

ASPECTOS CLÍNICOS, RADIOGRÁFICOS E MICROBIANOS DE UMA FAMÍLIA COM EXPRESSIVA PREVALÊNCIA DE DOENÇA PERIODONTAL

*CLINICAL, RADIOGRAPHICS AND MICROBIOLOGICAL ASPECTS OF A FAMILY WITH
EXPRESSIVE PREVALENCE OF PERIODONTAL DISEASE*

Querido, Silvia Maria Rodrigues*
Dotto, Patricia Pasquali*
Aquino, Davi Romeiro*
Cortelli, José Roberto**

RESUMO

A periodontite agressiva é caracterizada por uma rápida perda de inserção conjuntiva e destruição óssea, podendo ocorrer na forma localizada ou generalizada. Na periodontite agressiva localizada ocorre o comprometimento, principalmente, dos dentes incisivos e primeiros molares permanentes. É a forma de doença periodontal mais associada com *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. De modo distinto, a forma generalizada da periodontite agressiva afeta vários dentes em um ou ambos os arcos dentários. O objetivo do presente estudo foi estabelecer através de exames clínicos, radiográficos e microbianos o diagnóstico de uma família com expressiva prevalência de doença periodontal. Foram incluídos 5 indivíduos da mesma família, os quais foram submetidos à exame clínico periodontal e exame radiográfico de todos os dentes. Para a análise microbiológica foram selecionados no mínimo dois dentes para cada indivíduo, e a presença de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* foi determinada pelo método de cultura bacteriana e reação em cadeia da polimerase. Dos indivíduos examinados, dois receberam o diagnóstico de periodontite incipiente, dois de periodontite agressiva localizada e um de periodontite agressiva generalizada. O *Actinobacillus actinomycetemcomitans* de máxima leucotoxicidade foi detectado em todos os indivíduos. Com base nestes resultados observou-se que os indivíduos apresentavam a mesma característica microbiana e diferenças na expressão e severidade da doença periodontal, sugerindo que outros fatores poderiam estar presentes modificando a manifestação clínica da doença.

UNITERMOS: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*; diagnóstico; periodontite agressiva.

SUMMARY

Agressive periodontitis is characterized by rapid attachment loss bone destruction, that can be occur in generalized or localized forms. Localized aggressive periodontitis affects incisors and first permanent molars. This is the type of periodontal disease frequently associated with Actinobacillus actinomycetemcomitans. The generalized aggressive periodontitis can involve more teeth in an arch or an entire dentition. The aim of this study was to determinate the diagnosis of a family with a expressive prevalence of periodontal disease by clinical, radiographic and microbiological exams. Five subjects were included in this study, who were submitted to periodontal clinical exam and radiographic exams in all present teeth. Microbiological assay to detect the possible presence of Actinobacillus actinomycetemcomitans was obtained from two teeth in each subject and determined by

* Mestres em Odontologia subárea Periodontia, Universidade de Taubaté – SP.

** Doutor em Biologia e Patologia Bucodental pela FOP-UNICAMP. Professor Adjunto responsável pelos cursos de Graduação e Pós-graduação em Periodontia – UNITAU.

culture and polimerase chain reaction exams. Two subject received the diagnosis of incipient periodontitis, two localized aggressive periodontitis and one generalized aggressive periodontitis. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* with high leucotoxicity was detected in all subjects. After analysis of the results it is possible to observe that the subjects had the same microbiological feature and differences in expression and severity of the periodontal disease. Its suggest that other factors can be present and modifying clinical conditions in disease.

UNITERMS: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*; diagnosis; aggressive periodontitis.

INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA

A doença periodontal é causada pela infecção dos tecidos periodontais decorrente do acúmulo de placa bacteriana, que pode resultar na perda progressiva de inserção conjuntiva e osso alveolar (AAP¹, 1999).

O caráter destrutivo das doenças periodontais e sua progressão são mantidos somente na presença de placa subgengival e pode estar associado a grupos específicos de bactérias. Neste contexto, alguns patógenos apresentam papel importante como *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*), *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) e *Bacteroides forsythus* (*B. forsythus*), e ainda outros microrganismos de provável significância como *Prevotella intermedia* (*P. intermedia*), *Campylobacter rectus* (*C. rectus*), *Peptostreptococcus micros* (*P. micros*), *Fusobacterium* sp, *Treponema* sp, estafilococos, enterococos, pseudomonas e vários bastonetes (Slots³¹, 2000).

A periodontite crônica é a patologia periodontal mais freqüentemente encontrada, podendo ocorrer em qualquer idade embora sua ocorrência envolva comumente indivíduos adultos (AAP¹, 1999). As características clínicas incluem perda de inserção conjuntiva, perda óssea alveolar, formação de bolsa periodontal e inflamação gengival. Além disso, pode ser observado aumento ou recessão do tecido gengival, sangramento gengival à sondagem, mobilidade dental aumentada e, finalmente, inclinação e exfoliação dental (Page et al.²⁰, 1976). A quantidade de destruição tecidual observada na periodontite crônica é consistente com a presença de fatores locais como presença de diferentes espécies microbianas e cálculo sub gengival.

