



FACULDADE DE MEDICINA DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA

Mestrado Integrado em Medicina Dentária

Joana Filipa dos Santos de Almeida

**PERIODONTITE AGRESSIVA:
FACTORES ETIOLÓGICOS E PATOGÉNICOS**

Orientador:

Professor Doutor Mariano Sanz Alonso

Co-orientador:

Dr. Orlando Paulo Moreira Martins

Coimbra 2012

Periodontite Agressiva: Factores Etiológicos e Patogénicos

Joana Almeida

Área de Medicina Dentária, Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal
E-mail: juanaalmeida@hotmail.com

Professor Doutor Mariano Sanz

Faculdade de Odontologia, Universidade Complutense de Madrid, Espanha

Dr. Orlando Martins

Área de Medicina Dentária, Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

RESUMO

As doenças periodontais são condições inflamatórias dos tecidos de protecção e suporte dos dentes que podem afectar crianças, adolescentes e adultos. A classificação internacional elaborada pela Academia Americana de Periodontologia em 1999 distingue oito tipos de doenças periodontais, entre elas a Periodontite Agressiva (1). Esta apresenta-se como sendo uma das mais severas e de rápida evolução. Caracteriza-se pela perda acelerada de inserção clínica e destruição óssea alveolar, em indivíduos geralmente jovens com uma história médica não-significativa. De acordo com o Relatório de Consenso da Academia Americana de Periodontologia (2), este grupo de doenças apresenta um forte componente genético e são mais prevalentes dentro de famílias, tendo a agregação familiar sido adoptada como um dos critérios major para o diagnóstico desta patologia. A presença de determinados microrganismos na flora bacteriana subgengival tem vindo a ser relacionada com a Periodontite Agressiva. A causa parece estar relacionada com um grupo de bactérias que expressam numerosos factores de virulência.

O objectivo do presente trabalho consiste na realização de uma revisão sistematizada da literatura sobre a(s) principal(ais) bactéria(s) periodontal(ais) patogénica(s) envolvida(s) na Periodontite Agressiva e o seu mecanismo de acção. Durante esta revisão pretendemos responder às seguintes questões: Qual a bactéria central? Existem outras bactérias responsáveis pela progressão da doença? Como actuam essas bactérias na evolução da doença até chegar à destruição dos tecidos?

Foi realizada uma pesquisa bibliográfica em bases de dados primárias (PubMed/MEDLINE), mistas (EBSCOhost) e secundárias (Cochrane Central), bem como uma pesquisa em revistas da especialidade, nomeadamente: *Journal of Dental Research*, *Journal of Clinical Periodontology* e *Journal of Periodontology*, tendo sido seleccionado um intervalo temporal específico compreendido entre Janeiro de 1999 e Maio de 2012. Foram incluídos na revisão catorze artigos, uma vez que respeitavam os critérios de inclusão.

Porphyromonas gingivalis, *Tannerella forsythia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Treponema* spp., *Campylobacter* spp. e *Fusobacterium* spp. foram as bactérias periodontopatogénicas mais presentes, embora se reconheça que outras espécies possam contribuir para a patogénese da doença periodontal agressiva.

O perfil microbiológico observado nesta revisão revelou patogénios conhecidos, apoiando descobertas anteriores. Espécies do complexo vermelho e laranja, e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* foram os principais patogénios periodontais neste estudo.

Palavras-chave: Periodontite Agressiva, etiologia, microbiologia, bactéria.

ABSTRACT

Periodontal diseases are inflammatory conditions of the tissues that protect and support the teeth and can affect children, adolescents and adults. The international classification developed by the American Academy of Periodontology in 1999 distinguishes eight types of destructive periodontal disease, including Aggressive Periodontitis (1). This presents itself as being one of the most severe and rapid evolution. It is characterized for rapid loss of clinical attachment and alveolar bone destruction in young individuals usually with a non-significant medical history. According to the Consensus Report of the American Academy of Periodontology (2), this group of diseases presents a strong genetic component and is more prevalent within families, having the familial aggregation adopted as one of the major criteria for the diagnosis of this pathology. The presence of determined microorganisms in the subgingival bacterial flora has come to be related with the Aggressive Periodontitis. The cause seems to be related with a group of bacteria that express numerous factors of virulence.

The aim of the present work consists in the accomplishment of a systematized review of the literature on the main pathogenic periodontal bacteria involved in the Aggressive Periodontitis and its mechanism of share. During this review we intend to answer the following questions: What is the central bacterium? There are other bacteria responsible for the disease progression? How act these bacteria in the evolution of the disease until arriving at the tissue destruction?

It was carried through a bibliographical research in primary databases (PubMed/MEDLINE), mixed (EBSCOhost) and secondary (Cochrane Central), as well as one search in specialty magazines, namely: Journal of Dental Research, Journal of Clinical Periodontology e Journal of Periodontology, having been selected a specific time interval between January 1999 and May 2012. Fourteen articles had been enclosed in the review, once that respected the inclusion criteria.

Porphyromonas gingivalis, *Tannerella forsythia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia*, *Treponema* spp., *Campylobacter* spp. and *Fusobacterium* spp. were the periodontopathic bacteria more present, although is recognized that other species may contribute to the pathogenesis of aggressive periodontal disease.

The microbiological profile observed in this review revealed known pathogens, supporting earlier findings. Species of the red and orange complex, and *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* were the main periodontal pathogens in this study.

Key words: Aggressive Periodontitis, etiology, microbiology, bacteria.

