

RELAÇÃO ENTRE PARÂMETROS CLÍNICOS,
FUMO E PRESENÇA DE ACTINOBACILLUS
ACTINOMYCETEMCOMITANS EM INDIVÍDUOS
COM PERIODONTITE CRÔNICA

Sheila Cavalca CORTELLI*

José Roberto CORTELLI**

Antonio Olavo Cardoso JORGE***

- RESUMO: Indivíduos com periodontite crônica demonstram frequentemente uma ocorrência de 10% a 50% dos casos de *A. actinomycetemcomitans*. Em razão do número elevado de fatores de virulência produzidos por *A. actinomycetemcomitans*, sugere-se uma maior prevalência e severidade da doença em sítios periodontais expostos a este patógeno. Atualmente, condições sistêmicas e hábitos dos indivíduos têm sido relacionados com aumento do risco para o desenvolvimento e progressão da patologia periodontal. O objetivo do presente estudo foi avaliar a correlação entre profundidade de sondagem (PS), Índice de Placa Bacteriana (IPI), Índice Gengival (IG), hábito de fumar e presença de *A. actinomycetemcomitans* em 87 indivíduos com periodontite crônica apresentando lesões moderadas a avançadas. As medidas de PS foram obtidas em seis pontos, enquanto os índices IPI e IG foram obtidos em quatro pontos por dente, sendo o microrganismo identificado por meio de cultura bacteriana. O hábito de fumar foi avaliado mediante aplicação de questionário. Os resultados analisados pelo teste Qui-quadrado demonstraram associação positiva entre PS e presença de *A. actinomycetemcomitans*, e associação negativa entre fumo e presença desse microrganismo. Os valores médios de IPI e IG analisados pelo teste ANOVA não demonstraram associação positiva com a presença do microrganismo.

* Aluna do Curso de Pós-Graduação em Odontologia – Área de concentração: Biopatologia Bucal – Faculdade de Odontologia – UNESP – 12245-000 – São José dos Campos – SP.

** Departamento de Odontologia – Faculdade de Odontologia – UNITAU – 12020-330 – Taubaté – SP.

*** Departamento de Biociências e Diagnóstico Bucal – Faculdade de Odontologia – UNESP – 12245-000 – São José dos Campos – SP.

- PALAVRAS-CHAVE: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*; bolsa periodontal; tabaco; periodontite.

Introdução

O que genericamente se denomina doença periodontal, na verdade, representa diferentes entidades clínicas que acometem os tecidos periodontais cuja severidade varia amplamente entre os indivíduos afetados. Inúmeros estudos incluem idade, fumo, diabetes, estresse, infecção pelo vírus HIV e presença subgengival de espécies como *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis* e *Campylobacter* sp como fatores de risco para doença periodontal.^{6, 8, 10, 15, 17, 19}

Assim como outras formas de doença periodontal, a periodontite crônica,¹ anteriormente denominada periodontite do adulto, está associada ao aumento nos níveis de bactérias anaeróbias e capnofílicas no sulco gengival, o que estabelece uma possível relação entre *A. actinomycetemcomitans* e este tipo de doença. Essa associação foi relatada recentemente em razão de sua maior complexidade quando comparada, por exemplo, aos casos de periodontite agressiva localizada, já que a microbiota dos pacientes com periodontite crônica apresenta maior diversidade de espécies. Assim, em alguns casos, a bactéria *A. actinomycetemcomitans* pode exercer um papel secundário na etiopatogenia da doença.³¹

Indivíduos com periodontite do adulto exibem níveis detectáveis de *A. actinomycetemcomitans* em torno de 10% a 50% dos casos,^{7, 8, 15} e parece que as proporções aumentam de forma considerável e proporcional aos valores de profundidade de sondagem (PS).^{11, 26, 28} Adicionalmente, a presença de sangramento à sondagem parece estar associada de forma significativa com sítios periodontais acometidos com periodontite crônica nos quais se detecta *A. actinomycetemcomitans*.³¹ Embora os estudos mostrem associação deste patógeno, principalmente com lesões periodontais avançadas e sítios refratários, muitos casos de periodontite leve também podem estar associados com *A. actinomycetemcomitans*.

