of effect among studies except that Ravald & Johansson (2012) that had larger effect but it was judged that it would not affect the inconsistency. Confidence intervals overlap, no significant heterogeneity (p=0.776) and low I2.

c. Indirectness: consider the PICO question. According to the table I did not find factors that could influence the estimate for the population (periodontal patients under PMT)

d. Imprecision: the lower and upper boundary of 95% CI might lead to different recommendations

Appendix 1. Studies selected for analysis of the full text

1. Airila-Mansson, S., Söder, B. & Klinge, B. (2005) Bone height changes in individuals with periodontal disease: a 17-year prospective longitudinal study. *Journal of Periodontology* **32**:822-827.
2. Albandar, J.M., Streckfus, C.F., Adesanya, M.R. & Winn, D.M. (2000) Cigar, pipe and cigarette smoking as risk factors for periodontal disease and tooth loss. *Journal of Periodontology* **71**:1874-1881.
3. Al-Bayaty, F.H., Wahid, N.A.A. & Bulgiba, A.M. (2008) Tooth mortality in smokers and nonsmokers in a selected population in Sana'a Yemen. *Journal of Periodontal Research* **43**:9-13.
4. Al-Shammari, K.F., Al-Khabbaz, A.K., Al-Ansari, J.M., Neiva, R. & Wang, H.L. (2005) Risk indicators for tooth loss due to periodontal disease. *Journal of Periodontology* **76**:1910-1918.
5. Al-Wahadni, A. & Linden, G.J. (2003) The effects of cigarette smoking on the periodontal condition of young Jordanian adults. *Journal of Clinical Periodontology* **30**:132-137.
6. Anand, P.S., Kamath, K.P., Shefar, B.R.C. & Anil, S. (2012) Relationship of smoking and smokeless tobacco use to tooth loss in a central indian population. *Oral Health and Preventive Dentistry* **10**:243-252.
7. Arora, M., Weuve, J., Weisskopf, M.G., Sparrow, D., Nie, H. & Garcia, R.I. (2009) Cumulative lead exposure and tooth loss in men: the normative aging study. *Environmental Health Perspectives* **117**:1531-1534.
8. Axelsson, P., Paidander, J. & Lindhe, J. (1998) Relationship between smoking and dental status in 35-, 50-, 65-, and 75-year-old individuals. *Journal of Clinical Periodontology* **25**:297-305.

9. Baharin, B., Palmer, R.M., Coward, P. & Wilson, R.F. (2006) Investigation of periodontal destruction patterns in smokers and non-smokers. *Journal of Clinical Periodontology* **33**:485-490.
10. Baljoon, M., Natto, S. & Bergström, J. (2005) Long-term effect of smoking on vertical periodontal bone loss. *Journal of Clinical Periodontology* **32**:789-797.
11. Baljoon, M., Natto, S. & Bergström, J. (2004) The association of smoking with vertical periodontal bone loss. *Journal of Periodontology* **75**:844-851.
12. Barros, S.P., Suruki, R., Loewy, Z.G., Beck, J.D. & Offenbacher, S. (2013) A cohort study of the impact of tooth loss and periodontal disease on respiratory events among COPD subjects: modulatory role of systemic biomarkers of inflammation. *PLoS ONE* **8**(8): e68592 doi:10.1371/journal.pone0058592
13. Bergström, J. (2004) Influence of tobacco smoking on periodontal bone height. Long-term observations and a hypothesis. *Journal of Clinical Periodontology* **31**:260-266.
14. Chambrone, L., Chambrone, D., Lima, L.A. & Chambrone, L.A. (2010) Weak evidence to support benefit of periodontal maintenance therapy in prevention of tooth loss. Abstracted from: Chambrone, L., Chambrone, D., Lima, L.A. & Chambrone, L.A. Predictors of tooth loss during long-term periodontal maintenance: a systematic review of observational studies. *Journal of Clinical Periodontology* **37**:675-684.
15. Chambrone, L.A. & Chambrone, L. (2006) Tooth loss in well-maintained patients with chronic periodontitis during long-term supportive therapy in Brazil. *Journal of Clinical Periodontology* **33**:759-764.
16. Costa, F.O., Cota, L.O.M., Lages, E.J.P., Lorentz, T.C.M., Oliveira, A.M.S.D., Oliveira, P.A.D. & Costa, J.E. (2011) Progression of periodontitis in a sample

- of regular e irregular compliers under maintenance therapy: a 3-year follow-up study. *Journal of Periodontology* **82**:1279-1287.
17. Costa, F.O., Cota, L.O.M., Lages, E.J.P., Oliveira, A.M.S.D., Oliveira, P.A.D., Cyrino, R.M., Lorentz, T.C.M., Cortelli, S.C. & Cortelli, J.R. (2013) Progression of periodontitis and tooth loss associated with glycemic control in individuals undergoing periodontal maintenance therapy: a 5-year follow-up study. *Journal of Periodontology* **84**:595-605.
18. Costa, F.O., Cota, L.O.M., Lages, E.J.P., Oliveira, A.P.L., Cortelli, S.C., Cortelli, J.R., Lorentz, T.C.M. & Costa, J.E. (2012) Periodontal risk assessment model in a sample of regular and irregular compliers under maintenance therapy: a 3-year prospective study. *Journal of Periodontology* **83**:292–300.
19. Costa, F.O., Lages, E.J.P., Cota, L.O.M., Lorentz, T.C.M., Soares, R.V. & Cortelli, J.R. (2014) Tooth loss in individuals under periodontal maintenance therapy: 5-year prospective study. *Journal of Periodontal Research* **49**:121-128.
20. Costa, F.O., Santuchi, C.C., Lages, E.J.P., Cota, L.O.M., Cortelli, S.C., Cortelli, J.R., Lorentz, T.C.M. & Costa, J.E. (2012) Prospective study in periodontal maintenance therapy: comparative analysis between academic and private practices. *Journal of Periodontology* **83**:301-311.
21. Fisher, S., Kells, L., Picard, J.P., Gelskey, S.C., Singer, D.L., Lix, L. & Scott, D.A. (2008) Progression of periodontal disease in a maintenance population of smokers and non-smokers: a 3-year longitudinal study. *Journal of Periodontology* **79**:461-468.
22. Jansson, L. & Lavsted, S. (2002) Influence of smoking on marginal bone loss

- and tooth loss – a prospective study over 20 years. *Journal of Clinical Periodontology* **29**:750-756.
23. Jimenez, M., Hu, F.B., Marino, M., Li, Y. & Joshipura K.J. (2012) Type 2 diabetes mellitus and 20 year incidence of periodontitis and tooth loss. *Diabetes Research and Clinical Practice* **98**:494-500.
24. Johannsen, A., Susin, C. & Gustafsson, A. (2014) Smoking and inflammation: evidence for a synergistic role in chronic disease. *Periodontology 2000* **64**:111-128.
25. Kaldahl, W.B., Johnson, G.K., Patil, K.D. & Kalkwarf, K.L. (1996) Levels of cigarette consumption and response to periodontal therapy. *Journal of Periodontology* **67**:675-681.
26. Kaldahl, W.B., Kalkwarf, K.L., Patil, K.D., Molvar, M.P. & Dyer, J.K. (1996) Long-term evaluation of periodontal therapy: II. Incidence of sites. Breaking down. *Journal of Periodontology* **67**:103-108.
27. König, J., Plagmann, H.C., Rühling, A. & Kocher, T. (2002) Tooth loss and pocket probing depths in a compliant periodontally treated patients: a retrospective analysis. *Journal of Clinical Periodontology* **29**:1092-1100.
28. Leung WK, Ng DKC, Jin L, Corbet EF. (2006) Tooth loss in treated periodontitis patients responsible for their supportive care arrangements. *Journal of Clinical Periodontology* **33**:265-275.
29. Machtei, E.E., Hausmann, E., Dunford, R., Grossi, S., Ho, A., Davis, G., Chandler, J., Zambon, J. & Genco, R.J. (1999) Longitudinal study of predictive factors for periodontal disease and tooth loss. *Journal of Clinical Periodontology* **26**: 374-380.
30. Mendoza, A.R., Newcomb, G.M. & Nixon, K.C. (1991) Compliance with

- supportive periodontal therapy. *Journal of Periodontology* **62**:731-736.
31. Muzzi, L., Nieri, M., Cattabriga, M., Rotundo, R., Cairo, F. & Pini Prato, G.P. (2006) The potential prognostic value of some periodontal factors for tooth loss: a retrospective multilevel analysis on periodontal patients treated and maintained over 10 years. *Journal of Periodontology* **77**:2084-2089.
32. Papantonopoulos, G.H. (2004) Effect of periodontal therapy in smokers and non-smokers with advanced periodontal disease: results after maintenance therapy for a minimum of 5 years. *Journal of Periodontology* **75**:839-843.
33. Ramseier, C.A., Kobrehel, S., Staub, P., Sculean, A., Lang, N.P. & Salvi, G.E. (2014) Compliance of cigarette smokers with scheduled visits for supportive periodontal therapy. *Journal of Clinical Periodontology* **41**:473-480.
34. Ramseier, C.A., Mirra, D., Schütz, C., Sculean, A., Lang, N.P., Walter, C. & Salvi, G.E. (2015) Bleeding on probing as it relates to smoking status in patients enrolled in supportive periodontal therapy for at least 5 years. *Journal of Clinical Periodontology* **42**:150-159.
35. Ravald, N. & Johansson, C.S. (2012) Tooth loss in periodontally treated patients. A long-term study of periodontal disease and root caries. *Journal of Clinical Periodontology* **39**:73-79.
36. Tonetti, M.S., Steffen, P., Muller-Campanile, V., Suvan, J. & Lang, N.P. (2000) Initial extractions and tooth loss during supportive care in a periodontal population seeking comprehensive care. *Journal of Clinical Periodontology* **27**:824-83.