A periodontite agressiva é caracterizada por uma rápida perda de inserção conjuntiva e destruição óssea, podendo ocorrer na forma localizada ou generalizada. Exceto pela presença da doença periodontal, os indivíduos com periodontite agressiva apresentam-se clinicamente saudáveis, e a quantidade de placa bacteriana presente é in-

consistente com a destruição dos tecidos periodontais.

Na periodontite agressiva localizada ocorre o comprometimento, principalmente, dos dentes incisivos e primeiros molares permanentes. É a forma de doença periodontal mais associada com *Actinobacillus actinomycetemcomitans* e com disfunções dos neutrófilos. Em alguns estudos em indivíduos com esta periodontite, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* foi isolado de bolsas periodontais ativas numa proporção de 75 a 100% (Zambon et al.³⁴, 1983, Zambon et al.³⁶, 1996).

De modo distinto, a forma generalizada da periodontite agressiva (AAP¹, 1999) mostra episódios pronunciados de destruição periodontal, apresenta sinais mais evidentes de inflamação dos tecidos periodontais e maior quantidade de placa bacteriana e cálculo dental, em relação à localização (Page²¹, 1983).

Actinobacillus actinomycetemcomitans

O *A. actinomycetemcomitans* foi primeiramente reconhecido como um possível patógeno periodontal por sua elevada freqüência de detecção e números elevados em lesões de periodontite agressiva (Chung et al.⁶, 1989). Fives-Taylor et al.⁸ (1999), consideraram que microrganismos como *A. actinomycetemcomitans*, que possuem um elevado número de fatores de virulência, são mais patogênicos e a sua colonização no meio bucal acarreta, na maioria dos casos, infecção dos tecidos periodontais.

O organismo pode ser transmitido entre membros de uma mesma família na periodontite agressiva e em algumas formas de periodontite crônica. Produz várias substâncias biologicamente ativas que, individual ou coletivamente, poderiam estar envolvidas na produção da doença (Slots³⁰, 1994).

O *A. actinomycetemcomitans* produz leucotoxina que lisa os leucócitos polimorfonucleares humanos (Baehni et al.², 1981). Estudos prévios revelaram variações na produção de leucotoxina entre diferentes isolados (Zambon et al.³⁵, 1983;

Brogan et al.⁵, 1994). O mecanismo molecular de produção elevada foi identificado como uma deleção de 530 pares de base (530 bp) do gene operon codificador da leucotoxina (Brogan et al.⁵, 1994). Cepas de *A. actinomycetemcomitans* de alta leucotoxicidade tem sido relacionadas com indivíduos ou famílias com história de periodontite agressiva (Mombelli et al.¹⁸, 1999; Haraszthy et al.¹⁰, 2000).

O objetivo do presente estudo foi estabelecer através de exames clínicos, radiográficos e microbianos o diagnóstico de uma família com expressiva prevalência de doença periodontal

MATERIAIS E MÉTODOS

Exame Clínico e Radiográfico

Foram incluídos no estudo cinco irmãos, 3 do sexo masculino com 13, 18 e 20 anos de idade e 2 do sexo feminino com 14 e 16 anos de idade. Estes se apresentaram a clínica de Periodontia do Departamento de Odontologia da Universidade de Taubaté em busca de tratamento clínico.

Para a realização do exame clínico periodontal foram utilizados espelho plano nº 5 (Duflex), pinça para algodão (Duflex), sonda exploradora nº 5 (Duflex), sonda periodontal milimetrada tipo Williams nº 5 (Neumar) esterilizados. A sondagem clínica periodontal foi realizada em seis pontos, três por vestibular e três pontos por lingual ou palatino (Fetner⁷, 1994) em todos os dentes, excluindo-se os terceiros molares, observando-se a profundidade de sondagem e o nível clínico de inserção. Foi utilizada a técnica do paralelismo com emprego de suporte porta-filmes (Hanshin) proposta por Updegrave (1959) e películas radiográficas simples (Kodak), para avaliação do osso alveolar.

Após a realização dos exames clínicos e radiográficos os mesmos foram informados da necessidade de realização do tratamento, no qual, após consentimento os pais e os maiores de 18 anos assinaram o termo livre e esclarecido, concordando com a realização dos exames complementares como também do tratamento.

Em função dos resultados iniciais observados, ou seja, por uma alta prevalência de doença periodontal nos membros desta mesma família, quando da vinda dos pais ao Departamento de Odontologia da UNITAU para assinatura do termo livre e esclarecido, os mesmos foram informados da necessidade de realização de exames clínicos e radiográficos similares nos próprios. Todavia, ape-

sar da concordância dos procedimentos nos cinco filhos, apenas a mãe foi submetida a exame clínico e radiográfico exclusivamente, tendo recebido o diagnóstico de periodontite crônica.