Assim, o objetivo do presente estudo foi avaliar a relação entre PS, fumo, Índice de Placa Bacteriana, Índice Gengival e presença subgengival de *A. actinomycetemcomitans* em indivíduos da região do Vale do

Paraíba, Estado de São Paulo, com periodontite crônica apresentando lesões moderadas a avançadas.

Material e método

Exame clínico

Foram selecionados para este estudo, previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Taubaté (CEP 011/2000), 87 indivíduos portadores de periodontite crônica, caracterizada como moderada, no caso de haver, no mínimo, uma bolsa de 5 a 6 mm de profundidade, ou como periodontite avançada, quando há presença de, no mínimo, uma bolsa ≥ 7 mm de profundidade.³ Para estabelecimento do diagnóstico periodontal e diferenciação de outras formas de patologia periodontal, foram considerados adicionalmente a presença de fatores etiológicos locais, os aspectos clínicos do tecido gengival, bem como as imagens obtidas a partir do exame radiográfico periapical complementar. Os indivíduos que receberam terapia antibiótica nos últimos 6 meses e os que foram submetidos à terapia periodontal nos 2 anos que antecederam o exame foram excluídos deste estudo. Realizou-se anamnese para coleta de dados pessoais e informações relacionadas à história médica e odontológica dos indivíduos, os quais assinaram termo de consentimento após explanação sobre os objetivos e os procedimentos do estudo. O hábito de fumar e o consumo diário de cigarros foram avaliados por meio da aplicação de questionário. Para cada paciente, selecionaram-se dois dentes com bolsas profundas (maiores PS) e dois dentes periodontalmente saudáveis (menores PS), que foram usados como dentes controle. As medidas de PS foram obtidas em seis pontos por dente. Já o Índice de Placa Bacteriana²¹ e o Índice Gengival⁹ foram obtidos em quatro áreas para cada um dos quatro dentes analisados.

Exame microbiológico

Cada dente, previamente selecionado, foi isolado com roletes de gaze esterilizada, e a placa bacteriana supragengival foi removida com algodão também esterilizado. Três cones de papel esterilizados número 30 foram cuidadosamente inseridos na porção mais apical do sulco gen-

gival/bolsa periodontal, de cada dente com bolsa profunda e de cada dente controle, e mantidos em posição por 15 segundos.¹⁷ Em seguida, os cones de papel foram colocados juntos em um recipiente contendo 1 ml de solução de Ringer reduzida e transportados até o laboratório de Microbiologia da UNITAU para serem processados.²⁶ Após homogeneização, alíquotas de 0,1 ml de cada uma das amostras foram semeadas, em duplicata, na superfície de placas de ágar TSBV,²³ as quais foram incubadas por 5 dias em jarras (Gas-Pak), utilizando-se sistema de anaerobiose em temperatura de 37 C.²⁴ As colônias de *A. actinomycetemcomitans* foram identificadas em lupa estereoscópica por meio de sua morfologia.²⁵ Nas colônias características, realizaram-se coloração de Gram e provas bioquímicas de fermentação de glicose, frutose e manose e reação de catalase.²²

Todos os pacientes examinados receberam tratamento no Departamento de Odontologia da UNITAU, de acordo com suas necessidades individuais. Foi prescrita a associação metronidazol e amoxicilina como parte da terapia periodontal para os pacientes com resultados positivos nos exames microbiológicos.³⁰

Análise estatística

O teste Qui-quadrado foi empregado para avaliar a relação entre PS e presença subgingival de *A. actinomycetemcomitans*, bem como a associação entre consumo de cigarros, presença do microrganismo e severidade da doença periodontal. A análise de variância (ANOVA) foi utilizada para verificar as diferenças entre as médias de PS, IPI e IG. Foram analisadas, de forma isolada e conjunta, as médias obtidas para as diferentes faces dentárias dos dentes com bolsas profundas e dentes controle. A diferença entre as médias foi considerada estatisticamente significativa considerando-se $p < 0,05$.

Resultado

Foram avaliados neste estudo 87 indivíduos entre 25 e 72 anos de idade ($40,3 \pm 12,9$), sendo 30 do sexo masculino e 57 do sexo feminino.