ÍNDICE

RESUMO.....	2
ABSTRACT.....	4
I – INTRODUÇÃO.....	7
1.1. Classificação das Doenças Periodontais.....	7
1.2. Características da Periodontite Agressiva.....	8
1.2.1. Periodontite Agressiva Localizada.....	9
1.2.2. Periodontite Agressiva Generalizada.....	10
1.3. Etiopatogenia da Periodontite Agressiva.....	10
1.3.1. Aspectos Microbiológicos.....	10
1.3.1.1. <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	13
1.3.2. Aspectos Imunológicos.....	14
1.3.3. Factores de Virulência Microbiana.....	15
1.4. Prevalência da Periodontite Agressiva.....	16
1.5. Susceptibilidade Genética.....	18
1.6. Tratamento.....	19
1.7. Objectivos.....	21
II – MATERIAIS E MÉTODOS.....	22
2.1. Critérios de Selecção dos Estudos.....	22
2.1.1. Critérios de Inclusão.....	22
2.1.2. Critérios de Exclusão.....	22
2.2. Pesquisa de Estudos.....	23
2.2.1. Bases de Dados Bibliográficas.....	23
2.2.2. Pesquisa em Revistas Científicas.....	24
2.3. Selecção de Estudos.....	24
2.4. Apresentação de Dois Casos Clínicos.....	25
III – RESULTADOS.....	29
3.1. Resultados da Pesquisa.....	29
3.1.1. Apresentação dos Resultados.....	29
3.2. Resultados Microbiológicos dos Pacientes Incluídos nos Casos Clínicos.....	30

IV – DISCUSSÃO.....	31
V – CONCLUSÕES.....	38
AGRADECIMENTOS.....	40
BIBLIOGRAFIA.....	41
ANEXOS.....	56
ANEXO A. Lista de Figuras.....	57
ANEXO B. Lista de Tabelas.....	58
ANEXO C. Lista de Abreviaturas.....	59
ANEXO D. Lista de Microrganismos.....	60
ANEXO E. Apresentação dos Resultados.....	61
ANEXO F. Quantificação de ADN Bacteriano: Casos Clínicos.....	71
ANEXO G. Lista de Artigos Excluídos.....	72

I - INTRODUÇÃO

1.1. Classificação das Doenças Periodontais

A evolução da classificação das doenças periodontais é influenciada directamente pelos paradigmas que reflectem a compreensão da natureza dessas patologias num dado período histórico (3). No início do século XX pouco se conhecia acerca da etiologia e patogenia das doenças periodontais. A sua classificação baseava-se nas suas características clínicas e praticamente não havia evidências científicas que sustentassem as diversas nomenclaturas sugeridas (3). Na primeira metade do século XX, começaram a surgir vários sistemas de classificação para as doenças periodontais. Nesta época, acreditava-se que a doença periodontal apresentava duas formas: uma, de carácter destrutivo e inflamatório, e a outra, de carácter degenerativo e não inflamatório (3).

Em 1989, o termo “Periodontite de Início Precoce” foi usado pela *American Academy of Periodontology* (Academia Americana de Periodontologia - AAP) como uma designação colectiva para um grupo de diferentes doenças periodontais destrutivas que afectam pacientes jovens (periodontite pré-pubertária, juvenil e progressão rápida). Foi assumido logicamente que estas doenças tinham um início precoce, afectando pessoas jovens (4, 1).

A definição de “Periodontite Agressiva” (PA) actualmente usada foi introduzida em 1999, pelo *International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions* (2). Esta revisão do sistema de classificação teve como objectivo colmatar uma série de limitações bem como abordar alguns aspectos chave que estavam em falha no sistema anterior. No entanto, embora um dos objectivos explicitamente expresso da Classificação de 1999 fosse descartar as terminologias dependentes da idade ou da necessidade do conhecimento das taxas de progressão (1), o novo sistema apenas trouxe uma melhoria substancial limitada nestes aspectos (5). Contudo, esta classificação apesar de ainda não ser totalmente satisfatória é considerada como a mais actual e, geralmente, universalmente aceite. Nesta classificação, as doenças periodontais ordenaram-se em oito categorias principais: (i) Doenças Gengivais; (ii) Periodontite Crónica (PC); (iii) Periodontite Agressiva; (iv) Periodontite como Manifestação de Doença Sistémica; (v) Doenças Periodontais Necrosantes; (vi) Abscessos Periodontais; (vii) Periodontite Associada a Lesões Endodônticas; e (viii) Deformações ou Condições Morfológicas ou Adquiridas (1). As diferentes formas de periodontite foram reclassificadas em três formas principais (Crónica, Agressiva e Necrosante) e em Manifestações Periodontais de Doenças Sistémicas (1).

1.2. Características da Periodontite Agressiva

A PA (Figura 1) compreende um grupo de formas de periodontite de progressão rápida, raras e frequentemente graves, inúmeras vezes caracterizada pelo aparecimento numa idade precoce (6). Em 1999, no simpósio para classificação internacional, a forma agressiva da doença periodontal foi definida com base nas seguintes características principais (7): não associada a doenças sistémicas; rápida perda de inserção periodontal e destruição óssea; e agregação familiar dos casos.

No entanto, as características secundárias não obrigatoriamente presentes, incluem (7): quantidades de depósitos microbianos incompatíveis com a gravidade da destruição do tecido periodontal; proporções elevadas de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa) e, em algumas populações, *Porphyromonas gingivalis* (Pg); alterações na fagocitose; fenótipo de macrófago hiper-reactivo, originando produção elevada de prostaglandina E₂ (PGE₂) e interleucina-1 β (IL-1 β) em resposta a endotoxinas bacterianas; e a progressão da perda de suporte periodontal pode ser auto-limitativa.



Figura 1. a) Fotografia clínica e b) radiografia panorâmica de um paciente de 31 anos de idade diagnosticado com PA. Adaptado de (8)

O diagnóstico de PA requer a exclusão da presença de doenças sistémicas que possam prejudicar seriamente a defesa do hospedeiro e levar à perda prematura dos dentes (Manifestações Periodontais de Doenças Sistémicas) (9).

A identificação de características clínicas e laboratoriais consideradas específicas permitiu a subclassificação da PA nas formas localizada (PAL) e generalizada (PAG) (7).

1.2.1. **Periodontite Agressiva Localizada**

Clinicamente, esta forma de periodontite apresenta-se localizada no primeiro molar e incisivo, com perda de inserção interproximal em pelo menos dois dentes permanentes, sendo um deles o primeiro molar e envolvendo não mais que dois dentes além dos primeiros molares e incisivos (10).

A PAL caracteriza-se pela falta de sinais clínicos evidentes de inflamação, apesar da presença de bolsas periodontais profundas. Da mesma forma a quantidade de placa bacteriana nos dentes afectados é mínima (7) e forma um biofilme fino, sendo rara a sua mineralização ao ponto de formar cálculos (11). Embora a quantidade de placa bacteriana possa ser limitada, contém frequentemente níveis elevados de *Aa* e, em alguns pacientes, de *Pg* (7). A forma localizada da doença apresenta forte resposta de anticorpos séricos aos agentes infecciosos (12).