ANEXO 3

Effect of compliance during periodontal maintenance therapy on levels of bacteria associated with periodontitis: a 6-year prospective study

Running title: Levels of bacteria in periodontal maintenance

Summary sentence: Regular recall visits during periodontal maintenance therapy sustained microbiological benefits provided by after active periodontal therapy over a 6-year period.

Key words: Compliance, patient; maintenance; periodontitis; microbiology.

Conflict of interest and sources of funding: The authors declare that there are no conflicts of interest. This study was supported by the National Council of Scientific and Technological Development – CNPq, Brazil (Productivity research grants #307034/2015-1; #307024/2015-6 and #402158/2016-4).

Abstract

Background: It is well established that regular compliance during periodontal maintenance therapy (PMT) maintains the stability of periodontal clinical parameters obtained after active periodontal therapy (APT). However, compliance during PMT has not yet been related to subgingival bacterial levels. Thus, this study followed individuals in PMT over 6 years and longitudinally evaluated the effects of compliance on periodontitis-associated bacterial levels and its relation to periodontal status.

Methods: From a 6-year prospective cohort study with 212 individuals in PMT, 91 were determined to be eligible. From this total, 28 regular compliers (RC) were randomly selected and matched for age and gender with 28 irregular compliers (IC). Complete periodontal examination and microbiological samples were obtained in 5 times: T1 (prior APT), T2 (after APT), T3 (2 years), T4 (4 years), and T5 (6 years). Total bacteria counts and levels of *Actinomyces naeslundii*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, and *Treponema denticola* were evaluated through quantitative polymerase chain reaction.

Results: RC presented lower tooth loss and better clinical and microbiological conditions over time when compared to IC. IC presented higher total bacterial counts and higher levels of *T.denticola*. Moreover, total bacterial counts were positively

associated with plaque index and bleeding on probing among IC, while levels of *A.naeslundii*, *T.forsythia*, and *T.denticola* were negatively associated with clinical attachment loss (4-5mm) among RC.

Conclusions: Compliance positively influenced subgingival microbiota and contributed to periodontal clinical status stability. Regular visits during PMT sustained microbiological benefits provided by APT over a 6-year period.

Introduction

Studies have demonstrated that periodontitis can be successfully treated by both non-surgical and surgical protocols.¹⁻³ However, without a regular program of periodontal maintenance therapy (PMT) comprised of periodic clinical re-evaluations, adequate biofilm control, and oral hygiene reinforcements, the benefits of active periodontal therapy (APT) can not be maintained.⁴⁻⁸ Regular compliers (RC) presented lower recurrence and progression rates of periodontitis and tooth loss.⁷⁻⁹

Recent systematic reviews pointed that studies evaluating periodontal clinical outcomes during PMT are numerous.^{10,11} However, few studies have focused on microbiological changes over time during PMT.¹²⁻¹⁷

The understanding of PMT outcomes from a microbiological perspective is relevant and timely, since periodontal disease begins or progresses when homeostasis of the subgingival biofilm is broken.¹⁸⁻²⁰ Species such as *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, and *Treponema denticola* are bacteria species with a strong correlation with clinical indicators of periodontitis.²⁰⁻²² After APT, these bacteria associated with periodontitis decrease in levels, proportions and prevalence.²³⁻²⁸ However, until the present moment, compliance during PMT was not related to bacterial subgingival levels.

In addition, as periodontitis is directly related to a complex polymicrobial biofilm,^{16,29} this microbiome, although relatively stable, presents intra- and inter-individual variations over time that is determined by multiple factors^{16,30,31} including the therapeutic interventions.³⁰ Therefore, it was hypothesized that favorable subgingival microbiological changes should occur among CR in comparison to irregular compliers (IC) during PMT.

It is important to note that, to the best of our knowledge, this is the first study with a prospective design that relates compliance over time during PMT with subgingival bacterial levels. In this sense, the aim of the present study was to longitudinally evaluate over 6 years the effect of compliance during PMT on the levels of *A. naeslundii*, *P. gingivalis*, *T. forsythia* and *T. denticola* and their correlation with periodontal clinical condition.

Materials and Methods

Study Design and Sampling Strategy

The sample for this prospective study was recruited from a cohort study with 212 individuals, aged 23-70 years old, who were included in a PMT program and monitored in a private dental clinic in Belo Horizonte city, Brazil (from August 2006 to February 2014) over a 6-year period of consecutive recall visits. The present study was approved by the Research Ethics Committee of the Federal University of Minas Gerais, Brazil (protocol #060/05).

Initially, individuals with good general health who underwent APT (comprised of non-surgical and/or surgical procedures) were included in the sample according to the following criteria: (a) diagnosis of chronic moderate to advanced periodontitis³² (excluding any possibility of aggressive periodontitis cases); prior to APT, presence of least 4 sites with probing depth (PD) \geq 5mm and clinical attachment loss (AL) \geq 3mm, bleeding on probing (BOP) and/or suppuration (SU), and radiographic evidence of bone loss; (b) completion of APT in a period of less than 4 months prior to entry into the PMT program; and (c) at least 14 teeth in the oral cavity.⁶

Clinical periodontal condition and tooth loss of this cohort (n=212) at a 5-year prospective study was previously reported in Costa et al.⁸ Thus, in this present study according to the pattern of compliance during PMT visits, individuals from this cohort were classified as regular compliers (RC; n = 85 individuals who were 100% compliant for PMT visits, with a maximum between-visits interval period of 6 months) or irregular compliers (IC; n = 99 individuals that missed any of the PMT visits but continued to appear on an irregular basis, with a maximum interval of 18 months).³ During this 6-year follow-up period 28 individuals were lost.

Thus, in a post hoc data analysis, out of 85 RC and 99 IC, 93 were excluded from the microbiological study due to: antimicrobial use within 3 months prior to the

last PMT visit (n = 34); smokers/former-smokers (n = 41), and diabetes (n = 18). Finally, from 44 RC and 47 IC eligible individuals, 28 RC were randomly selected (simple random process) and matched for age and gender to 28 IC. Smoking, diabetes, age, and gender were controlled because they are recognized confounders. Therefore, the present study sample comprised two groups: 28 RC and 28 IC (Figure 1).

Sample size calculation was performed considering PD changes (>4mm) as the primary outcome for the recurrence of periodontitis. Considering a significance level of 5%, power of 80%, and a 15% minimum difference between groups in relation to PD change (mean values), a calculated number of ~23 individuals per group was determined to be necessary. Microbial count changes were determined to be the secondary outcome and were based on the *posteriori* mean bacterial counts found in the present study. It is important to note that the coefficient of variation for bacterial counts in the present study was ~15%, indicating study outcome precision.

Data Collection

Clinical data was collected in 5 evaluation times: T1 (prior to APT), T2 (after APT), T3 (last visit in 24 months), T4 (last visit in 48 months) and T5 (last visit in 72 months). Plaque index (PI)³³, PD, AL, and BOP were recorded in 4 periodontal sites/tooth with a manual periodontal probe[‡] (circumferential probing, recording the highest values for each mesial, distal, vestibular, and lingual sites). Methodology for data collection and periodontal clinical procedures during all PMT visits were the same as reported by Lorentz et al.⁶ and Costa et al.³ During the PMT visits, the following procedures were performed: (a) oral hygiene instructions; (b) coronal prophylaxis and fluoride application; and (c) mechanical non-surgical or surgical debridement, when appropriate.

Data regarding gender, age, co-habitation status, educational level, smoking (according to Lang & Tonetti)³⁴, and diabetes (according to American Diabetes Association)³⁵ were collected. In addition, all collected data that might have presented temporal changes were confirmed at the last PMT visit.

[‡] PCPUNC15BR and PQ2NBR, Hu-Friedy®, Chicago, USA

Determination of recurrence of periodontitis and retreatment needs

Sites with recurrence of periodontitis after APT, that is showing PD ≥ 4 mm and AL ≥ 3 mm, together with the persistence and/or presence of BOP and/or SU, during any of the subsequent recall evaluations,^{3,5} were determined as having retreatment needs. Individuals diagnosed with recurrence or having sites with residual probing depth changes were first re-treated with mechanical subgingival debridement (non-surgical treatment). After periodontal re-evaluation (45 to 60 days), sites with persistent PD ≥ 5 mm and AL ≥ 3 mm underwent surgical procedures (preferably Widman modified flap surgery). Regenerative techniques, biomaterials, and antibiotics were not used in surgical procedures.

Inter- and Intra-examiner Agreement

All of the interviews, examinations, and clinical periodontal procedures were performed by 2 trained and calibrated periodontists (F.O.C and Eugenio J.P. Lages), randomly for RC and IC participants. Measurements of PD and AL were recorded and repeated within a 1-week interval for 10 individuals randomly selected from both groups at baseline and at T5. The data was tested with a non-parametric kappa test and intra-class correlation. The kappa coefficients for both intra- and inter-examiner, as well as intra-class correlation coefficients, were greater than 0.87.