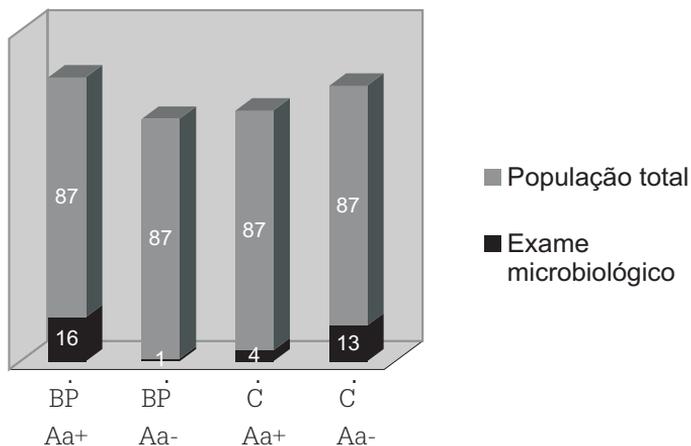
Encontraram-se 35 (40,2%) indivíduos com periodontite moderada e 52 (59,8%) com periodontite avançada.

Da população total estudada, 17 (19,5%) indivíduos, com idade média $36,4 \pm 6,51$ anos, apresentaram amostras positivas para *A. actinomycetemcomitans*. Dentre estes, seis (35,3%) apresentaram periodontite moderada e 11 (64,7%) periodontite avançada (Tabela 1). O teste Qui-quadrado demonstrou associação entre a presença de bolsas periodontais profundas e a de *A. actinomycetemcomitans* ($\chi^2 = 16,97$ e $p < 0,001$) (Figura 1). Treze indivíduos apresentaram amostras positivas exclusivamente nos dentes com bolsas profundas, enquanto apenas um indivíduo exibiu amostras positivas exclusivamente nos dentes controle, e três apresentaram amostras positivas nos dentes com bolsas profundas e dentes controle, simultaneamente. Dos indivíduos que apresentaram amostras positivas para *A. actinomycetemcomitans*, dez (58,8%) eram fumantes, estando a maior porcentagem no grupo com periodontite moderada. Quanto ao consumo diário de cigarros, o maior percentual foi encontrado entre os portadores de periodontite avançada e amostras negativas para *A. actinomycetemcomitans* (Tabela 2). Entre os fumantes, não foi encontrada associação entre a presença de *A. actinomycetemcomitans* e a severidade da doença ($\chi^2 = 0,28$ e $p = 0,60$).

Tabela 1 – Número de indivíduos e média de idade da população estudada segundo grau de envolvimento dos tecidos periodontais e presença de *A. actinomycetemcomitans*

Exame microbiológico	Periodontite moderada		Periodontite avançada	
	N (%)	Média de idade \pm DP	N (%)	Média de idade \pm DP
Positivo	6 (35,3%)	37,8 \pm 5,9	11 (64,7%)	35,5 \pm 6,9
Negativo	29 (41,5%)	39,9 \pm 11,0	41 (58,5%)	41,9 \pm 9,8

N – número de indivíduos; DP – desvio padrão.



$\chi^2 = 16,97$ e $p \leq 0,001$; BP – dentes com bolsas profundas; C – dentes controle; Aa – A. actinomycetemcomitans.

FIGURA 1 – Distribuição das amostras positivas (+) e negativas (-) para A. actinomycetemcomitans entre os dentes com bolsas profundas e dentes controle em relação à população total.

Tabela 2 – População estudada dividida por número de indivíduos fumantes, grau de envolvimento dos tecidos periodontais e presença de A. actinomycetemcomitans

Diagnóstico	A. actinomycetemcomitans positivos		A. actinomycetemcomitans negativos	
	Fumantes N (%)	Consumo cigarros/dia Média \pm DP	Fumantes N (%)	Consumo cigarros/dia Média \pm DP
Periodontite moderada	6 (100%)	14,2 \pm 6,6	13 (44,8%)	14,4 \pm 8,6
Periodontite avançada	4 (36,4%)	9 \pm 4,7	13 (31,7%)	18 \pm 9,7

$\chi^2 = 0,28$ e $p = 0,60$.

N – número de indivíduos fumantes; DP – desvio padrão.