Exame Microbiológico

Exame microbiológico para possível detecção de *A. actinomycetemcomitans* foi realizado então nos cinco irmãos. Foram selecionados no mínimo dois dentes para cada indivíduo, preferencialmente primeiros molares e/ou incisivos. Cada dente previamente selecionado, foi isolado com roletes de gaze esterilizadas, e a placa bacteriana supra-gengival removida com algodão também esterilizado. Cinco pontas de papel absorvente nº 30 (Tanari) esterilizadas foram inseridas na porção mais apical das bolsas periodontais com o auxílio de pinças clínicas esterilizadas e mantidas no local por 15 segundos (Renvert et al.²², 1992), e transferidas para um recipiente contendo 1 mL de solução de Ringer reduzida (Müller et al.¹⁹, 1995). As amostras foram transportadas para o laboratório de Microbiologia da UNITAU. Após homogeneização em agitador por 60 segundos (Slots et al.²⁶, 1980), alíquotas de 0,1 mL de cada uma das amostras foram semeadas, em duplicata, na superfície de placas de Ágar soja tripticaseína, acrescido de bacitracina e vancomicina – TSBV (Slots²⁷, 1982). As placas de TSBV foram incubadas por cinco dias em jarras (Gas-Pak), utilizando-se sistema de anaerobiose (Anaerobic System. Difco) em temperatura de 37°C (Slots et al.²⁹, 1986). As colônias de *A. actinomycetemcomitans* foram identificadas em lupa estereoscópica, através de sua morfologia, observando-se colônias pequenas, rugosas circulares, convexas, translúcidas e aderentes com estrutura central em forma de estrela (Slots³⁰, 1994). Nas colônias características foram realizadas coloração de Gram e provas bioquímicas de fermentação de glicose, frutose, maltose e manose e reação de catalase (Slots²⁸, 1982).

Para avaliar a presença de cepas de *A. actinomycetemcomitans* de máxima ou mínima leucotoxicidade as amostras clínicas foram analisadas através de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).

A expressão da leucotoxina de *A. actinomycetemcomitans* foi observada através de PCR. Com a finalidade de amplificação de um fragmento, constituído de 492 pares de base, característico das amostras com máxima leucotoxicidade e de outro fragmento, constituído de 1022 pares de base característico das amostras de mínima leucotoxicidade foram utilizados 2 *primers*:

A: 5'-GCAGGATCCATATTAATCTCCTTGT-3'
 B: 5'-GCGGTCGACAACCTGATAACAGTATT-3'

As amostras de placa bacteriana subgingival contidas em recipiente com solução de Ringer reduzida foram homogeneizadas em agitador (Vortex, Phoenix, AP56) por sessenta segundos. Deste material, 300 μ L foram centrifugados por dez minutos a velocidade de 7000 r.p.m. Ao material sedimentado foram adicionados 200 μ L de *Instagene*. Após homogeneização por dez segundos, o material foi mantido em banho-maria por trinta minutos a 56°C. Após este período, o material foi homogeneizado por trinta segundos e então mantido por oito minutos em água em ebulição. O material foi novamente homogeneizado por trinta segundos e então novamente centrifugado por quatro minutos. A reação em cadeia da polimerase foi realizada em condições padronizadas onde a mistura para reação é constituída de 100 μ L a 10 mM de tri-HCL, pH 8,3, 50 mM KCL, 1,5 mM MgCL₂, 100 μ L dATP, 100 μ L dCTP, 100 μ L dGTP, 100 μ L dTTP, gelatina a 0,001% (w/v), 100 ng do *primer* A e 100 ng do *primer* B, 0,5U de *Taq* polimerase e 100 ng de DNA genômico (Haraszthy et al.¹⁰, 2000).

Para a análise dos produtos amplificados pela reação em cadeia da polimerase foi empregada eletroforese em gel de agarose a 1%, constituído de 40 mL de solução tamponada e 0,45 g de agarose. A solução tamponada foi constituída de um envelope de tampão TBE (TBE buffer, Sigma), 400 mL de água destilada e 30 μ L de brometo de etídio.

O gel foi corrido a 10 V/cm em solução tamponada por trinta minutos e analisado em uma

câmara de irradiação ultravioleta. O brometo de etídio foi responsável pela fluorescência do DNA quando da exposição à luz ultravioleta. Os géis obtidos foram fotografados e comparados com os produtos amplificados a partir de cepas padrão (JP2 e 652).

RESULTADOS

Após a realização dos exames clínicos e radiográficos, observou-se nos cinco irmãos uma perda de inserção clínica e destruição óssea alveolar características de indivíduos com periodontite agressiva. O Quadro 1 mostra os dentes envolvidos distribuídos por indivíduos.

QUADRO 1 – Distribuição dos indivíduos do estudo e os respectivos dentes envolvidos.