Microbiological Collection and Analyses

Subgingival samples were collected at T1, T2, T3, T4, and T5 in eight periodontal sites, two in each quadrant (periodontal sites with the higher PD associated with BOP and AL, were evaluated at each time), for each individual as previously described by our group.²⁷ The bacterial cells in the microtubes were dispersed using a vortex mixer at maximum speed for one minute, and the resulting bacterial suspension was saved in a freezer at -80°C until laboratorial processing.

Genomic DNA (gDNA) was extracted and purified from the pellet using DNA Mini Kit[§] according to manufacturer's specifications. Quantification of the total number of bacterial cells, *A. naeslundii*, *P. gingivalis*, *T. forsythia*, and *T. denticola* was carried out by quantitative real time polymerase chain reaction (qPCR) using TaqMan assay.^{**} The following primers/probes were designed using a primer

[§] PureLink® Genomic, Life Technologies, Carlsbad, USA.

^{**} TaqMan® Universal PCR Master Mix II, Life Technologies, Carlsbad, USA.

software[¶] and were previously described by our group³⁶: *A. naeslundii* (forward: GTCTCAGTTCGGATCGGTGT; reverse: CCGGTACGGCTACCTTGTTA; probe: TACGTTCTCGGGCCTTGTAC); *P. gingivalis* (forward: ACCTTACCCGGGATTGAAATG); reverse: CAACCATGCAGCACCTACATAGAA; probe: VICATGACGATGGTGAAAACCGTCTTCCCTTCTAMRA); *T. forsythia* (forward: AGCGATGGTAGCAATACCTGTC; reverse: TTCGCCGGGTTATCCCTC; probe: 6FAMCACGGGTGAGTAACGTAMRA); *T. denticola* (forward: CCGAATGTG CTCATTTACATAAAGGT; reverse: GATACCCATCGTTGCCTTGGT; probe: 6FAMATGGGCCC GCGTCCCATTAGC TAMRA); Universal (forward: TGGAGCATG TGGTTTAATTCTGA; reverse: TGCGGGACTTAACCCAACA; probe: VICCACGAG CTGACGACAAGCCATGCATAMRA) in an ABI 7500 Fast Real Time PCR System^{¶¶} following manufacturer's instructions in 20 ul reactions. The qPCR conditions were: 50° C for 2 minutes, 95° C for 10 minutes, 40 cycles of 95° C for 15 seconds, and 60° C for 1 minute.

The absolute quantification of the target organism was determined by the plotting of the cycle threshold (Ct) value obtained from each clinical sample against a standard curve generated with a known concentration of gDNA of reference bacterial strains in 10-fold serial dilutions. Negative control (purified PCR-grade water instead of the DNA template) was included in all PCR reactions.

Statistical Analysis

For the longitudinal comparative analysis of the clinical parameters between evaluation times, the Friedman test was used. For the comparison between the CR and CI groups, the Mann-Whitney test was used. Mean values were obtained by summing the PD, AL, and BOP values of all sites divided by the number of sites evaluated. The percentage refers to the total of affected sites in relation to the total number of sites present at the time of evaluation. For the microbiological analyses, the same statistical tests were used. However, analyzes were performed by calculating the percent change of these variables at times T3, T4 and T5 in relation to the result observed in T2 (after APT) considering the following formula:

$$\frac{\text{Result Time (T3 or T4 or T5)} - \text{Result T2}}{\text{Result T2}} \times 100\%$$

[¶] Software primer 3 online, Simgene, Hamilton, Canada.

^{¶¶}Life Technologies, Carlsbad USA.

It should be noted that microbiological data on T1 were presented only to characterize the initial microbiological condition (T1 prior to APT; no comparison with other times). The individuals were the units of analysis. Spearman's correlation (r) was used to evaluate the relationship between bacterial levels and periodontal condition between groups and evaluation times.

All results were analyzed in the statistical software,^{§§} and were considered significant with a probability of significance inferior to 5% ($p < 0.05$).

Results

After applying selected exclusion criteria, randomization, age and gender matching strategies the final microbiological study population was composed of 28 RC and 28 IC (Figure 1). Due to this matching group strategy, at baseline RC (52.5 ± 7.3 years) and IC (54.6 ± 7.5 years) showed a similar mean age and an equal gender distribution (50% of females [$n = 14/\text{group}$] and 50% of males [$n = 14/\text{group}$]). Regarding the number of dental visits RC attended to a mean of 12.5 ± 1.1 dental visits while IC only attended to 4.9 ± 0.8 dental visits within 6 years of accompaniment.

When RC and IC were compared (Table 1; intergroup analysis) results indicated that RC kept healthier regarding clinical periodontal status. In the period of maintenance (T3, T4 and T5) RC showed more expressive improvements in PI and percentage of PD4-5mm, PD>5mm and BOP. No difference was observed between RC and IC regarding AL.

Among IC, plaque and percentage of periodontal sites showing PD >5mm, AL >5mm and BOP increased in different study time-points (Table 1; intragroup analysis). On the contrary, among RC only one increase was observed. The percentage of sites showing PD>5mm was higher at T4. However, at T5 this percentage decreased and returned to values similar to those observed after therapy (T2).

The groups were homogeneous in relation to the number of teeth present in T1 (RC= 23.9 ± 2.9 and IC= 24.0 ± 2.8 ; $p=0.42$) and T2 (RC= 23.7 ± 2.8 and IC= 23.5 ± 2.9 ; $p = 0.47$). During the 6-year monitoring period (between T2 and T5), the RC group lost 12 teeth (mean 0.7 ± 0.8 teeth lost) and IC group lost 39 teeth (mean 1.8 ± 1.4 teeth lost), reflecting a higher tooth loss rate among IC individuals ($p=0.002$).

^{§§}SPSS 17.0 – Statistical Package for Social Sciences, Version for Windows - SPSS Inc., Chicago, IL.

Regarding the microbiological findings, intragroup analysis showed that total bacterial load remained unchanged in RC throughout the study. On the other hand in IC the reduced total amount of bacteria observed after therapy (T2) increased overtime (T3, T4 and T5) while red complex species had already showed increase values at the second year (Table 2). These findings were not supported by a direct influence of *T. denticola* counts, since a comparative analysis of the sum of *P. gingivalis* + *T. forsythia* counts showed significant differences over time for both groups (data not shown).

In addition, intergroup analysis (Table 2) demonstrated that after APT (T2) all microbial parameters showed no difference between IC and RC. However, the total amount of subgingival bacteria and levels of *T. denticola* were higher among IC in the 2nd, 4th and 6th years of observation.

A. naeslundii kept similar levels at both groups overtime. In IC, among searched bacterial species *T. forsythia* took the longest time to increase and *T. denticola* showed a progressive increase throughout the years. In RC, *P. gingivalis* showed similar lower levels from T2 with an additional reduction observed at T4. Interestingly, *T. denticola* levels only decreased at T3 demonstrating additional bacterial benefits from periodontal maintenance procedures (Table 2).

Figure 2 illustrates the different microbiological (2A) and clinical (2B) behavior between the groups RC and IC. Relative homogeneity between groups is only observed at T2. Clinical improvements provided by APT tended to be sustained overtime in the RC group. On the other hand, clinical status in the IC group tended to become worse overtime. Microbiologically, it can also be observed a tendency of additional reductions in the RC group at T3, T4 and/or T5.

Associations between clinical and microbial variables were determined by Spearman correlation test. The majority of significant correlations were moderate. Positive correlations were more frequent in the IC group while negative correlations were more frequent in the RC group. In the 6th year of maintenance no significant correlation was observed between clinical and microbial parameters. In the 2nd and 4th years total bacterial load was positively associated with plaque scores and bleeding in IC. In this same group, *T. denticola* and red complex species were negatively correlated to severe AL (>5mm). Also in the 2nd and 4th years, *A.*

naeslundii, *T. forsythia*, *T. denticola* and red complex species were negatively associated with a different category of AL (4-5mm) in the RC group (Table 3).

Discussion

Periodontitis is a chronic disease with episodic nature whose recurrence is a major concern by patients and professionals.³ However, due to high cost, logistics, and difficulties to perform, few longitudinal studies have evaluated the behaviour of periodontal patients over time.^{3,6-8,14} In addition, the influence of compliance on clinical and microbiological outcomes has also been scarcely investigated. Therefore, the definition of appropriate intervals between PMT visits is partly empirical.

The present study followed two distinct patient profiles: those who remained adherent to PMT after APT and those who attended irregularly to the maintenance visits. It should be noted that important confounding factors were controlled in the present sample (age, gender, smoking, and diabetes). Smoking and poor metabolic control of diabetes strongly influence the progression of periodontitis.^{34,37,38} In addition to the compliance evaluation, special attention should be given to observations on the fourth (T4) and the sixth year (T5) of monitoring that are unpublished aspects in the follow-up of this cohort. In the available studies on PMT, the follow-up periods were shorter: 3 months¹⁷, 9 months¹² or 12 months¹⁵, and 2 years¹⁶ or 3 years¹⁴. It was still not known, until now, whether PMT would be sufficient to maintain the periodontal condition over six years.