Outras características clínicas da PAL podem incluir migração disto-vestibular dos incisivos superiores, com formação de diastema concomitante, aumento da mobilidade dos primeiros molares, sensibilidade das superfícies radiculares expostas a estímulos térmicos e tácteis bem como dor profunda, cega e irradiada durante a mastigação, provavelmente por causa da irritação das estruturas de suporte pela mobilidade dental e impactação alimentar. Nesta fase podem formar-se abscessos periodontais, e podem ocorrer aumento dos nódulos linfáticos regionais (13).

Um sinal diagnóstico clássico de PAL é a perda vertical do osso alveolar ao redor dos primeiros molares e incisivos, começando por volta da puberdade em adolescentes saudáveis (14). A PAL progride rapidamente sendo a taxa de perda óssea aproximadamente três a quatro vezes mais rápida que na PC (15). Os dados radiográficos podem incluir uma perda de osso alveolar em forma de arco estendendo-se da superfície distal do segundo pré-molar à superfície mesial do segundo molar (14). Deve-se referir que em alguns casos, a forma localizada da doença pode progredir para uma forma mais generalizada (16).

1.2.2. Periodontite Agressiva Generalizada

Clinicamente, esta forma de periodontite é caracterizada pela perda de inserção interproximal generalizada afectando pelo menos três dentes permanentes, além dos primeiros molares e incisivos (10).

A PAG mostra surtos evidentes de destruição periodontal, com períodos de exacerbação ou remissão, apresenta sinais mais visíveis de inflamação dos tecidos periodontais e maior quantidade de placa bacteriana e cálculo dentário, comparativamente com a PAL (17, 18). Todavia, ao contrário da PAL, apresenta resposta insuficiente de anticorpos séricos aos agentes infecciosos (12).

O quadro radiográfico na PAG pode variar da perda óssea severa associada a um número mínimo de dentes, como previamente descrito, até à perda óssea avançada afectando a maioria dos dentes presentes (14). Page *et al.* (18) descrevem locais com uma taxa de destruição óssea de 25-60% em pacientes com PAG, num período de 9 semanas. No entanto, apesar desta perda extrema de tecido de suporte, outros locais no mesmo paciente não mostram qualquer perda óssea.

Deve-se referir que em alguns casos, a forma generalizada da doença pode continuar a progredir inexoravelmente para a perda do dente, apesar da intervenção com tratamento convencional (14). É sugerido que a forma generalizada afecta principalmente pacientes com menos de 30 anos de idade (7).

1.3. Etiopatogenia da Periodontite Agressiva

As infecções periodontais são causadas por um consórcio extremamente diversificado de microrganismos que fazem parte da microbiota endógena da maioria das pessoas (19). Segundo vários autores, a PA é causada por uma infecção bacteriana (20, 21, 22). Matos (23) refere que actualmente está bem estabelecido que bactérias periodontais patogénicas localizadas na placa subgengival são as principais responsáveis pela natureza destrutiva da doença periodontal.

1.3.1. Aspectos Microbiológicos

O nosso conhecimento da microbiologia associada à PA é limitado (19). Sabemos que esta microbiologia não é monoinfecciosa. Um consórcio de múltiplos microrganismos que vivem em biofilmes participa nos eventos que levam a estas infecções (19).

As bactérias constituintes do complexo vermelho (Figura 2) e Aa são consideradas as mais virulentas e com maior poder de destruição do que qualquer outra espécie do biofilme bacteriano. Estas são capazes de colonizar a placa subgingival, invadir o organismo e produzir uma elevada carga de proteases e exotoxinas, capazes de induzir respostas imunitárias altamente destrutivas (24, 25). Estas bactérias estão geralmente associadas à forma localizada e generalizada da PA, estando presentes em amostras de placa supra e subgingival, células epiteliais da bolsa periodontal e tecido conjuntivo de pacientes periodontalmente comprometidos (26).

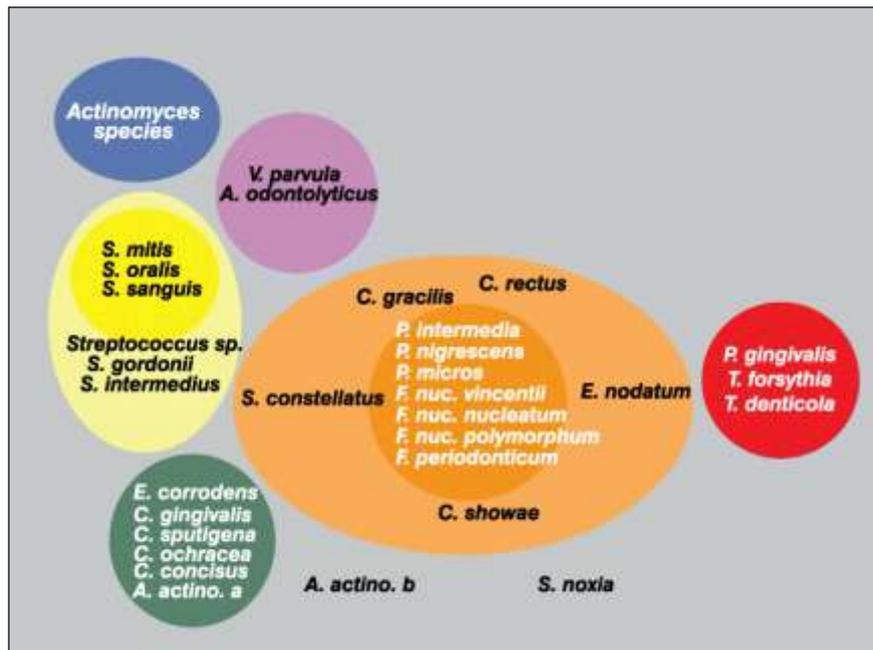


Figura 2. Complexos microbianos subgingivais. Adaptado de (27)

A associação entre a PA e o Aa não está totalmente definida. Este tópico merece, na actualidade, uma acesa discussão na comunidade científica.