Indivíduo	Dentes acometidos
♂ 13 anos (LAR)	46
♀ 14 anos (VR)	26-11-16-46-43-42-41-31-36
♀ 16 anos (APR)	26-22-21-11-12-16-46-43-42-36
♂ 18 anos (MR)	26-46
♂ 20 anos (MAR)	23-22-12-13-14-16-17-47-46-45-35-36-37

As características radiográficas dos indivíduos L.A.R. (Figs. 1, 2 e 3), V.R. (Figs. 4 e 5), A.P.R. (Figs. 6, 7 e 8), M.R. (Figs. 9, 10 e 11), e M.A.R. (Figs. 12, 13 e 14) podem ser observadas nas respectivas figuras.

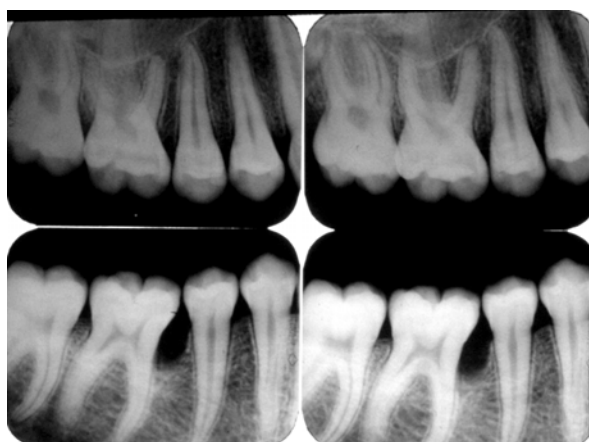


Figura 1 – Aspecto radiográfico das regiões posteriores superior e inferior do lado direito do indivíduo L.A.R.

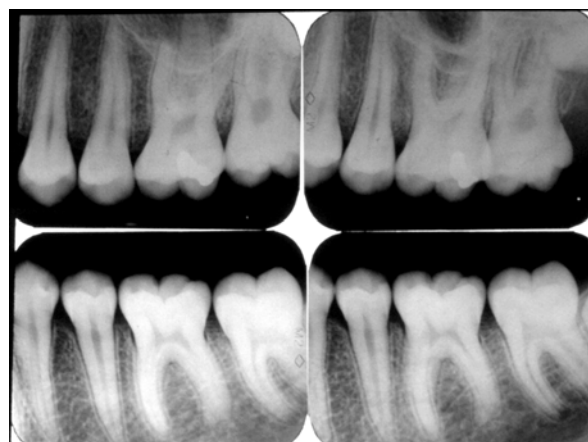


Figura 2 – Aspecto radiográfico das regiões posteriores superior e inferior do lado esquerdo do indivíduo L.A.R.

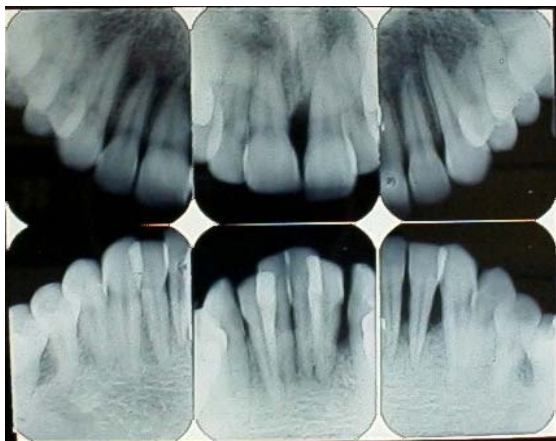


Figura 3 – Aspecto radiográfico das regiões anteriores superior e inferior do indivíduo V.R.

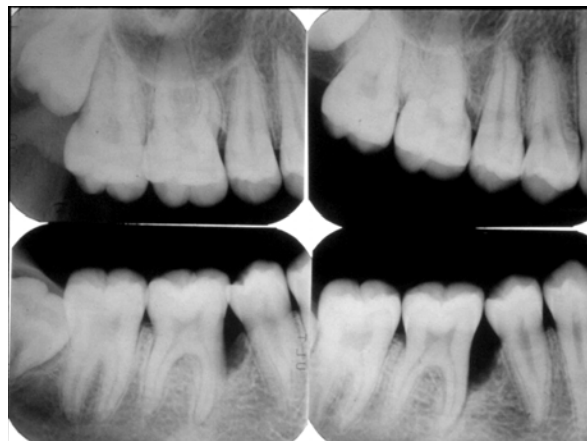


Figura 4 – Aspecto radiográfico da região posterior superior e inferior do lado direito do indivíduo V.R.