Many studies have reported low rates of compliance and have emphasized its importance in maintaining good periodontal status.^{6,11,39,40} Interestingly, all strategies to increase adherence to PMT visits (oral, written, and video instructions) were also available to all participants. In addition, there were no costs for individuals to participate in this survey. Thus, it is observed that adherence and compliance involves numerous factors including personality traits and psychoemotional aspects.^{7,10}

In the present study, the IC group presented a mean of 4.9 (± 0.8) visits. The regular compliance profile (RC group), with a mean of 12.5 (± 1.1) visits, showed a positive influence on the monitored periodontal parameters. In the period of maintenance RC showed more expressive improvements in PI and percentage of PD4-5mm, PD>5mm and BOP. No difference was observed between RC and IC

regarding AL. However, isolate analysis of AL may reflect past loss of periodontal attachment instead of actual active disease.^{5,41} Additionally, the IC group presented significantly greater tooth loss than the RC group. Overall, RC had a better clinical and microbiological status than IC. In this manner, findings from the present study corroborate previous clinical^{5,6,8,39,40} and microbiological findings^{12-16,42} that determined the crucial role of PMT for a good periodontal health.

Findings from the present study demonstrated that the total bacteria count can remain at post-therapy levels for extended periods of time. This maintenance was shown to be compatible with beneficial changes in periodontal clinical parameters. The RC group presented better periodontal clinical parameters when compared to the IC group. Demirel & Efeodlu³⁹, Demetriou et al.⁴⁰, Lorentz et al.⁶, and Costa et al.⁷ have previously emphasized that complier patients presented less progression of periodontitis than non-compliers.

It is well established in the literature that biofilm control is a determinant factor for the success of PMT.^{5,7,10,11} In the present study, the IC group presented significantly higher values than those of the RC group in all phases of the study, with the exception of the baseline. In addition, the IC group showed a significant increase in PI in the last three phases of the study (T3, T4, and T5).

Previous studies^{6,7,37} reinforced the importance of the constant motivation and oral hygiene instructions during PMT. Interestingly, there were similarities between the patterns of PI and BOP over time (Figure 2). At baseline, RC and IC groups did not differ in relation to the percentage of sites with BOP. On the other hand, in the other study evaluation times, significantly lower values were observed in the RC group. Thus, the absence of BOP during PMT visits was a good predictor of periodontal stability.^{7,43,44} When compared to the IC group, the RC group had lower levels of bacteria species that are typically associated with BOP and periodontal disease activity^{14,18} These results were corroborated by previous studies.^{44,45}

Periodontal pockets are propitious environments to the maturation of subgingival biofilm. The RC group presented lower % of sites with PD between 4-5mm in the evaluations after APT and managed to keep the % of deep pockets (sites with PD >5mm) unchanged, while the IC group presented an increase in the second year of monitoring. Other studies^{4,46} have also described beneficial clinical effects of PMT, that were determined to be fundamental for maintaining periodontal stability.^{3,10}

In addition to the reductions in the % of periodontal sites with PD >4mm, the CR group also exhibited significant reduction in total bacterial count which was maintained over time. This result is very relevant because, in the transition from health to disease, quantitative alterations occur first^{18,19} and qualitative changes are only later observed in the biofilm.²⁰ In the study by Teles et al.¹⁴, with 55 periodontally healthy individuals and 57 individuals with periodontitis that were clinically and microbiologically monitored for 3 years, a higher risk for the progression of periodontitis was suggested to be related to a greater exposure to bacteria associated with periodontitis. This fact was also observed by other studies.^{15,41,4,48} In the present study, the present invention is described in detail in the literature.

The present study has some limitations such as the evaluation of a few number of bacterial species from a few periodontal sites, in addition to the use of qPCR which cannot distinguish viable bacterial cells from extracellular DNA, and may overestimate bacterial counts.⁴⁹ However, there are great challenges in the interpretation of studies on subgingival biofilm in a multifactorial manner. Nevertheless, it is important to note that any change in the environment can have an impact on the microbiota, which in turn is capable of inducing changes in the host's response, generating an amplification loop of the periodontal disease process.^{22,30} Thus PMT can be an important tool to generate positive impacts on the subgingival microbiota.

In this sense, during the 6-years follow-up period, individuals of the CR group presented better periodontal conditions, both clinical and microbiological, and lower tooth loss demonstrating the importance of regular visits, constant motivation, and reinstruction during PMT. Moreover, once individuals are properly monitored during PMT, incipient inflammatory processes can be detected and treated before disease progression.

In conclusion, compliance positively influenced subgingival microbiota and, therefore, contributed to periodontal clinical status stability. Regular recall visits during PMT sustained microbiological benefits provided by APT over a 6-year period.

Acknowledgments

The authors thank Ms. Ana Abreu for their assistance with the statistical analysis (private statistical consultancy), Dr. Eugenio José Pereira Lages, Mrs. Milene Aparecida Mendes da Rocha, Mrs. Elizabeth Dolher and Ms. Wilciane

Machado da Silva (private dental clinic, Belo Horizonte, Brazil) for their assistance with the periodontal maintenance therapy visits and monitoring of periodontal patients.

References

1. Claffey N, Polyzois I, Ziaka P. An overview of non-surgical and surgical therapy. *Periodontol.* 2000;36:35-44.
2. Harrel SK, Nunn ME. Longitudinal comparison of the periodontal status of patients with moderate and severe periodontal disease receiving no treatment, non-surgical treatment, and surgical treatment utilizing individual sites for analysis. *J Periodontol.* 2001;72:1509-1519.
3. Costa FO, Cota LO, Cortelli, JR. et al Surgical and non-surgical procedures associated with recurrence of periodontitis in periodontal maintenance therapy: 5-year prospective study. *PLoS One* 2015;23:e0140847.
4. Fardal O. Interviews and assessments of returning non-compliant periodontal maintenance patients. *J Clin Periodontol.* 2006;33:216-220.
5. Matuliene G, Studer R, Lang NP, et al. Significance of periodontal risk assessment in the recurrence of periodontitis and tooth loss. *J Clin Periodontol.* 2010;37:191-199.
6. Lorentz TCM, Cota LOM, Cortelli JR, Vargas AMD, Costa FO. Prospective study of complier individuals under periodontal maintenance therapy: analysis of clinical periodontal parameters, risk predictors and the progression of periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2009;36:58–67.
7. Costa FO, Miranda Cota LO, Pereira Lages EJ, et al. Oral impact on daily performance, personality traits, and compliance in periodontal maintenance therapy. *J Periodontol.* 2011;82:1146-1154.
8. Costa FO, Lages EJP, Cota LOM, et al. Tooth loss in individuals under periodontal maintenance therapy: 5-year prospective study. *J Periodont Res* 2014;49:121-128.
9. Renvert S, Persson GR. Supportive periodontal therapy. *Periodontol.* 2000 2004;36:179–195.
10. Lee CT, Huang HY, Sun TC, Karimbux N. Impact of patient compliance on tooth loss during supportive periodontal therapy: a systematic review and

- meta-analysis. *J Dent Res* 2015;94:777-786.
11. Armitage GC, Xenoudi P. Post-treatment supportive care for the natural dentition and dental implants. *Periodontol.* 2000 2016;71:164-184.
 12. Colombo AP, Teles RP, Torres MC, et al. Effects of non-surgical mechanical therapy on the subgingival microbiota of Brazilians with untreated chronic periodontitis: 9-month results. *J Periodontol.* 2005;76:778-84.
 13. Agerbaek MR, Lang NP, Persson GR. Microbiological composition associated with interleukin-1 gene polymorphism in subjects undergoing supportive periodontal therapy. *J Periodontol.* 2006;77:1397-1402.
 14. Teles R, Socransky SS, Haffajee AD. Disease progression in periodontally healthy and maintenance subjects. *J Periodontol.* 2008;79:784-794.
 15. Byrne SJ, Dashper SG, Darby IB, Adams GG, Hoffmann B, Reynolds EC. Progression of chronic periodontitis can be predicted by the levels of *Porphyromonas ginigvalis* and *Treponema denticola* in subgingival plaque. *Oral Microbiol Immunol.* 2009;24:469-477.
 16. Charalampakis G, Dahlén G, Carlén A, Leonhardt A. Bacterial markers vs. clinical markers to predict progression of chronic periodontitis: a 2-yr prospective observational study. *Eur J Oral Sci.* 2013;121:394–402.
 17. Cosyn J, Princen K, Miremedi R, Decat E, Vaneechoutte M, De Bruyn H. A double-blind randomized placebo-controlled study on the clinical and microbial effects of an essential oil mouth rinse used by patients in supportive periodontal care. *Int J Dent Hyg.* 2013;11:53-61.
 18. Haffajee AD, Cugini MA, Tanner A. et al. Subgingival microbiota in healthy, well-maintained elder and periodontitis subjects. *J Clinical Periodontol.* 1998;25:346-353.
 19. Abusleme L, Dupuy AK, Dutzan N. et al. The subgingival microbiome in health and periodontitis and its relationship with community biomass and inflammation. *Int Soc Microbial Ecol J.* 2013;7:1016-1025.
 20. Diaz PI, Hoare A, Hong B.Y. Subgingival microbiome shifts and community dynamics in periodontal diseases. *J Dent Californian Assoc.* 2016;44:421-35.
 21. Haffajee AD, Socransky SS. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontol.* 2000 1994;5:78-111.
 22. Loozen G, Ozcelik O, Boon N, et al. Inter-bacterial correlations in subgingival