De acordo com alguns autores (28, 29, 30, 31) existe um envolvimento da espécie bacteriana Aa na etiopatogenia da PA. Da mesma forma Slots *et al.* (32), ao analisarem por meio de cultura microbiana amostras de biofilme subgingival de bolsas profundas de pacientes portadores de PAL encontraram em 9 dos 10 indivíduos analisados uma alta prevalência de Aa. Outros estudos isolaram Aa em cerca de 75-100% de amostras de bolsas periodontais activas na PAL (33, 34, 35), corroborando assim a relação existente entre este patogénio e a forma agressiva da doença periodontal. Segundo Tonetti e Mombelli (6), o Aa tem sido descrito como o patogénio primário associado à PA, sobretudo na forma localizada. Esta ligação está baseada nas seguintes evidências: (i) o Aa foi isolado em lesões periodontais em mais de 90% de pacientes com PAL, comparado com 17% de

indivíduos saudáveis; (ii) locais com evidência de progressão da PAL frequentemente apresentam níveis elevados de *Aa*; (iii) muitos pacientes com manifestações clínicas de PAL têm níveis de anticorpos séricos para *Aa* significativamente elevados; (iv) estudos clínicos mostram uma correlação entre a redução no total subgengival de *Aa* durante o tratamento da PAL e sucesso na resposta clínica; e (v) o *Aa* produz vários factores de virulência que podem contribuir para o processo da doença, os quais incluem uma potente endotoxina (LPS), material capsular, enzimas proteolíticas e um factor específico (leucotoxina A) que tem a capacidade de neutralizar a função dos neutrófilos. Assim, o *Aa* foi um dos poucos microrganismos orais a ser reconhecido por muitos como um verdadeiro agente infeccioso, e a PAL como uma infecção causada principalmente por ele (36, 37, 6).

De acordo com outros autores esta associação entre PA e *Aa* não é tão evidente. (38, 39, 40, 41, 42). Kamma *et al.* (40), ao estudarem uma sub-população na Grécia e Mullally *et al.* (42), na Irlanda do Norte observaram por meio da técnica de reacção em cadeia da polimerase (*Polymerase Chain Reaction* - PCR) uma baixa prevalência de *Aa* (18,8% e 28%) em bolsas periodontais de indivíduos com PAL. Noutro estudo (39), não foi isolado *Aa* em nenhuma das 23 amostras subgengivais obtidas de indivíduos chineses portadores da forma agressiva da doença periodontal. Gajardo *et al.* (38), por meio de cultura microbiana isolaram *Aa* em apenas 16.67% de bolsas periodontais de 30 indivíduos com PAL numa população chilena. Esta baixa prevalência de *Aa* na população chilena já havia sido reportada por López *et al.* (41). Mombelli *et al.* (43), numa revisão sistemática da literatura, relataram que a presença ou ausência de *Aa* não pode ser um parâmetro para diferenciar indivíduos com PA de indivíduos com PC.

No entanto, apesar da controvérsia relativa ao envolvimento do *Aa* na PA, outras bactérias como *Pg*, *Tannerella forsythia* (*Tf*), *Treponema denticola* (*Td*), *Campylobacter rectus* (*Cr*), *Prevotella intermédia* (*Pi*), *Eikenella corrodens* (*Ec*), *Fusobacterium nucleatum* (*Fn*) e espécies de *Selenomonas* são rotineiramente isoladas de lesões de PA (44, 20, 21, 45).

A microbiota associada com a variante generalizada possui patogénios activos com carácter mais complexo, envolvendo para além, do *Aa* e *Pg*, microrganismos associados com PC como *Tf*, *Cr*, *Fn*, *Capnocytophaga* spp., *Eubacterium* spp., *Pi*, *Parvimonas micra* (*P. micra*), *Treponema* spp. e *Streptococcus* spp. (38, 46). Torna-se evidente que a PAG não é simplesmente uma infecção Gram-negativa anaeróbia mas que bactérias Gram-positivas e até mesmo micróbios não bacterianos do domínio de *Archaea* podem ter um papel etiológico (19).

1.3.1.1. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

O *Aa* é um bacilo extremamente pequeno, imóvel, Gram-negativo, anaeróbio facultativo, sacarolítico, capnofílico, com terminação arredondada, que forma pequenas colónias convexas de centro “estrelado” quando do cultivo em placas de ágar-sangue (47). Esta espécie foi renomeada como *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* em relação à antiga designação *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (48).

Tem como principal habitat o biofilme presente no sulco gengival/bolsa periodontal, sendo também isolado da placa supragengival, mucosa oral, língua, saliva e amígdalas palatinas de seres humanos (49). No entanto, num estudo realizado por Könönen *et al.* (50), o *Aa* não foi encontrado na mucosa bucal e saliva dos 51 pacientes totalmente edêntulos portadores de próteses totais que participaram da pesquisa dando peso à hipótese de que o nicho primário do *Aa* é o sulco gengival e a perda completa dos dentes elimina algumas bactérias patogénicas por falta de um habitat susceptível à colonização.

Esta bactéria está fortemente associada com casos refractários para algumas terapias, tendo a capacidade de invadir os tecidos periodontais (51). A invasão pode ocorrer através do epitélio da bolsa ou do epitélio gengival e contribui para a destruição do tecido epitelial, conjuntivo e crista óssea alveolar (52). A sua virulência deve-se à capacidade de produzir leucotoxina (LtxA), colagenases, fosfatases e factores de reabsorção óssea, bem como outros factores importantes na invasão de células dos tecidos do hospedeiro, evasão das defesas do hospedeiro, imunossupressão e destruição de tecidos periodontais (53, 54). A LtxA pertence à família das toxinas RTX (*repeats in toxin*), as quais são toxinas líticas e formadoras de poros (55). Algumas amostras clinicamente isoladas de *Aa* possuem plasmídeos. Estes são elementos genéticos com múltiplas características que contribuem para a virulência do *Aa*. Entre estas enunciamos, a capacidade de modificar as propriedades fisiológicas de microrganismos, contribuir para a virulência bacteriana, de alterar a sua posição taxonómica e propagar propriedades biológicas entre diferentes estirpes, espécies e géneros (56).