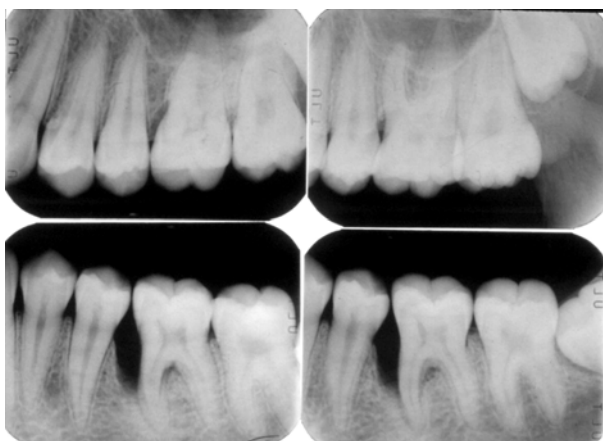


Figura 5 – Aspecto radiográfico da região posterior superior e inferior do lado esquerdo do indivíduo V.R.



Figura 6 – Aspecto radiográfico das regiões anteriores superior e inferior do indivíduo A.P.R.

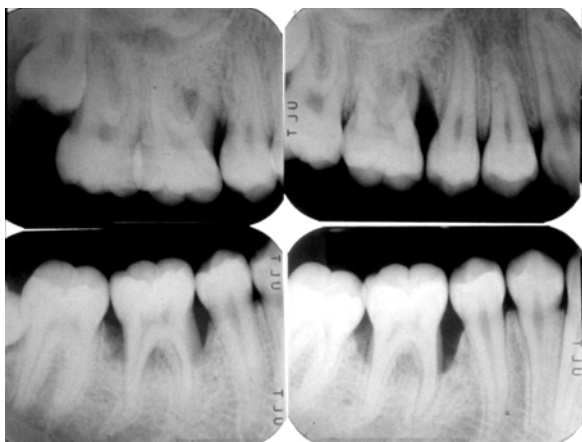


Figura 7 – Aspecto radiográfico da região posterior superior e inferior do lado direito do indivíduo A.P.R.

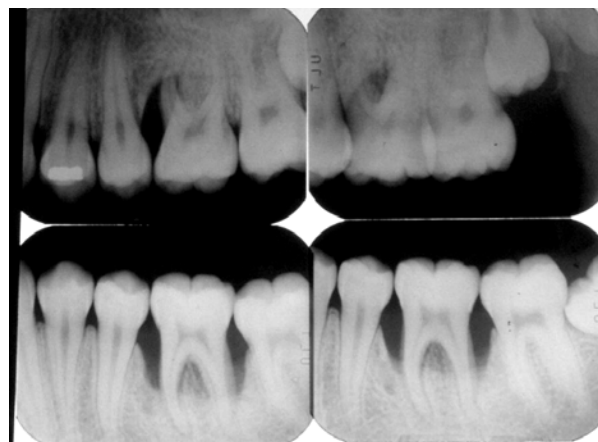


Figura 8 – Aspecto radiográfico da região posterior superior e inferior do lado esquerdo do indivíduo A.P.R.

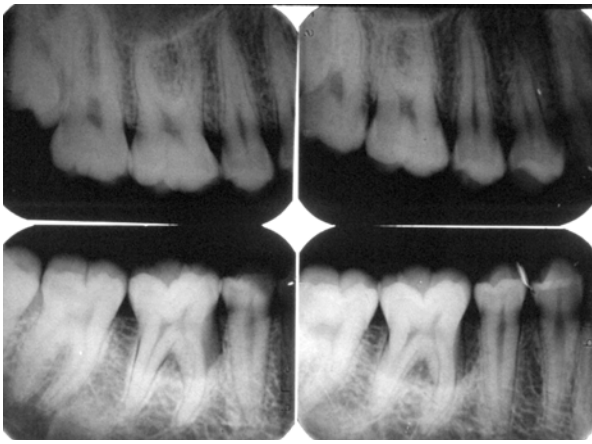


Figura 9 – Aspecto radiográfico da região posterior superior e inferior do lado direito do indivíduo M.R.



Figura 10 – Aspecto radiográfico da região posterior superior e inferior do lado esquerdo do indivíduo M.R.



Figura 11 – Aspecto radiográfico das regiões anteriores superior e inferior do indivíduo M.R.

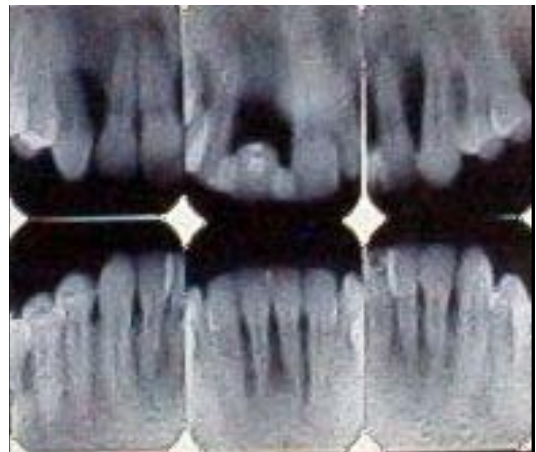


Figura 12 – Aspecto radiográfico das regiões anteriores superior e inferior do indivíduo M.A.R.