Os resultados médios dos IPI e IG das quatro faces dentárias não apresentaram diferenças estatisticamente significativas quando se analisaram, pela ANOVA, dentes com bolsas profundas e dentes controle de forma isolada, independentemente do grau de envolvimento dos tecidos periodontais e resultados do exame microbiológico. No entanto, a análise comparativa apresentou comportamento variado em relação a ambos os índices (Tabelas 3 e 4).

Tabela 3 – Análise comparativa entre os valores médios do Índice de Placa Bacteriana para as quatro faces dentárias entre dentes com bolsas profundas e dentes controle. Os indivíduos estão agrupados segundo o grau de envolvimento dos tecidos periodontais e presença de *A. actinomycetemcomitans*

Face dentária	Índice de placa bacteriana			
	A. actinomycetemcomitans Positivo		A. actinomycetemcomitans Negativo	
	Periodontite moderada	Periodontite avançada	Periodontite moderada	Periodontite avançada
Vestibular	BP = C	BP = C	BP = C	BP = C
F				
Lingual	BP = C	BP ≠ C	BP ≠ C	BP ≠ C
F		5,54	3,91	7,83
Mesial	BP = C	BP = C	BP ≠ C	BP ≠ C
F			3,67	4,28
Distal	BP = C	BP = C	BP = C	BP ≠ C
F				4,11

p < 0,05.

BP – dentes com bolsas profundas; C – dentes controle.

Tabela 4 – Análise comparativa entre os valores médios do Índice Gengival para as quatro faces dentárias entre dentes com bolsas profundas e dentes controle. Os indivíduos estão agrupados segundo o grau de envolvimento dos tecidos periodontais e a presença de *A. actinomycetemcomitans*

Face dentária	Índice Gengival			
	A. actinomycetemcomitans Positivo		A. actinomycetemcomitans Negativo	
	Periodontite moderada	Periodontite avançada	Periodontite moderada	Periodontite avançada
Vestibular	BP = C	BP ≠ C	BP = C	BP ≠ C
F		4,78		12,23
Lingual	BP = C	BP = C	BP = C	BP ≠ C
F				16,17
Mesial	BP = C	BP = C	BP ≠ C	BP ≠ C
F			11,67	12,78
Distal	BP = C	BP = C	BP ≠ C	BP ≠ C
F			6,14	12,60

p < 0,05.

BP – dentes com bolsas profundas; C – dentes controle.

Discussão

Alguns patógenos periodontais produzem fatores de virulência que interferem direta ou indiretamente com a defesa do hospedeiro, geram destruição dos tecidos periodontais e inibem a reparação tecidual. Quando se considera o papel de *A. actinomycetemcomitans* como patógeno periodontal, diferentes fatores de virulência devem ser analisados, incluindo a presença de LPS, produção de fatores imunossupressores, colagenase e leucotoxina, inibição da quimiotaxia de neutrófilos e invasão tecidual.^{2, 4, 34} Assim, é de se esperar uma maior prevalência e severidade da doença periodontal destrutiva em sítios periodontais expostos a este microrganismo.

Estudos realizados em indivíduos com periodontite do adulto demonstram freqüentemente uma ocorrência deste patógeno de 10% a 50%.^{7, 8, 15} Neste estudo, 17 (19,5%) indivíduos apresentaram amostras positivas de *A. actinomycetemcomitans*, estando este dado de acordo com os achados de outros autores.^{5, 12, 14, 18, 27, 33} Savitt et al.¹⁸ definiram infecção como uma concentração mínima de 10^4 células por espécie bacteriana. Nesta concentração, três sítios com PS ≥ 4 mm são necessários para que se detecte no mínimo um sítio infectado com 95% de confiança. No entanto, se a PS for ≥ 5 mm, ou se o sangramento à sondagem estiver associado, este número fica reduzido a dois sítios. Neste trabalho, no momento da seleção dos dois dentes com bolsas profundas, todos apresentaram, no mínimo, uma bolsa com PS ≥ 5 mm estando sempre associada ao sangramento à sondagem. Considerando-se que a sensibilidade do teste microbiológico empregado também interfere no número de sítios requeridos, deve-se salientar que a cultura em meio seletivo, técnica empregada no presente estudo, detecta bactérias presentes na placa bacteriana em concentração média de 10^3 células.³²

Diversos autores têm relacionado a presença mais freqüente de *A. actinomycetemcomitans* em bolsas periodontais profundas.^{11, 26, 28, 29, 31} No presente estudo, essa correlação foi encontrada, já que, dos 17 indivíduos que apresentaram amostras positivas para *A. actinomycetemcomitans*, 11 (64,7%) eram portadores de periodontite avançada e tinham bolsas periodontais com PS de 7 a 12 mm ($\chi^2 = 16,97$ e $p \leq 0,001$) (Figura 1).