Uma característica do *Aa* é o facto de apresentar alguns serotipos sendo estes determinados pelos antígenos presentes na sua superfície. No mínimo seis serotipos diferentes de *Aa* já foram observados (a-f) (57), os quais parecem ser de natureza clonal. Estudos iniciais investigaram a relação entre os serotipos do *Aa* e a condição periodontal dos indivíduos, demonstrando que as estirpes do serotipo “b” são mais frequentemente encontradas em Periodontites Agressivas. Já o serotipo “c” é frequentemente isolado em indivíduos que apresentam saúde periodontal. Com isso, sugere-se que o antígeno de

superfície está relacionado à patogenicidade do microrganismo, assim como com a patogénese da PA (34).

1.3.2. Aspectos Imunológicos

Além do aspecto microbiano, a resposta imunológica do indivíduo é essencial para o desenvolvimento da PA, principalmente nos casos generalizados, em que alterações na fagocitose (1) e níveis elevados de metaloproteinases nos sítios afectados estão presentes (58).

Os neutrófilos têm um papel importante no controle da microbiota periodontal. Eles são os primeiros leucócitos a chegar ao local da inflamação, e são o tipo de célula dominante no epitélio juncional e no sulco gengival. Vários estudos (59, 60) demonstraram que pacientes com PA apresentam defeitos funcionais dos neutrófilos, monócitos ou ambos. Esses defeitos podem prejudicar a atracção quimiotática dos neutrófilos para o local da infecção bem como a sua capacidade para fagocitar e matar os microrganismos.

Liu *et al.* (61) analisaram amostras gengivais de 25 pacientes com PA, PC ou sem periodontite. Os autores observaram que a periodontite está relacionada a uma superprodução de mediadores químicos específicos e que as enzimas lisossomais e radicais de oxigénio, libertados durante o processo de ataque às bactérias da bolsa periodontal, têm o potencial para destruir os tecidos adjacentes. Verificaram também, que o acúmulo de neutrófilos, os quais chegam aos tecidos devido a um aumento na quantidade de outras citocinas e mediadores químicos, está relacionado com a severidade e actividade da PAG. Juntamente com os macrófagos, os neutrófilos e/ou células epiteliais poderiam também ser importantes fontes de mediadores químicos inflamatórios, levando a um círculo vicioso. Isto significa que, na tentativa de se eliminar os microrganismos estranhos, o organismo humano produz citocinas, enzimas e radicais que exacerbam o processo inflamatório sendo isso prejudicial aos tecidos envolvidos.



Figura 3. Esquema representativo da resposta inflamatória frente à infecção bacteriana. Adaptado de (61)

1.3.3. Factores de Virulência Microbiana

Os factores de virulência incluem propriedades de microrganismos que os ajudam a evitar as defesas do hospedeiro e/ou contribuir para o dano e destruição dos tecidos do hospedeiro (53).

As bactérias com factores de virulência (em geral, Gram-negativas) são encontradas em quantidade aumentada na bolsa periodontal quando a destruição está em avanço (62). De um modo geral, estas bactérias possuem uma parede celular composta por uma camada de peptidoglicano e três outros componentes que a envolvem externamente: uma lipoproteína, a membrana externa e um lipopolissacarídeo (LPS) (63).

O LPS é uma endotoxina de carácter patogénico, que activa desproporcionadamente o sistema imunitário e a vasodilatação, induzindo a produção de moléculas biologicamente activas, tais como as metaloproteinases da matriz (*matrix metalloproteinases* – MMPs), as PGE₂ de monócitos ou macrófagos. Estas PGE₂ induzem a libertação de citocinas, como a IL-1 β , a interleucina-6 (IL-6) e o factor de necrose tumoral alfa (*Tumour Necrosis Factor Alpha* - TNF- α) (64, 65). Enquanto que a activação local das MMPs latentes produz uma inflamação acelerada e a destruição do tecido conjuntivo, a libertação de IL-1 β , IL-6 e TNF- α são intermediários importantes na reabsorção óssea local (66).

A patogenicidade do *Aa* apresenta carácter multifatorial, determinado por factores microbiológicos e por factores próprios do hospedeiro. Esta bactéria adere firmemente a uma variedade de tecidos do hospedeiro, produz bacteriocinas potentes que lhe conferem uma vantagem competitiva em relação a outras bactérias e desenvolve facilmente resistência a antibióticos, tais como as tetraciclina (53). Para além destas características possui uma toxina de distensão citoletal (*Cytolethal Distending Toxin* - CDT) e é uma fonte abundante de LtxA. A CDT destrói fibroblastos (67) e é conhecida por interromper o ciclo celular bem como por induzir a apoptose dos linfócitos T e B (68, 69). Por sua vez, a LtxA destrói os neutrófilos e os macrófagos do hospedeiro (67, 70). Produz ainda outros factores nocivos ao hospedeiro como a epiteliotoxina, que auxilia o microrganismo a penetrar nas barreiras epiteliais (71) e colagenases, responsáveis pela destruição do colagénio (72). O *Aa* também produz o peptídeo 2-kDa, que induz directamente a expressão de IL-6 pelos fibroblastos através da estimulação directa da transcrição do gene IL-6, levando à rápida reabsorção óssea (73).

A produção de leucotoxina varia significativamente entre as estirpes de *Aa* (74, 75, 76). A ocorrência de uma estirpe altamente toxigénica coincidiu com a alta frequência do serotipo “b” em pacientes com PAL, e essas estirpes actualmente constituem um clone

específico do serotipo “b”, hoje referido como o clone JP2. Estudos recentes revelaram uma forte associação particular entre o clone específico JP2 de Aa e a PA em adolescentes de ascendência africana (77, 78, 79, 80). Pacientes com este clone apresentam quadros clínicos mais graves e avançados de PA, principalmente em relação à forma localizada. Esse mesmo tipo clonal não foi detectado em populações de ascendência europeia ou asiática (81, 82, 83).