- biofilms: a large-scale survey. *J Clin Periodontol.* 2014;41:1-10.
23. Haffajee AD. Systemic antibiotics: to use or not use in the treatment of periodontal infections. That is the question. *J Clin Periodontol.* 2006;33:359-361.
24. Oteo A, Herrera D, Figuero E, O'Connor A, Gonzalez I, Sanz M. Azithromycin as an adjunct to scaling and root planing in the treatment of *Porphyromonas gingivalis*-associated periodontitis: a pilot study. *J Clin Periodontol.* 2010;37:1005-1015.
25. Sampaio E, Rocha M, Figueiredo LC, et al. Clinical and microbiological effects of azithromycin in the treatment of generalized chronic periodontitis: a randomized placebo-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2011;38:838–846.
26. Silva MP, Feres M, Siroto TA et al. Clinical and microbiological benefits of metronidazole alone or with amoxicillin as adjuncts in the treatment of chronic periodontitis: a randomized placebo-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2011; 38:828–837.
27. Fonseca DC, Cortelli JR, Cortelli SC et al. Clinical and microbiological evaluation of scaling and root planing per quadrant and one-stage full mouth disinfection associated with azithromycin or chlorhexidine: a clinical randomized controlled trial. *J Periodontol.* 2015;86:1340-1351.
28. Tamashiro NS, Duarte PM, Miranda TS. et al. Amoxicillin plus metronidazole therapy for patients with periodontitis and type 2 diabetes: a 2-year randomized controlled trial. *J Dental Res.* 2016;95:829-36.
29. Teles RP, Haffajee AD, Socransky SS. Microbiological goals of periodontal therapy. *Periodontol.* 2000 2006;43:180–218.
30. Marsh P., Moter A, Devine DA. Dental plaque biofilms: Communities, conflict and control. *Periodontol.* 2000 2011;55:16-35.
31. Socransky SS, Haffajee AD, Teles R, et al. Effect of periodontal therapy on the subgingival microbiota over a 2-year monitoring period. I. Overall effect and kinetics of change. *J Clin Periodontol.* 2013;40:771-780.
32. Armitage, G.C. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol.* 1999;4:1-6.
33. Turesky S, Gimore ND, Glickman I. Reduced plaque formation by the

- chloromethyl analogue of vitamin C. *J Periodontol.* 1970;41:41-43.
34. Lang NP, Tonetti MS. Periodontal risk assessment (PRA) for patients in supportive periodontal therapy (SPT). *Oral Health Preven Dentist.* 2003;1:7-16.
35. American Diabetes Association. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2003;26:S5-S20.
36. Cortelli SC, Costa FO, Rodrigues E, Cota LO, Cortelli JR. Periodontal therapy effects on nitrite related to oral bacteria: A 6-month randomized clinical trial. *J Periodontol.* 2015;86:984-94
37. Preshaw PM, Heasman PA. Periodontal maintenance in a specialist periodontal clinic and in general dental practice. *J Clin Periodontol.* 2005;32:280-286.
38. Bandyopadhyay D, Marlow NM, Fernandes JK, Leite RS. Periodontal disease progression and glycaemic control among Gullah African Americans with type 2 diabetes. *J Clin Periodontol.* 2010;37:501-509.
39. Demirel K, Efeodlu A. Retrospective evaluation of patient compliance with supportive periodontal treatment. *J Nihon Univ Sch Dent.* 1995;37:131-137.
40. Demetriou N, Tsami-Pandi A, Parashis A. Compliance with supportive periodontal treatment in private periodontal practice. A 14-year retrospective study. *J Periodontol.* 1995;66:145-149.
41. Beltrán-Aguilar ED, Eke PI, Thornton-Evans G, Petersen PE. Recording and surveillance systems for periodontal diseases. *Periodontol.* 2000 2012;60:40–53.
42. Mineoka T, Awano S, Rikimaru T, et al. Site-specific development of periodontal disease is associated with increased levels of *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia* in subgingival plaque. *J Periodontol.* 2008;79:670-676.
43. Lang NP, Adler R, Joss A, Nyman S. Absence of bleeding on probing. An indicator of periodontal stability. *J Clin Periodontol.* 1990;17:714-721.
44. Badersten A, Nilvéus R, Egelberg J. Scores of plaque, bleeding, suppuration and probing depth to predict probing attachment loss: 5 years of observation following nonsurgical periodontal therapy. *J Clin Periodontol.* 1990;17:102-

107.

45. Claffey N, Polyzois I, Ziaka P. An overview of non-surgical and surgical therapy. *Periodontol. 2000* 2000;36:35-44.
46. Kocher T, König J, Dzierzon U, Sawaf H, Plagmann HC. Disease progression in periodontally treated and untreated patients – a retrospective study. *J Clin Periodontol.* 2000;27:866-872.
47. Papapanou PN, Baelum V, Luan WM *et al.* Subgingival microbiota in adult Chinese: prevalence and relation to periodontal disease progression. *J Periodontol.* 1997;68:651-666.
48. Holt SC, Ebersole JL. *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia*: The “red complex”, a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. *Periodontol. 2000* 2005;38:72-12.
49. Sánchez MC, Marín MJ, Figuero E, *et al.* Quantitative real-time PCR combined with propidium monoazide for the selective quantification of viable periodontal pathogens in an in vitro subgingival biofilm model. *J Periodontal Res.* 2014;49:20-8.

Figure 1. Sampling strategy flowchart.

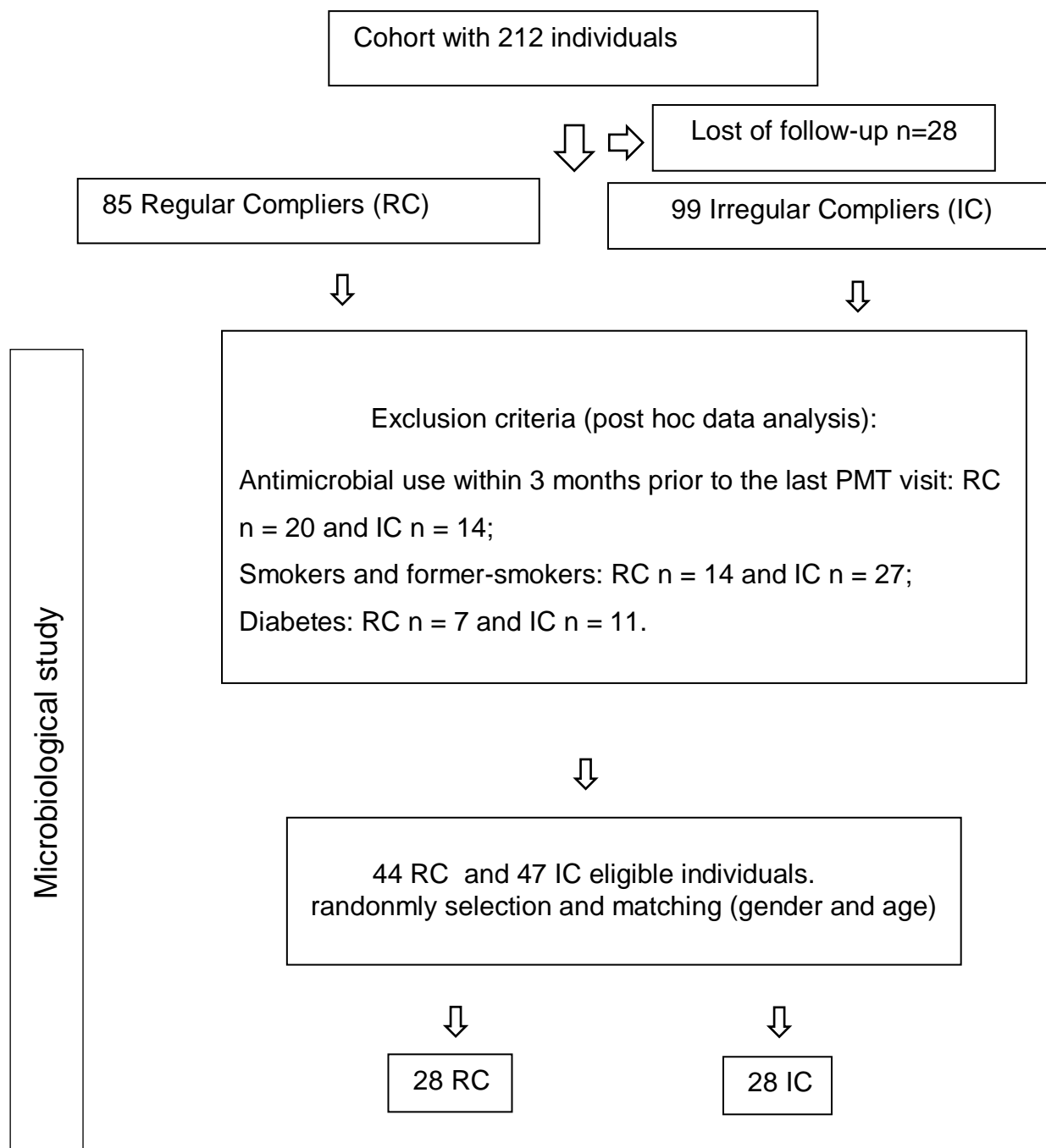


Table 1. Comparative analysis between study groups and examination times in relation to periodontal clinical parameters.