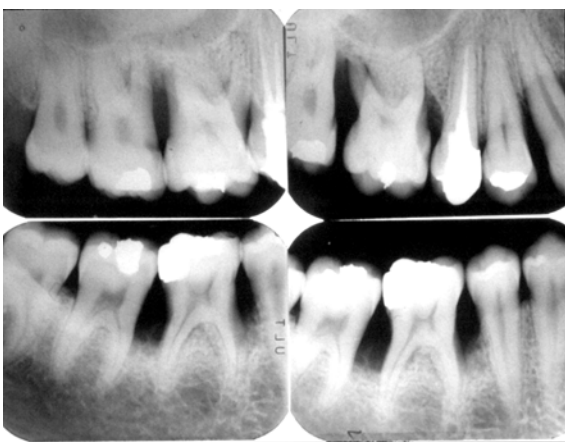


Figura 13 – Aspecto radiográfico da região posterior superior e inferior do lado direito do indivíduo M.A.R.

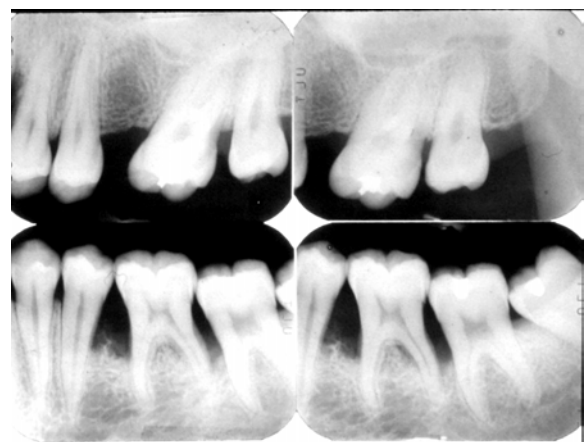


Figura 14 – Aspecto radiográfico da região posterior superior e inferior do lado esquerdo do indivíduo M.A.R.

De acordo com os resultados observados, o Quadro 2 mostra o diagnóstico específico dos cinco irmãos examinados.

QUADRO 2 – Distribuição dos indivíduos de acordo com idade e diagnóstico periodontal.

Indivíduo	Idade	Diagnóstico
♂ (LAR)	13	Periodontite Incipiente
♀ (VR)	14	Periodontite Agressiva Localizada
♀ (APR)	16	Periodontite Agressiva Localizada
♂ (MR)	18	Periodontite Incipiente
♂ (MAR)	20	Periodontite Agressiva Generalizada

O Quadro 3 mostra os resultados verificados em relação à presença de *A. actinomycetemcomitans* tanto para o método de cultura como para a Reação em Cadeia da Polimerase (PCR).

QUADRO 3 – Dados individuais referentes a identificação de *A. actinomycetemcomitans* pelos métodos de cultura e expressão de leucotoxicidade por PCR.

Indivíduo	Cultura	PCR
♂ (LAR)	Positivo	Máxima Leucotoxicidade
♀ (VR)	Positivo	Máxima Leucotoxicidade
♀ (APR)	Positivo	Máxima Leucotoxicidade
♂ (MR)	Positivo	Máxima Leucotoxicidade
♂ (MAR)	Positivo	Máxima Leucotoxicidade

DISCUSSÃO

A doença periodontal pode ser considerada um conjunto de diferentes doenças para as quais um certo número de indivíduos possui alto risco (Johnson et al.¹³, 1988). Nestes indivíduos, os fatores do hospedeiro parecem ter importante papel na susceptibilidade à periodontite, e esse risco pode estar parcialmente sob controle genético. Estudos recentes têm discutido a hereditariedade na susceptibilidade a doença periodontal (Hart et al.¹², 1997).

A doença periodontal é uma doença que resulta da interação entre a presença do microrganismo, a resposta imune do hospedeiro e os fatores

de risco. Pode-se considerar que todas as formas de doença periodontal são resultantes de infecção bacteriana e se relacionam com agentes infecciosos capazes de inibir alguns mecanismos de defesa do hospedeiro ou exacerbar a liberação de mediadores químicos da inflamação, o que leva à destruição tecidual (Slots²⁵, 1976). Entretanto, outros fatores como hábito de fumar e fatores genéticos parecem ter influência aumentada na severidade da doença.

Com o avanço das pesquisas imunológicas, e com a instituição de métodos apropriados para comparar diferentes populações, alguns fatores do hospedeiro têm sido associados com o início, progressão e severidade da doença periodontal. Dentre esses fatores, destacam-se alterações quantitativas e funcionais de leucócitos polimorfonucleares, distúrbios na regulação da resposta imunológica, doenças sistêmicas, hábito de fumar e hábitos alimentares (AAP¹, 1999; Rutkauskas²³, 2000). Estudos de Beck et al.⁴ (1990) sugeriram que menos de 20% da variabilidade na expressão da doença periodontal são explicados por níveis microbianos específicos.