Correlacionou-se também, neste estudo, os IPI e IG em relação às médias de PS dos indivíduos com amostras positivas de *A. actinomycetemcomitans* (Tabelas 3 e 4). Deve-se, entretanto, salientar que o IG avalia apenas as alterações qualitativas dos tecidos gengivais clinicamente detectáveis. Do mesmo modo, o IPI analisa de forma qualitativa a presença de placa dental bacteriana na região da margem e sulco gengivais. Embora Renvert et al.¹⁶ e Shiloah & Patters²⁰ não tenham encontrado correlação entre a presença de *A. actinomycetemcomitans* e a de placa bacteriana e sangramento à sondagem, a maior parte dos autores associa um aumento da probabilidade de detecção deste patógeno quando estão presentes sinais clínicos de inflamação gengival.^{13, 28, 31} Neste estudo, todos os dentes analisados apresentaram algum grau de inflamação gengival e certa quantidade de placa bacteriana. No entanto, houve correlação entre PS e IPI e IG apenas nas faces mesiais dos dentes com bolsas profundas e vestibulares dos dentes controle.

Atualmente, diferentes condições sistêmicas e hábitos dos indivíduos têm sido relacionados, de forma isolada ou conjunta, com aumento do risco para desenvolvimento e progressão da patologia periodontal.⁶ A história de consumo de cigarros pode contribuir significativamente para a periodontite relacionada a determinados patógenos, incluindo *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *B. forsythus*, *T. denticola*.¹⁹ No entanto, uma resposta inflamatória mais discreta pode estar presente no periodonto de pacientes fumantes, nos quais o tabaco pode apresentar uma influência mais acentuada sobre os aspectos clínicos do que a presença de certos microrganismos.⁸ Neste estudo, ao considerar todos os grupos analisados, o maior número de fumantes foi encontrado entre os indivíduos portadores de periodontite moderada e amostras positivas para *A. actinomycetemcomitans*. Entretanto, o teste Qui-quadrado não demonstrou associação entre fumo e aumento da severidade da doença periodontal quando se analisaram exclusivamente os indivíduos positivos para *A. Actinomycetemcomitans* (Tabela 2).

Ao considerar a doença periodontal como multifatorial, salienta-se a importância da identificação de fatores que podem aumentar o risco de desenvolvimento e progressão da patologia. Certas espécies, como *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* e *P. intermedia*, têm sido empregadas como marcadores de atividade da doença por apresentarem associação com maior severidade e risco de recorrência da doença.^{15, 16} Neste estudo, os parâmetros clínicos, bem como o consumo de cigarros, foram correlacionados exclusivamente com a presença de *A. actinomycetemcomitans*, entretanto outros microrganismos também têm sido associados à periodontite crônica.

Conclusão

Analisando os resultados obtidos no presente estudo, pode-se concluir que houve associação positiva entre PS e presença de *A. actinomycetemcomitans* e associações negativas entre fumo, Índice de Placa Bacteriana, Índice Gengival e presença do patógeno.

CORTELLI, S. C., CORTELLI, J. R., JORGE, A. O. C. The relation of clinical features, tobacco and presence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in chronic periodontitis. *Rev. Odontol. UNESP (São Paulo)*, v.30, n.2, p.201-214, 2001.