Variable	Time	Group		p
		Irregular (CI) n=28	Regular (RC) n=28	
Plaque Index	T1	46.5 ± 9.7 (Md = 44.0)	42.2 ± 8.7 (Md = 40.5)	0.065 (CI = RC)
	T2	28.9 ± 4.0 (Md = 28.0)	26.4 ± 4.2 (Md = 25.5)	0.015 (CI > RC)
	T3	37.6 ± 6.3 (Md = 36.5)	26.6 ± 4.7 (Md = 26.0)	< 0.001 (CI > RC)
	T4	39.4 ± 7.5 (Md = 3.08)	26.7 ± 6.6 (Md = 26.0)	< 0.001 (CI > RC)
	T5	40.7 ± 8.3 (Md = 37.5)	25.6 ± 4.9 (Md = 24.0)	< 0.001 (CI > RC)
	p	< 0.001 [T ₁ > (T ₃ = T ₄ = T ₅) > T ₂]		< 0.001 [T ₁ > (T ₃ = T ₄ = T ₅ = T ₂)]
% sites with PD _{4-5mm}	T1	21.9 ± 10.2 (Md = 21.1)	28.8 ± 12.2 (Md = 28.5)	0.019 (CI < RC)
	T2	18.5 ± 10.6 (Md = 18.3)	11.1 ± 10.1 (Md = 9.0)	0.003 (CI > RC)
	T3	15.7 ± 9.3 (Md = 15.7)	8.5 ± 9.0 (Md = 5.6)	< 0.001 (CI > RC)
	T4	16.3 ± 7.2 (Md = 15.3)	7.3 ± 7.4 (Md = 4.9)	< 0.001 (CI > RC)
	T5	17.7 ± 7.2 (Md = 17.1)	7.1 ± 5.8 (Md = 6.1)	< 0.001 (CI > RC)
	p	0.218 [T ₁ = T ₂ = T ₃ = T ₄ = T ₅]	< 0.001 [T ₁ > T ₂ > (T ₃ = T ₄ = T ₅)]	
% sites with PD _{>5mm}	T1	16.9 ± 10.7 (Md = 16.8)	13.9 ± 11.2 (Md = 11.7)	0.154 (CI = RC)
	T2	0.3 ± 1.0 (Md = 0.0)	0.1 ± 0.5 (Md = 0.0)	0.631 (CI = RC)
	T3	8.0 ± 5.5 (Md = 7.5)	1.1 ± 2.0 (Md = 0.0)	< 0.001 (CI > RC)
	T4	7.1 ± 5.5 (Md = 6.0)	1.3 ± 2.9 (Md = 0.0)	0.003 (CI > RC)
	T5	5.8 ± 5.7 (Md = 4.2)	0.1 ± 0.4 (Md = 0.0)	< 0.001 (CI > RC)
	p	< 0.001 [T ₁ > (T ₃ = T ₄ = T ₅) > T ₂]	< 0.001 [T ₁ > (T ₃ = T ₄) > (T ₂ = T ₅)]	
% sites with AL _{4-5mm}	T1	6.7 ± 8.7 (Md = 2.7)	6.5 ± 6.9 (Md = 5.4)	0.750 (CI = RC)
	T2	5.2 ± 7.7 (Md = 2.3)	3.7 ± 4.7 (Md = 3.1)	0.848 (CI = RC)
	T3	5.6 ± 8.8 (Md = 1.5)	2.8 ± 3.3 (Md = 2.5)	0.852 (CI = RC)
	T4	4.7 ± 7.3 (Md = 0.0)	2.4 ± 2.8 (Md = 1.6)	0.606 (CI = RC)
	T5	4.6 ± 7.0 (Md = 0.0)	2.2 ± 2.7 (Md = 1.2)	0.577 (CI = RC)
	p	0.091 [T ₁ = T ₂ = T ₃ = T ₄ = T ₅]	0.012 [T ₁ > (T ₂ = T ₃ = T ₄ = T ₅)]	
% sites with AL _{>5mm}	T1	9.3 ± 8.0 (Md = 7.0)	9.7 ± 9.8 (Md = 6.2)	0.954 (CI = RC)
	T2	10.8 ± 8.7 (Md = 6.6)	10.7 ± 13.6 (Md = 6.9)	0.385 (CI = RC)
	T3	12.2 ± 8.1 (Md = 10.9)	11.1 ± 14.0 (Md = 7.6)	0.095 (CI = RC)
	T4	11.4 ± 8.3 (Md = 9.5)	10.5 ± 14.2 (Md = 6.8)	0.198 (CI = RC)
	T5	9.2 ± 7.4 (Md = 6.4)	10.4 ± 14.3 (Md = 7.6)	0.931 (CI = RC)
	p	0.219 [T ₁ = T ₂ = T ₃ = T ₄ = T ₅]	0.816 [T ₁ = T ₂ = T ₃ = T ₄ = T ₅]	
% sites with BOP	T1	57.3 ± 17.3 (Md = 57.6)	51.7 ± 17.8 (Md = 55.8)	0.350 (CI = RC)
	T2	30.6 ± 15.0 (Md = 28.2)	18.6 ± 10.1 (Md = 17.4)	0.001 (CI > RC)
	T3	46.0 ± 13.0 (Md = 49.1)	20.4 ± 12.1 (Md = 19.8)	< 0.001 (CI > RC)
	T4	45.3 ± 12.9 (Md = 45.5)	22.8 ± 13.8 (Md = 18.2)	< 0.001 (CI > RC)
	T5	48.1 ± 14.7 (Md = 51.1)	23.4 ± 11.4 (Md = 21.7)	< 0.001 (CI > RC)
	p	< 0.001 [T ₁ > (T ₅ = T ₃ = T ₄) > T ₂]	< 0.001 [T ₁ > (T ₅ = T ₃ = T ₄) > T ₂]	

Median (Md); The probability of significance in the comparison between the times refers to the Friedman's test; the probability of significance in the comparison between the groups refers to the Mann-Whitney's test.

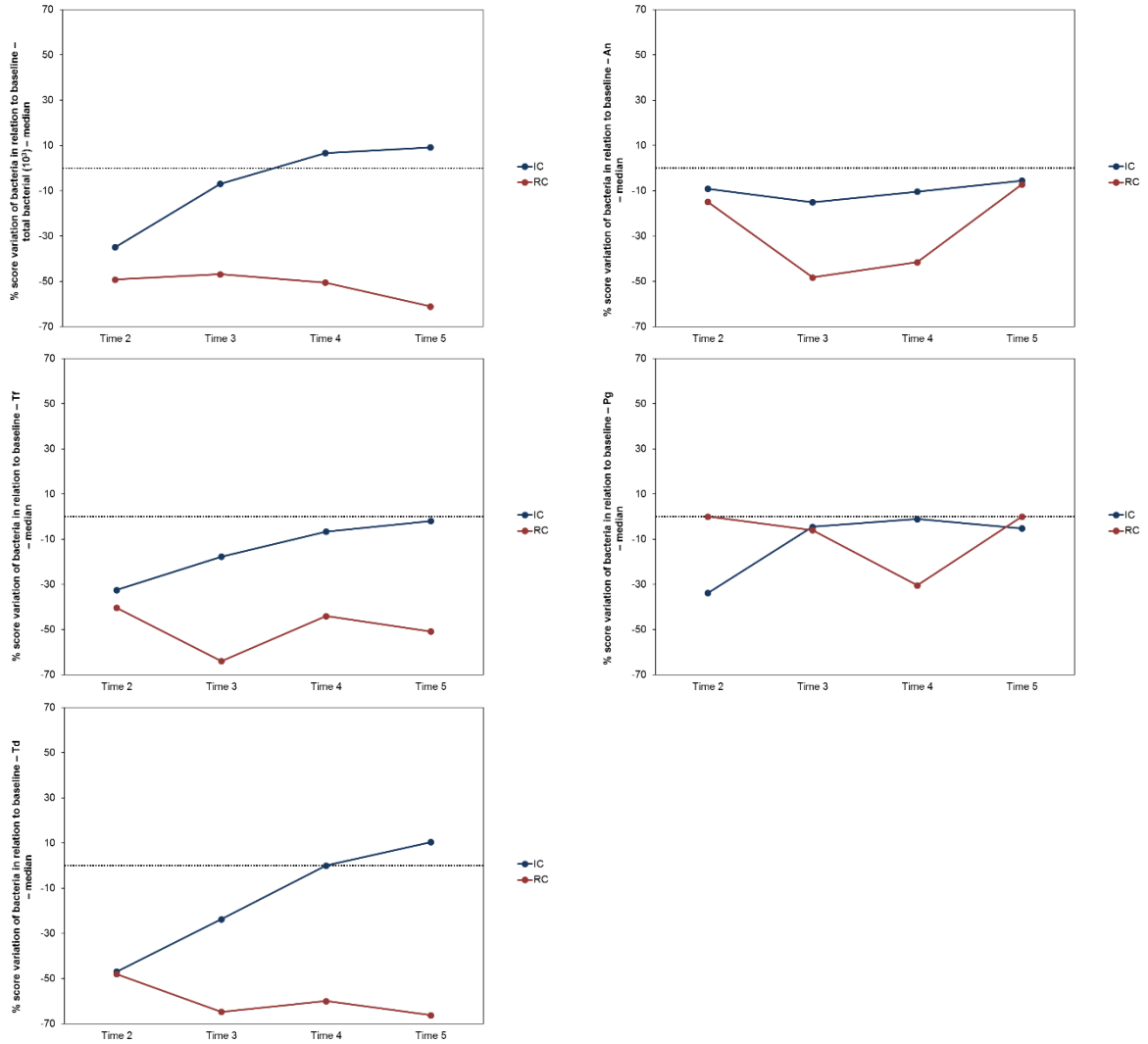
Table 2. Comparative analysis inter- and intra- RC and IC groups in relation to microbiological parameters ($\times 10^3$).