Lindhe et al.¹⁴ (1975), em um estudo experimental de periodontite em cães, observaram que após o acúmulo de placa bacteriana e desenvolvimento de gengivite, alguns animais desenvolviam apenas uma perda de inserção mínima. De forma similar, plantadores de chá no Sri Lanka (Løe et al.¹⁵, 1986), com hábitos alimentares de higiene oral precários e na ausência de tratamento odontológico, desenvolveram formas de periodontite, entre incipiente e severa. A partir de então, ocorreram mudanças nos conceitos da etiologia da doença periodontal, centralizando a resposta do hospedeiro como modificador dos resultados clínicos da infecção bacteriana (Hart et al.¹¹, 1994).

Evidências da influência genética nas periodontites resultaram de fontes diversas incluindo agregação familiar e estudos genéticos formais de periodontite agressiva, associação da periodontite com doenças Mendelianas hereditárias e estudos de periodontite crônica em gêmeos. A identificação de fatores genéticos que controlam a resposta imune a várias infecções microbianas, tanto em modelos animais como em humanos, aumentou a ênfase em respostas do hospedeiro determinadas geneticamente (Baer et al.³, 1960; Malo et al.¹⁶, 1994a; Malo et al.¹⁷, 1994b).

Defeitos genéticos severos que afetam a função dos neutrófilos são conhecidos por predispor a infecções microbianas, e parte deles são associa-

dos com aumento de doença periodontal (Genco et al.⁹, 1986; Hart et al.¹¹, 1994). Aproximadamente 70% dos pacientes com periodontite agressiva localizada apresentam uma deficiência na habilidade dos neutrófilos sangüíneos periféricos em responder a agentes quimiotáticos (Van Dyke et al.³³, 1994).

No presente estudo, após a realização dos exames clínicos e radiográficos foi possível observar uma alta prevalência de periodontite agressiva, entretanto, após o exame microbiológico pela técnica de cultura detectou-se a presença de *A. actinomycetemcomitans* nos cinco indivíduos examinados, e através da técnica de PCR, observou-se a presença de cepas JP2 de máxima leucotoxicidade, o que foi caracterizado pela deleção de 530 pares de base.

Em decorrência de uma alta prevalência de periodontite e pela presença de amostras semelhantes de *A. actinomycetemcomitans* nos cinco irmãos examinados, esperava-se encontrar uma manifestação clínica da doença periodontal como uma distribuição uniforme, ou seja, indivíduos adolescentes apresentando um menor padrão de destruição alveolar em relação aos jovens. Todavia, verificou-se que o padrão de destruição periodontal não foi padronizado e independente da idade.

Uma possível variável que pudesse justificar este padrão indefinido se baseia no fato de que estes indivíduos poderiam alocar patógenos periodontais diferentes, ou seja, cepas de *A. actinomycetemcomitans* com mínima leucotoxicidade compatível com menor expressão de patologia periodontal e conseqüentemente, amostras com máxima leucotoxicidade, nos indivíduos mais afetados. Mais uma vez, esta não foi a característica observada, verificando-se que todos os cinco indivíduos apresentavam amostras positivas para *A. actinomycetemcomitans* tanto para cultura como na expressão de leucotoxina.

Assim, de acordo com o verificado, nos é lícito considerar que apesar da não realização de exames específicos relacionados aos hospedeiros, a obtenção de exames clínicos, radiográficos e microbianos nos membros de uma mesma família sugerem que outros fatores podem ter influenciado nas diferentes manifestações clínicas observadas. Além disto, a elaboração de exames mais específicos podem ser conduzidos em modelos familiares como o aqui apresentado para elucidar outros fatores relacionados a manifestação da doença periodontal.