A *Pg* é um bacilo Gram-negativo, anaeróbio estrito assacarolítico que possui fímbrias na sua superfície, que a auxiliam na aderência a células epiteliais (84), bem como a componentes salivares, como as proteínas ricas em prolina (85). Produz um amplo espectro de proteases, incluindo algumas que podem clivar moléculas de imunoglobulinas do hospedeiro (86). Apresenta a capacidade de entrar e replicar dentro das células do hospedeiro, tornando-o um verdadeiro patogénio intracelular (87). Com base em dados *in vitro*, pode espalhar-se a partir de células epiteliais infectadas para as células não infectadas adjacentes (88). Possui uma endotoxina potente (lipopolissacarídeo) como parte da membrana externa da sua parede celular, e produz muitos irritantes de baixo peso molecular tais como amónia, H₂S, compostos voláteis de enxofre, indol e ácidos gordos de cadeia curta (86). É uma fonte abundante de pequenas vesículas da membrana externa ou proteolipossomos que facilitam a sua interacção com outras bactérias (89) e inativam ou suprimem as respostas normais do hospedeiro (90).

Há também uma extensa diversidade no potencial patogénico das muitas estirpes específicas de *Pg* (57, 91).

A ênfase que tem sido colocada nestas duas bactérias tem atraído na literatura a atenção de outros possíveis, e talvez igualmente importantes, patogénios que não são tão facilmente estudados. Embora não haja nenhuma dúvida de que estes dois patogénios são importantes na iniciação e progressão das doenças periodontais, pode ser que não sejam as bactérias mais virulentas na microbiota subgengival (19).

1.4. Prevalência da Periodontite Agressiva

Cho *et al.* (92) efectuaram uma revisão da literatura onde sugerem que a prevalência de PA pode variar significativamente entre os países e etnias. Baixos índices de prevalência variando entre 0,1% e 0,2% foram relatados na Europa (93, 94, 95), enquanto taxas de prevalência mais elevadas variando entre 1% e 10% foram verificadas no Brasil (96, 97), Iraque (98), Indonésia (99) e Estados Unidos da América (EUA) (100, 101, 93).

Alguns estudos (102, 101) apontam para uma prevalência da PA que difere entre raças, sendo esta maior entre os afro-americanos que entre os caucasianos. A prevalência actual da PA em crianças e jovens adultos nos EUA é de cerca de 1 a 2% e estima-se que seja 3 vezes mais prevalente em afro-americanos (102).

Indivíduos descendentes de afro-americanos têm 10-15 vezes maior risco de desenvolver PAL do que caucasianos-americanos (101). Num estudo sobre PA entre adolescentes americanos, foi estimado que 2,05% dos afro-americanos tinham PAL, comparados a 0,14% de caucasianos. Para a doença generalizada, a prevalência foi de 0,59% para afro-americanos e 0,03% para caucasianos (101).

Se a prevalência da PA difere ou não entre os sexos não está claro. Recentes relatos de casos clínicos frequentemente encontram uma maior prevalência desta condição entre as mulheres, contudo, um estudo de Saxby (103) sugeriu que a distribuição da doença é muito semelhante entre os sexos. O levantamento em estudantes americanos de 1986-87 indicou que os jovens do sexo masculino tinham uma prevalência ligeiramente superior de PA localizada e generalizada quando comparados com o sexo feminino (101). Contudo, quando a distribuição da doença por sexo foi examinada entre os grupos raciais, as diferenças entre os sexos tornaram-se muito mais evidentes. Entre os afro-americanos, os jovens do sexo masculino são 2,9 vezes mais susceptíveis para desenvolver a PAL quando comparados com as jovens da mesma raça. Entre a raça caucasiana, a associação foi inversa. As jovens do sexo feminino mostraram-se 2,5 vezes mais susceptíveis para desenvolver a doença localizada quando comparadas com os jovens da mesma raça.

Dois estudos independentes com adolescentes de 16 anos de idade, um na Finlândia (95) e o outro na Suíça (94) relataram uma taxa de prevalência de PA de 0,1%. Um outro estudo realizado com 7.266 adolescentes ingleses de 15 a 19 anos mostrou igualmente uma taxa de prevalência de PA de 0,1% (104). Nos EUA, uma pesquisa nacional realizada com adolescentes, de ambas as raças, com idades compreendidas entre 14 e 17 anos relatou uma prevalência da PA localizada e generalizada estimada em 0,53% e 0,13%, respectivamente (101). Um outro estudo examinou as condições periodontais do pessoal masculino e feminino do exército Israelita, entre os 18 e os 30 anos de idade, apresentando uma prevalência de PAL de 4%, enquanto que a prevalência de PAG foi de 2% (105).

1.5. Susceptibilidade Genética

Apesar de se acreditar que os factores microbiológicos e outros factores ambientais exercem um papel fundamental na iniciação e progressão da doença periodontal, existem fortes evidências de que os factores genéticos, na medida em que modulam a forma como os indivíduos respondem à sua microflora, também possuem um papel determinante na predisposição e progressão desta patologia (106, 16).

A agregação familiar é uma ocorrência comum na PA. A explicação para essa agregação seria a transmissão de polimorfismos genéticos que alteram a susceptibilidade do hospedeiro à doença, exacerbando a resposta inflamatória. Entre os factores hereditários reconhecidos como responsáveis por um aumento da susceptibilidade encontram-se os polimorfismos ao nível da interleucina-1 (IL-1), uma citocina pro-inflamatória importante na iniciação e mediação das respostas inflamatórias agudas (107). Acredita-se que a IL-1 seja a citocina crucial na patogénese da doença periodontal (108). Para Quappe *et al.* (109), ela é determinante crítica na destruição óssea e de tecido conjuntivo, e está relacionada com a severidade da doença. Brett *et al.* (110) relacionou-a com a severidade da doença, perda dentária e aumento na hemorragia à sondagem.

As variantes genéticas podem ajudar na distinção das diferentes formas de periodontite baseadas em mecanismos patogénicos. Um exemplo possível poderá ser o genótipo IL-6, o qual foi repetidamente associado à presença de PA (8). O polimorfismo da IL-6 aumenta a susceptibilidade à doença e pode ser transmitido verticalmente (111, 8). Os padrões de transmissão dos genótipos variam de acordo com as diferentes populações, podendo esta ser autossómica dominante em afro-americanos (16), autossómica recessiva em escandinavos (112) ou dominante ligada ao X (113). De acordo com Tonetti e Mombelli (6), os indivíduos não são todos igualmente susceptíveis à PA. Também outros autores descreveram um padrão hereditário de perda óssea alveolar e envolveram factores genéticos na PA (114, 21). No entanto não foram identificados genes específicos responsáveis por essas doenças.