- **ABSTRACT:** Several studies have been showed that *Actinobacillus actinomycetemcomitans* is present from 10% to 50% of the cases of chronic periodontitis. Some virulence factors, including leukotoxin, cytotoxins and lipopolysaccharide could be responsible for the high prevalence and severity of periodontal disease. Furthermore, systemic disease and habits such cigarette smoking have been considered as important risk factors for periodontal disease. The aim of present study was to evaluate the correlation of periodontal pocket depth (PD), Plaque index, Gingival index, smoking habit and presence of *A. actinomycetemcomitans* in 87 subjects with moderate and advanced chronic periodontitis. The measurements of periodontal pocket depth were obtained from six sites per test and control teeth. *A. actinomycetemcomitans* were examined inserting three paper points into periodontal pockets of test and control matched teeth and analyzed by culture technics. The subjects answered a questionnaire about the consumption and number of cigarette smoked daily. The results obtained in this study were analyzed by Chi-square test. They showed a positive correlation between periodontal pocket depth and presence of *A. actinomycetemcomitans* and a negative correlation between consumption of cigarette smoking and presence of *A. actinomycetemcomitans*. The mean values of IPI and IG analyzed by ANOVA test no correlation with presence of *A. actinomycetemcomitans*.
- **KEYWORDS:** *Actinobacillus actinomycetemcomitans*; periodontal pocket; tobacco; periodontitis.

Referências bibliográficas

- 1 AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY. 1999 International workshop for a classification of periodontal diseases and conditions. *Ann. Periodontol. (Chicago)*, v.4, n.1, p.32-8, Dec. 1999.
- 2 BLIX, I. J. S. et al. LPS from *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and the expression of b2 integrins and L-selectin in na ex vivo human whole blood system. *Eur. J. Oral Sci. (Cambridge)*, v.107, n.1, p.14-20, Feb. 1999.
- 3 BROWN, L. J., OLIVER, R. C., LÖE, H. Periodontal disease in the U.S. in 1981: prevalence, severity, extent, and role in tooth mortality. *J. Periodontol. (Chicago)*, v.60, n.7, p.363-70, July 1989.

- 4 FIVES-TAYLOR, P. M. et al. Virulence factors of *Actinobacillus actinomyces* comitans. *Periodontology 2000* (Copenhagen), v.20, p.136-67, June 1999.
- 5 HAFFAJEE, A. D. et al. Subgingival microbiota in healthy, well-maintained elder and periodontitis subjects. *J. Clin. Periodontol.* (Copenhagen), v.25, n.5, p.346-53, May 1998.
- 6 HAMASHA, A. H., SASA, I., AL OUDAH, M. Risk indicators associated with tooth loss in Jordanian adults. *Community Dent. Oral Epidemiol.* (Copenhagen), v.28, n.1, p.67-72, Feb. 2000.
- 7 LEE, K. H. et al. Microbiota of successful osseointegrated dental implants. *J. Periodontol.* (Chicago), v.70, n.2, p.131-8, Feb. 1999.
- 8 LIE, M. A. et al. Oral microbiota in smokers and non-smokers in natural and experimentally-induced gingivitis. *J. Clin. Periodontol.* (Copenhagen), v.25, n.8, p.677-86, Aug. 1998.
- 9 LÖE, H., SILNESS, J. Periodontal disease in pregnancy I . Prevalence and severity. *Acta Odontol. Scand.* (Oslo), v.21, p.533-51, Dec. 1963.
- 10 MACUCH, P. J., TANNER, A. C. *Campylobacter* species in health, gingivitis, and periodontitis. *J. Dent. Res.* (Washington), v.79, n.2, p.785-92, Feb. 2000.
- 11 MELVIN, W. L. et al. Comparison of DNA probe and ELISA microbial analysis methods and their association with adult periodontitis. *J. Periodontol.* (Chicago), v.65, n.6, p.576-82, June 1994.
- 12 MICHALOWICZ, B. S. et al. Periodontal bacteria in adult twins. *J. Periodontol.*, v.70, n.3, p.263-73, Mar. 1999.
- 13 MOMBELLI, A. et al. *Actinobacillus actinomyces* comitans in adult periodontitis. Topographic distribution before and after treatment. *J. Periodontol.*, v.65, n.9, p.820-6, Sept. 1994.
- 14 MÜLLER, H-P. et al. Simultaneous isolation of *Actinobacillus actinomyces* comitans from subgingival and extracrevicular locations of the mouth. *J. Clin. Periodontol.* (Copenhagen), v.22, n.5, p.413-9, May 1995.
- 15 PAPAPANOU, P. N. et al. Subgingival microbiota in adult chines: prevalence and relation to periodontal disease progression. *J. Periodontol.* (Chicago), v.68, n.7, p.651-66, July 1997.
- 16 RENVERT, S, DAHLÉN, G., WIKSTRÖM, M. Treatment of periodontal disease based on microbiological diagnosis. Relation between microbiological and clinical parameters during 5 years. *J. Periodontol.* (Chicago), v.67, n.6, p.562-71, June 1996.
- 17 RENVERT, S. et al. Comparative study of subgingival microbiological sampling techniques. *J. Periodontol.* (Chicago), v.63, n.10, p.797-801, Oct. 1992.