Variable	Time	Group		p
		Irregular Compliance (IC); n=28	Regular Compliance (RC); n=28	
Total bacterial	T1	15,367.9 \pm 23,484.5 (Md = 6,087.7)	10,05.1 \pm 18,386.9 (Md = 2,723.8)	0.095 (IC = RC)
	T2	75.8 \pm 389.5 (Md = -34.9)	-36.3 \pm 85.6 (Md = -49.3)	0.334 (IC = RC)
	T3	69.4 \pm 364.6 (Md = -7.0)	-4.4 \pm 232.6 (Md = -46.9)	0.010 (IC > RC)
	T4	82.0 \pm 226.8 (Md = 6.6)	50.6 \pm 512.3 (Md = -50.6)	0.001 (IC > RC)
	T5	75.3 \pm 179.5 (Md = 9.1)	-1.6 \pm 160.2 (Md = -61.1)	< 0.001 (IC > RC)
	p	0.001 [T ₂ < (T ₃ = T ₄ = T ₅); T ₃ < T ₅]	0.127 [(T ₂ = T ₃ = T ₄ = T ₅)]	
An	T1	12,549.9 \pm 17,963.8 (Md = 7,729.0)	13,198.8 \pm 26,640.7 (Md = 4,141.6)	0.909 (IC = RC)
	T2	258.0 \pm 749.1 (Md = -9.2)	5,896.4 \pm 31,281.5 (Md = -15.0)	0.281 (IC = RC)
	T3	397.4 \pm 1,329.0 (Md = -15.1)	4,934.9 \pm 25,874.6 (Md = -48.3)	0.117 (IC = RC)
	T4	493.9 \pm 1,224.6 (Md = -10.4)	4,423.3 \pm 22,937.8 (Md = -41.6)	0.143 (IC = RC)
	T5	260.6 \pm 556.3 (Md = -5.6)	6,006.9 \pm 31,252.9 (Md = -7.2)	0.219 (IC = RC)
	p	0.695 [T ₁ = T ₂ = T ₃ = T ₄ = T ₅]	0.062 [T ₁ = T ₂ = T ₃ = T ₄ = T ₅]	
Tf	T1	972.3 \pm 2,247.7 (Md = 81.8)	807.0 \pm 2,093.6 (Md = 58.8)	0.731 (IC = RC)
	T2	14,305.2 \pm 52,230.9 (Md = -32.5)	2,148.2 \pm 9,117.5 (Md = -40.4)	0.806 (IC = RC)
	T3	112,348.8 \pm 45,5753.4 (Md = -17.7)	345.3 \pm 1,456.8 (Md = -64.0)	0.123 (IC = RC)
	T4	37,262.0 \pm 140,584.6 (Md = -6.7)	263.8 \pm 1,072.3 (Md = -44.0)	0.422 (IC = RC)
	T5	9,539.0 \pm 29,819.8 (Md = -2.0)	614.1 \pm 2,245.7 (Md = -50.9)	0.088 (IC = RC)
	p	0.013 [T ₅ > (T ₂ = T ₃ = T ₄)]	0.008 [T ₂ > (T ₃ = T ₄ = T ₅)]	
Pg	T1	447.4 \pm 1,902.4 (Md = 0.4)	115.3 \pm 298.3 (Md = 0.1)	0.342 (IC = RC)
	T2	42.4 \pm 316.9 (Md = -33.8)	493.7 \pm 396.7 (Md = 0.0)	0.088 (IC = RC)
	T3	822.8 \pm 3,597.3 (Md = -4.5)	574.6 \pm 1,821.3 (Md = -6.0)	0.921 (IC = RC)
	T4	3,709.4 \pm 19,134.1 (Md = -1.1)	841.4 \pm 3,564.2 (Md = -30.5)	0.588 (IC = RC)
	T5	617.5 \pm 3,163.6 (Md = -5.3)	417.2 \pm 1,084.8 (Md = 0.0)	0.430 (IC = RC)
	p	0.010 [T ₂ < (T ₃ = T ₄ = T ₅)]	0.043 [T ₄ < (T ₂ = T ₃ = T ₅)]	
Td	T1	593.1 \pm 1,512 (Md = 0.4)	94.6 \pm 248.5 (Md = 1.8)	0.555 (IC = RC)
	T2	169.2 \pm 919.5 (Md = -47.0)	142.3 \pm 853.8 (Md = -48.0)	0.869 (IC = RC)
	T3	444.7 \pm 2,296.1 (Md = -23.8)	385.5 \pm 2,308.8 (Md = -64.8)	0.005 (IC > RC)
	T4	18,779.4 \pm 95,166.8 (Md = 0.0)	338.3 \pm 1,529.7 (Md = -60.0)	0.044 (IC > RC)
	T5	2,922.4 \pm 14,792.3 (Md = 10.3)	-20.6 \pm 114.1 (Md = -66.3)	0.007 (IC > RC)
	p	< 0.001 [T ₂ < T ₃ ; T ₃ < T ₄ ; T ₄ < T ₅]	0.004 [T ₂ > (T ₃ = T ₄ = T ₅)]	

The values shown in the table refers to $\bar{x} \pm s.d.$ and median (Md). The probability of significance in the comparison between the times refers to the Friedman's test. The probability of significance in the comparison between the groups refers to the Mann-Whitney's test.

Figure 2: Evolution the microbiology (2A) and periodontal clinical (2B) parameters during 6 years of PMT (RC and IC groups).

(2A) Microbiology parameters



(2B) Periodontal Clinical Parameters

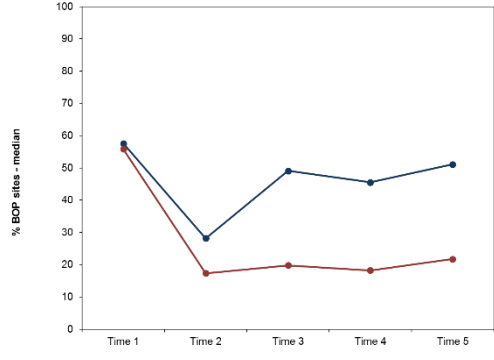
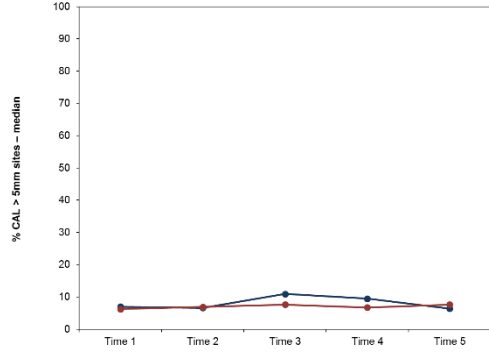
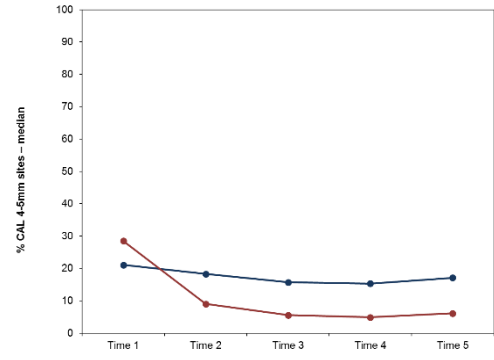
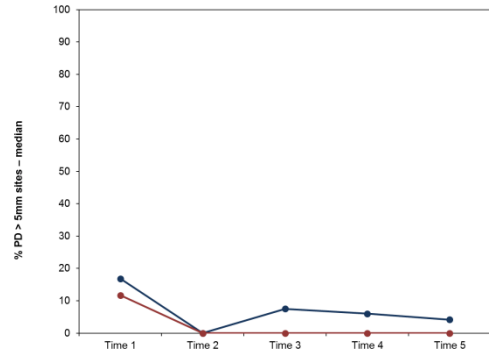
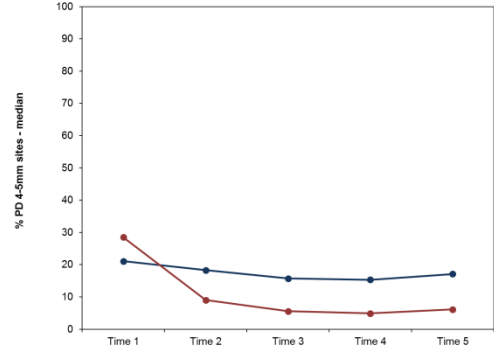
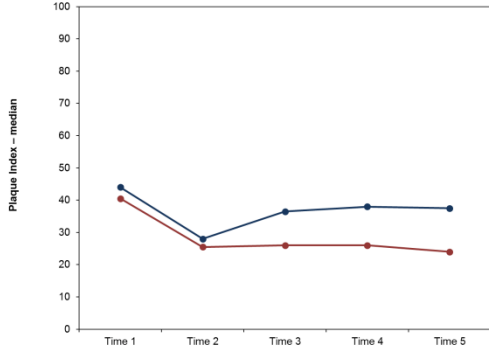


Table 3. Correlation analysis between microbiological and clinical data considering the study groups.