Page *et al.* (22) estudaram uma família em que ambos os pais desenvolveram PAL na adolescência. Após análise desta família composta por seis indivíduos (pai, mãe e quatro filhos), concluíram que a PA é hereditária, pois foi encontrada em duas das crianças, sendo que as outras duas não apresentavam a doença.

A ocorrência familiar da PAL levanta a questão de se a transmissão de estirpes específicas do *Aa* entre membros da mesma família pode contribuir para o progresso da doença. O reconhecimento de variações na virulência entre diferentes estirpes sugere que isto pode ser importante. A análise genética de estirpes do *Aa* isoladas de membros da mesma família sugere a transmissão de uma estirpe entre cônjuges ou de pai para filho ocorre em aproximadamente um terço das famílias investigadas (115). No entanto, como descrito anteriormente, a associação entre *Aa* e PA não é inequívoca.

Evidências sugerem que alguns defeitos imunológicos associados à PA possam ser herdados. Van Dyke *et al.* (116) relataram um agrupamento hereditário das anormalidades funcionais dos neutrófilos vistas na PAL. Este agrupamento sugere que o(s) defeito(s) possa(m) ser hereditário(s) (6). Estudos também têm demonstrado que a resposta de anticorpos contra os patogénios periodontais, particularmente *Aa*, está subjugada ao controle genético, e que a habilidade para adaptar altas quantidades de anticorpos protectivos específicos, principalmente imunoglobulina G (IgG2) contra *Aa* pode ser racial dependente (117).

Diversos autores, em diferentes épocas, observaram o padrão familiar da PA em relação aos efeitos genéticos. Concluíram que estes contribuem para o desenvolvimento da doença. O *Aa* difunde-se entre membros da mesma família de duas maneiras: a transmissão por contacto intrafamiliar ou por meio da transmissão genética da susceptibilidade à doença (118).

Em suma, dados suportam a ideia de que exista um gene com um efeito importante para a PA. Os dados também sustentam uma base genética para alguns dos defeitos imunológicos vistos em pacientes com PA. Porém, é improvável que todos os pacientes afectados por PA tenham o mesmo defeito genético. De acordo com Tonetti e Mombelli (6), parece que genes específicos podem ser diferentes em várias populações e/ou grupos étnicos, e então a verdadeira heterogeneidade na susceptibilidade da doença pode estar presente.

1.6. Tratamento

Estabelecer um diagnóstico baseado no tipo, extensão, localização e gravidade da doença é um primeiro passo essencial no tratamento (119).

A resposta da PA ao tratamento periodontal é pouco compreendida, devido à baixa prevalência desta doença, que torna difícil recrutar um número suficiente de pacientes para

ensaios clínicos controlados de diferentes modalidades terapêuticas (120). Inicialmente é imperativo controlar a infecção periodontal por meio de raspagem e alisamento de todos os sextantes (121). De acordo com Kornman e Robertson (122), tanto a limpeza mecânica quanto o tratamento com antibióticos sistêmicos são necessários para controlar os níveis de *Aa* nesta doença. A falha da terapia mecânica isoladamente pode estar relacionada com a habilidade do organismo em invadir tecidos do hospedeiro (51).

O sucesso no tratamento da PA depende de diagnóstico precoce e tratamento direccionado para a eliminação da infecção por microrganismos patogénicos. O tratamento periodontal básico (fase higiénica) tem como objectivo reduzir a carga microbiana e consiste na instrução de higiene oral; destartarização; raspagem e alisamento radicular (RAR); terapêutica medicamentosa (antibióticos) locais e/ou sistêmicos; e extracções de dentes com perda de suporte irrecuperável (123, 20, 124, 31).

A associação de antibióticos sistêmicos no tratamento de indivíduos com doença periodontal agressiva tem como objectivo potencializar os efeitos da RAR (125, 126). Os antibióticos mais utilizados são as tetraciclina às vezes prescritas sequencialmente com o metronidazol (123, 31). Além dessa combinação, outra recomendada é a associação de metronidazol com amoxicilina, especialmente quando a bactéria *Aa* já é resistente à tetraciclina (127). Outra questão importante é a altura para iniciar a medicação. De acordo com Deas e Mealey (119) a terapia antibiótica deve iniciar-se 24 horas antes da realização da RAR e o alisamento radicular deve ser realizado durante o curto período de tempo em que o antibiótico é prescrito.

Uma segunda fase da terapia pode ser necessária através de tratamento cirúrgico (fase correctiva) tendo como objectivo eliminar as bolsas periodontais e corrigir os defeitos periodontais. Esta fase consiste em cirurgia periodontal ressectiva (bolsas supraósseas); cirurgia muco-gengival; e cirurgia periodontal regenerativa (bolsas infraósseas de 2 e 3 paredes), amputação ou hemiseção radicular em envolvimento de furca (123, 128, 31).

Apesar do risco aumentado para recorrências, existe evidência que a perda de inserção pode ser estabilizada após o tratamento, em pacientes com PA. Lindhe e Liljenberg (129), Buchmann *et al.* (130) e Zucchelli *et al.* (131) obtiveram sucesso no tratamento de pacientes com PA. Os autores atribuíram este sucesso, em parte, à manutenção rígida do programa das sessões mensais de limpeza profissional e reforço da higiene oral. Em última análise, o sucesso clínico no tratamento de pacientes com PA pode estar mais dependente da colaboração do paciente e do programa de manutenção. Parece essencial estender

lentamente o intervalo de manutenção nestes pacientes, com um acompanhamento muito atento de profundidades de sondagem, factores de risco e sinais de inflamação. Em geral, recomenda-se manutenção mensal durante os primeiros 6 meses após a conclusão do tratamento activo, em seguida, bimestralmente por mais 6 meses. Se o paciente está estável durante este primeiro ano, os intervalos de manutenção podem estender-se a 3 meses (119).

1.7. Objectivos

O presente trabalho tem como objectivo principal a realização de uma revisão sistematizada da literatura sobre a(s) principal(ais) bactéria(s) periodontal(ais) patogénica(s) envolvida(s) na PA e o seu mecanismo de acção. Este estudo pretende ser relevante para um melhor entendimento desse processo patológico e, posterior elaboração de terapias específicas com maiores probabilidades de sucesso, que sendo fundamentadas nos factores etiológicos da infecção, podem trazer melhores resultados clínicos e microbiológicos a longo prazo.