- 18 SAVITT, E. D. et al. Site selection criteria for microbiological testing of periodontal microorganisms. *J. Periodontol.* (Chicago), v.62, n.9, p.558-61, Sept. 1991.
- 19 SCHLEGEL-BREGENZER, B. et al. Clinical and microbiological findings in elderly subjects with gingivitis or periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* (Copenhagen), v.25, n.11, pt.1, p.897-907, Nov. 1998.
- 20 SHILOAH, J., PATTERS, M. R. Repopulation of periodontal pockets by microbial pathogens in the absence of supportive therapy. *J. Periodontol.* (Chicago), v.67, n.2, p.130-9, Feb. 1996.
- 21 SILNESS, J., LÖE, H. Periodontal disease in pregnancy II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol. Scand.* (Oslo), v.22, n.1, p.121-35, Feb. 1964.
- 22 SLOTS, J. Salient biochemical characters of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Arch. Microbiol.* (Berlin), v.131, n.1, p.60-77, Feb. 1982.
- 23 _____. Selective medium for isolation of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J. Clin. Microbiol.* (Washington), v.15, n.4, p.606-9, Apr. 1982.
- 24 _____. Bacterial specificity in adult periodontitis. A summary of recent work. *J. Clin. Periodontol.* (Copenhagen), v.13, n.5, p.912-7, May 1986.
- 25 _____. *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. In: NISENGARD, R. J., NEWMAN, M. G. *Oral microbiology and immunology*. 2.ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1994. cap.17, p.218-27.
- 26 SLOTS, J., REYNOLDS, H. S., GENCO, R. J. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease: a cross-sectional microbiological investigation. *Infect. Immun.* (Washington), v.29, n.3, p.1013-20, Sept. 1980.
- 27 SÖDER, B., NEDLICH, U., JIN, L. J. Longitudinal effect of non-surgical treatment and systemic metronidazole for 1 week in smokers and non-smokers with refractory periodontitis: a 5-year study. *J. Periodontol.* (Chicago), v.70, n.7, p.761-71, July 1999.
- 28 TANNER, A. C. R. et al. A study of the bacteria associated with advancing periodontitis in man. *J. Clin. Periodontol.* (Chicago), v.6, n.5, p.278-307, Oct. 1979.
- 29 TAKAMATSU, N. et al. Effect of initial periodontal therapy on the frequency of detecting *Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis*, and *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J. Periodontol.* (Chicago), v.70, n.6, p.574-80, June 1999.
- 30 WINKELHOFF, A. J. V., RAMS, T. E, SLOTS, J. Systemic antibiotic therapy in periodontics. *Periodontology 2000* (Copenhagen), v.10, p.45-78, Feb. 1996.
- 31 ZAMBON, J. J. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in adult periodontitis. *J. Periodontol.* (Chicago), v.65, n.9, p.892-3, Sept. 1994.

- 32 ZAMBON, J. J., HARASZTHY, V. I. The laboratory diagnosis of periodontal infections. *Periodontology 2000* (Copenhagen), v.7, p.69-82, Feb. 1995.
- 33 ZAMBON, J. J., CHRISTERSSON, L. A., SLOTS, J. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease. Prevalence in patient groups and distribution of biotypes and serotypes within families. *J. Periodontol.* (Chicago), v.54, n.12, p.707-801, Dec. 1983.
- 34 ZAMBON, J. J. et al. The microbiology of early-onset periodontitis: association of highly toxic *Actinobacillus actinomycetemcomitans* strains with localized juvenile periodontitis. *J. Periodontol.* (Chicago), v.67, n.3 suppl., p.282-300, Mar. 1996.