Time	Clinical Data	Total bacterial		<i>T. forsythia</i>		<i>A. naeslundii</i>		<i>P. gingivalis</i>		<i>T. denticola</i>	
		IC	RC	IC	RC	IC	RC	IC	RC	IC	RC
T1	PI	0.48 (0.011)	0.04 (0.839)	-0.15 (0.450)	-0.23 (0.242)	0.10 (0.600)	-0.19 (0.341)	0.16 (0.413)	0.11 (0.577)	0.17 (0.398)	0.19 (0.325)
	PD _{4-5mm}	-0.27 (0.161)	-0.20 (0.301)	-0.23 (0.232)	0.18 (0.355)	-0.55 (0.003)	-0.11 (0.561)	0.01 (0.961)	-0.20 (0.309)	0.02 (0.920)	-0.30 (0.125)
	PD _{>5mm}	-0.17 (0.379)	-0.22 (0.263)	-0.14 (0.462)	-0.08 (0.674)	0.06 (0.744)	-0.37 (0.055)	-0.16 (0.425)	0.17 (0.374)	0.07 (0.714)	-0.09 (0.632)
	AL _{4-5mm}	0.29 (0.137)	0.13 (0.508)	-0.05 (0.813)	-0.22 (0.254)	0.07 (0.718)	0.06 (0.778)	0.21 (0.278)	0.19 (0.341)	-0.17 (0.383)	0.33 (0.087)
	AL _{>5mm}	0.09 (0.644)	-0.01 (0.948)	0.07 (0.728)	-0.13 (0.515)	0.21 (0.274)	-0.16 (0.404)	-0.04 (0.833)	0.19 (0.343)	0.13 (0.497)	0.06 (0.763)
	BOP	-0.09 (0.637)	-0.14 (0.476)	-0.23 (0.244)	-0.18 (0.357)	-0.21 (0.277)	-0.14 (0.480)	-0.03 (0.889)	0.12 (0.550)	0.20 (0.301)	-0.13 (0.504)
T2	PI	0.02 (0.904)	-0.52 (0.004)	-0.10 (0.619)	-0.17 (0.379)	0.13 (0.522)	-0.29 (0.133)	-0.10 (0.613)	-0.08 (0.680)	-0.25 (0.212)	-0.22 (0.274)
	PD _{4-5mm}	-0.03 (0.868)	0.14 (0.478)	0.08 (0.690)	-0.02 (0.915)	-0.22 (0.263)	-0.08 (0.692)	0.10 (0.608)	0.14 (0.465)	0.13 (0.529)	-0.16 (0.424)
	PD _{>5mm}	0.15 (0.459)	-0.17 (0.378)	0.39 (0.043)	-0.21 (0.280)	0.25 (0.206)	-0.08 (0.698)	0.22 (0.255)	-0.15 (0.448)	0.34 (0.086)	-0.34 (0.079)
	AL _{4-5mm}	-0.17 (0.376)	-0.44 (0.019)	0.20 (0.320)	-0.47 (0.012)	-0.34 (0.084)	-0.31 (0.109)	0.40 (0.036)	0.02 (0.905)	-0.07 (0.730)	-0.16 (0.438)
	AL _{>5mm}	-0.19 (0.330)	0.07 (0.728)	0.04 (0.825)	-0.34 (0.076)	-0.23 (0.253)	0.12 (0.538)	0.39 (0.042)	0.12 (0.543)	-0.24 (0.234)	-0.09 (0.652)
	BOP	0.32 (0.098)	-0.05 (0.809)	0.15 (0.443)	-0.13 (0.530)	-0.05 (0.799)	-0.08 (0.705)	-0.04 (0.821)	0.12 (0.549)	0.30 (0.126)	-0.17 (0.395)
T3	PI	0.12 (0.551)	-0.21 (0.287)	-0.18 (0.371)	-0.26 (0.181)	-0.08 (0.676)	-0.13 (0.496)	0.06 (0.779)	0.08 (0.674)	-0.2 (0.313)	-0.29 (0.143)
	PD _{4-5mm}	-0.13 (0.503)	0.03 (0.862)	-0.13 (0.498)	-0.03 (0.871)	-0.01 (0.957)	-0.04 (0.859)	-0.08 (0.703)	-0.13 (0.526)	-0.1 (0.634)	0.01 (0.998)
	PD _{>5mm}	0.33 (0.082)	-0.08 (0.687)	0.12 (0.529)	-0.17 (0.398)	0.01 (0.957)	-0.18 (0.362)	0.32 (0.094)	0.23 (0.233)	0.06 (0.769)	-0.22 (0.263)
	AL _{4-5mm}	0.01 (0.970)	-0.36 (0.063)	-0.16 (0.423)	-0.53 (0.003)	0.17 (0.388)	-0.51 (0.005)	-0.10 (0.611)	-0.09 (0.637)	0.02 (0.934)	-0.57 (0.002)
	AL _{>5mm}	0.12 (0.552)	0.24 (0.212)	0.15 (0.459)	-0.08 (0.690)	-0.01 (0.954)	0.03 (0.891)	0.03 (0.891)	0.28 (0.148)	-0.42 (0.029)	0.01 (0.943)
	BOP	0.15 (0.445)	-0.08 (0.710)	-0.07 (0.719)	-0.08 (0.699)	0.05 (0.802)	-0.15 (0.467)	-0.29 (0.132)	0.08 (0.694)	0.12 (0.560)	-0.19 (0.350)
T4	PI	0.44 (0.020)	0.13 (0.496)	-0.13 (0.497)	-0.20 (0.297)	0.13 (0.512)	-0.10 (0.595)	-0.07 (0.739)	0.07 (0.713)	-0.06 (0.756)	0.08 (0.688)
	PD _{4-5mm}	0.05 (0.784)	-0.08 (0.675)	0.03 (0.894)	-0.25 (0.196)	-0.09 (0.672)	-0.12 (0.533)	-0.17 (0.393)	-0.24 (0.211)	0.15 (0.470)	-0.13 (0.513)
	PD _{>5mm}	0.05 (0.820)	0.28 (0.153)	-0.09 (0.631)	0.06 (0.774)	-0.10 (0.620)	0.06 (0.746)	0.02 (0.910)	0.02 (0.916)	-0.01 (0.947)	0.41 (0.0320)
	AL _{4-5mm}	-0.08 (0.679)	0.01 (0.992)	0.06 (0.775)	-0.42 (0.025)	-0.04 (0.827)	-0.35 (0.066)	0.16 (0.420)	-0.11 (0.565)	-0.15 (0.448)	-0.13 (0.509)
	AL _{>5mm}	0.05 (0.791)	0.31 (0.103)	-0.16 (0.402)	0.32 (0.094)	-0.27 (0.174)	0.04 (0.855)	0.02 (0.921)	0.03 (0.860)	-0.11 (0.577)	0.14 (0.481)
	BOP	0.58 (0.001)	-0.17 (0.401)	-0.16 (0.425)	-0.38 (0.050)	0.25 (0.214)	-0.10 (0.637)	0.12 (0.547)	0.01 (0.942)	0.39 (0.045)	-0.04 (0.851)
T5	PI	0.13 (0.498)	0.03 (0.889)	0.12 (0.549)	-0.03 (0.898)	-0.06 (0.781)	-0.18 (0.363)	-0.21 (0.283)	-0.16 (0.426)	0.08 (0.677)	-0.14 (0.483)
	PD _{4-5mm}	0.07 (0.741)	0.05 (0.784)	-0.15 (0.455)	0.04 (0.836)	-0.25 (0.205)	0.19 (0.344)	-0.20 (0.298)	0.09 (0.663)	0.08 (0.688)	-0.02 (0.928)
	PD _{>5mm}	-0.26 (0.184)	0.27 (0.158)	-0.10 (0.627)	0.18 (0.363)	0.02 (0.908)	0.18 (0.363)	0.22 (0.268)	-0.11 (0.587)	-0.02 (0.926)	0.18 (0.379)
	AL _{4-5mm}	0.01 (0.948)	-0.11 (0.573)	-0.05 (0.782)	-0.23 (0.246)	0.21 (0.302)	-0.15 (0.437)	0.32 (0.093)	0.05 (0.806)	-0.05 (0.801)	0.14 (0.497)
	AL _{>5mm}	-0.09 (0.656)	0.21 (0.276)	0.14 (0.493)	0.01 (0.958)	-0.31 (0.121)	0.05 (0.789)	-0.31 (0.107)	0.24 (0.223)	-0.09 (0.648)	0.11 (0.572)
	BOP	0.12 (0.530)	0.01 (0.990)	0.06 (0.746)	-0.27 (0.165)	0.03 (0.868)	0.22 (0.268)	-0.01 (0.971)	-0.16 (0.421)	0.18 (0.382)	0.05 (0.809)

The values in the table refer to the Spearman correlation coefficient (r) and the probability of significance (p).