CONCLUSÃO

Após a obtenção dos resultados clínicos radiográficos e microbianos, observou-se que os indivíduos apresentavam a mesma característica microbiana e diferenças na expressão e severidade da doença periodontal. Com base nestes resultados sugere-se que outros fatores poderiam estar presentes modificando a manifestação clínica da doença periodontal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. American Academy of Periodontology. Ann Periodontol. 1999;4(1):18-9;38-53.
2. Baehni PC et al. Leukotoxic activity in different strains of the bacterium *Actinobacillus actinomycetemcomitans* isolated from juvenile periodontitis in man. Arch Oral Biol. 1981;26:671-6.
3. Baer P, Lieberman J. Periodontal disease in six strains of inbred mice. J Dent Res. 1960;39:215.
4. Beck JD et al. Prevalence and risk indicators for periodontal attachment loss in a population of older community-dwelling blacks and whites. J Periodontol. 1990;61:521-8.
5. Brogan JM et al. Regulation of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* leukotoxin expression: analysis of the promoter regions of leukotoxic and minimally leukotoxic strains. Infect Immun. 1994;62:501-8.
6. Chung H-J et al. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotypes and leukotoxicity in Korean localized juvenile periodontitis. J Periodontol. 1989;12:506-11.
7. Fetner AE. The complete periodontal examination, diagnosis, and treatment plan. In: Periodontal disease management. Illinois: American Academy of Periodontology; 1994. p. 51-74.
8. Fives-Taylor PM et al. Virulence factors of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Periodontol 2000; 1999;20:136-67.
9. Genco RJ et al. Molecular factors influencing neutrophil defects in periodontal disease. J Dent Res. 1986;65:1379-91.
10. Haraszthy VI et al. Evidence for the role of highly leukotoxic *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in the pathogenesis of localized juvenile and other forms of early-onset periodontitis. J Periodontol. 2000;71:912-22.
11. Hart TC, Shapira L, Van Dyke TE. Neutrophil defects as risk factors for periodontal diseases. J Periodontol. 1994;65:521-9.
12. Hart TC, Kornman KS. Genetic factors in the pathogenesis of periodontitis. Periodontol 2000. 1997;14:202-15.
13. Johnson NW et al. Detection of high-risk groups and individuals for periodontal diseases. Evidence for the existence of high-risk groups and individuals and approaches to their detection. J Clin Periodontol. 1988;15:276-82.
14. Lindhe J, Hamp SE, Loe H. Plaque induced periodontal disease in beagle dogs. A 4-year clinical, roentgenographical and histometrical study. J Periodont Res. 1975;10:243-55.

15. Løe H et al. Natural history of periodontal disease in man. Rapid, moderate and no loss of attachment of Sri Lanka laborers 14 to 46 years of age. *J Clin Periodontol.* 1986;13:431-40.
16. Malo D et al. Haplotype mapping and sequence analysis of the mouse *Nramp* gene predict susceptibility to infection with intracellular parasites. *Genomics.* 1994a;23:51-61.
17. Malo D, Skamene E. Genetic control of host resistance to infection. *Trends Genet.* 1994b;10:365-71.
18. Mombelli A et al. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in Chinese adults. Serotype distribution and analysis of the leukotoxin gene promoter locus. *J Clin Periodontol.* 1999;26:505-10.
19. Müller HP et al. Simultaneous isolation of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* from subgingival and extracrevicular locations of the mouth. *J Clin Periodontol.* 1995;22:413-9.
20. Page RC, Schroeder HE. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. *Lab Invest.* 1976;33:235-49.
21. Page RC. Artigo José. 1983.
22. Renvert S et al. Comparative study of subgingival microbiological sampling techniques. *J Periodontol.* 1992;63:797-801.
23. Rutkauskas JS. The medical necessity of periodontal care. *Periodontol 2000.* 2000;23:151-6.
24. Seymour GJ, Greenspan JS. The phenotypic characterization of lymphocyte subpopulations in established human periodontal disease. *J Periodont Res.* 1979;14:39-46.
25. Slots J. The predominant cultivable organisms in juvenile periodontitis. *Scand J Dent Res.* 1976;84(1):1-10.
26. Slots J. et al. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease: a cross-sectional microbiological investigation. *Infect Immun.* 1980;29(3):1013-20.
27. Slots J. Selective medium for isolation of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Clin Microbiol.* 1982;15(4):606-9.
28. Slots J. Salient biochemical characters of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Arch Microbiol.* 1982;131:60-7.
29. Slots J et al. The occurrence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides intermedius* in destructive periodontal disease in adults. *J Clin Periodontol.* 1986;13:570-7.
30. Slots J. *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. In: Nisengard RJ, Newman MG. Oral microbiology and immunology. 2^a ed. Philadelphia: W.B. Saunders; 1994. p. 218-27.
31. Slots J. Primer for antimicrobial periodontal therapy. *J Periodont Res.* 2000;(35):108-14.
32. Updegrave WJ. Simplifying and proving intraoral dental roentgenography. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol [Saint Louis].* 1959;12(6):704-16.
33. Van Dyke TE, Vaikuntam J. Neutrophil function and dysfunction in periodontal disease. *Curr Opin Periodontol.* 1994;19-27.
34. Zambon JJ, Christersson LA, Slots J. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease: prevalence in patients groups and distribution of biotypes and serotypes within families. *J Periodontol.* 1983;54(12):707-11.
35. Zambon JJ, Deluca C, Slots J, Genco RJ. Studies of leukotoxin from *Actinobacillus actinomycetemcomitans* using the promyelocytic HL-60 cell line. *Infect Immun.* 1983;41:19-27.
36. Zambon JJ et al. The microbiology of early-onset periodontitis: association of highly toxic *Actinobacillus actinomycetemcomitans* strains with localized juvenile periodontitis. *J Periodontol.* 1996;67(3 suppl.):282-90.

Recebido por publicação em: 17/05/2005; aceito em 12/09/2005.

Endereço para correspondência:

JOSÉ ROBERTO CORTELLI
Rua Nelson Freire Campello, 343 – Jardim Eulália
CEP 12010-700, Taubaté, SP Brasil
E-mail: jrcortelli@uol.com.br