Na prossecução da concretização do objectivo geral apresentado, são enunciados de seguida, um conjunto de objectivos de carácter mais específico. Nesse sentido, durante esta revisão pretende-se responder às seguintes questões:

- a) Qual a bactéria central?
- b) Existem outras bactérias responsáveis pela progressão da doença?
- c) Como actuam essas bactérias na evolução da doença até chegar à destruição dos tecidos?

Partindo destas questões, justificadas pelas imensas incertezas quanto à etiologia e patogenia da PA, encetou-se o processo de investigação cujos aspectos metodológicos se passa a apresentar.

II – MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Critérios de Selecção dos Estudos

A selecção e organização dos estudos para inclusão na revisão sistematizada teve como base os critérios para classificação de PA de acordo com as recomendações do Consenso Internacional da AAP 1999 (1).

2.1.1. Critérios de Inclusão

A selecção dos estudos teve como critérios de inclusão:

- Estudos humanos;
- Pacientes com Periodontite Agressiva;
- O nível de evidência científica: meta-análises (*Meta-Analysis* – MA), revisões sistemáticas (*Systematic Reviews* – SR) e estudos clínicos controlados e aleatórios (*Randomized Controlled Trials* – RCTs);
- Disponibilidade de dados microbiológicos;
- Disponibilidade integral do texto;
- Estudos publicados em língua inglesa e portuguesa, entre Janeiro de 1999 e Maio de 2012.

2.1.2. Critérios de Exclusão

A selecção dos estudos teve como critérios de exclusão:

- Estudos animais;
- Pacientes sem Periodontite Agressiva;
- Dados microbiológicos sobre Periodontite Agressiva não disponíveis;
- História de doença sistémica que comprometa a resposta do hospedeiro ou exija medicação profilática ao tratamento.

2.2. Pesquisa de Estudos

2.2.1. Bases de Dados Bibliográficas

Para esta revisão foi efectuada uma pesquisa da literatura nas seguintes bases de dados bibliográficas, primárias, mistas e secundárias:

- **PubMed/MEDLINE** (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>). Foi activado o limite temporal definido nos critérios de inclusão bem como os limites “Free Full text”, “Humans”, “MA”, “SR”, “RCT”, “English” e “Portuguese”.

As palavras-chave pesquisadas no campo “All fields” foram: “Aggressive Periodontitis”, “Etiology”, “Microbiology”, “Bacteria”. Foram utilizados os conectores booleanos AND e OR de forma a conjugar (Aggressive Periodontitis) AND (Etiology OR Microbiology OR Bacteria).

Desta pesquisa resultaram 3 artigos.

- **EBSCOhost** (<http://search.ebscohost.com>). As palavras-chave pesquisadas no campo “Search all text” foram: “Aggressive Periodontitis”, “Etiology”, “Microbiology”, “Bacteria”, “MA”, “SR”, “RCT”.

Desta pesquisa resultaram 28 artigos.

- **Cochrane Central** (<http://www.thecochranelibrary.com/view/0/CENTRALHelp.html>). As palavras-chave pesquisadas no campo “Search all fields” foram: “Aggressive Periodontitis”, “Etiology”, “Microbiology”, “Bacteria”, “MA”, “SR”, “RCT”.

Desta pesquisa resultaram 0 artigos.

Após uma pesquisa inicial tendo por alvo os artigos com nível de evidência elevado, MA, SR e RCTs, obtivemos nas três bases de dados 31 artigos. Decidimos baixar o nível de evidência e efectuar uma segunda pesquisa nas mesmas bases de dados, seguindo os seguintes parâmetros:

- **PubMed/MEDLINE**. Foi activado o limite temporal definido nos critérios de inclusão bem como os limites “Free Full text”, “Humans”, “English” e “Portuguese”.

As palavras-chave pesquisadas no campo “All fields” foram: “Aggressive Periodontitis”, “Etiology”, “Microbiology”, “Bacteria”. Foram utilizados os conectores

booleanos AND e OR de forma a conjugar (Aggressive Periodontitis) AND (Etiology OR Microbiology OR Bacteria).

Desta pesquisa resultaram 105 artigos.

EBSCOhost. As palavras-chave pesquisadas no campo “Search all text” foram: “Aggressive Periodontitis”, “Etiology”, “Microbiology”, “Bacteria”.

Desta pesquisa resultaram 134 artigos.

Cochrane Central. As palavras-chave pesquisadas no campo “Search all fields” foram: “Aggressive Periodontitis”, “Etiology”, “Microbiology”, “Bacteria”.

Desta pesquisa resultaram 11 artigos.

2.2.2. Pesquisa em Revistas Científicas

Foi realizada uma pesquisa em revistas científicas de referência, nomeadamente: *Journal of Dental Research*, *Journal of Clinical Periodontology* e *Journal of Periodontology*, publicadas entre Janeiro de 1999 e Maio de 2012. Desta pesquisa resultaram 6 artigos.

2.3. Selecção de Estudos

A pesquisa inicial, de evidência científica elevada, efectuada nas três bases de dados identificou um total de 31 artigos. A pesquisa seguinte de evidência mais baixa identificou um total de 250 artigos. Assim, foi encontrado um total de 281 artigos através da pesquisa realizada em bases de dados bibliográficas.

Da pesquisa realizada em revistas da especialidade resultou um total de 6 artigos.

A totalidade de artigos encontrados foi de 287.

Procedeu-se a uma triagem primária de todos os artigos encontrados através da avaliação de títulos e resumos. Nesta etapa, foram excluídos 257 estudos (Anexo G), devido ao facto de não apresentarem dados microbiológicos e a informação não se enquadrar no âmbito da etiologia e patogenia da PA.

Restaram 30 artigos com potencial para inclusão. Seguiu-se uma avaliação detalhada destes artigos de possível relevância, os quais foram lidos integralmente e o seu conteúdo analisado de acordo com a aplicação dos critérios de inclusão previamente estabelecidos.

Foram excluídos 16 artigos (Anexo G), devido à falta de dados microbiológicos específicos relativamente a bactérias, falta de análise de espécies da microbiota

subgengival relativas à PA e por não cumprirem com a totalidade dos critérios de inclusão previamente estabelecidos.

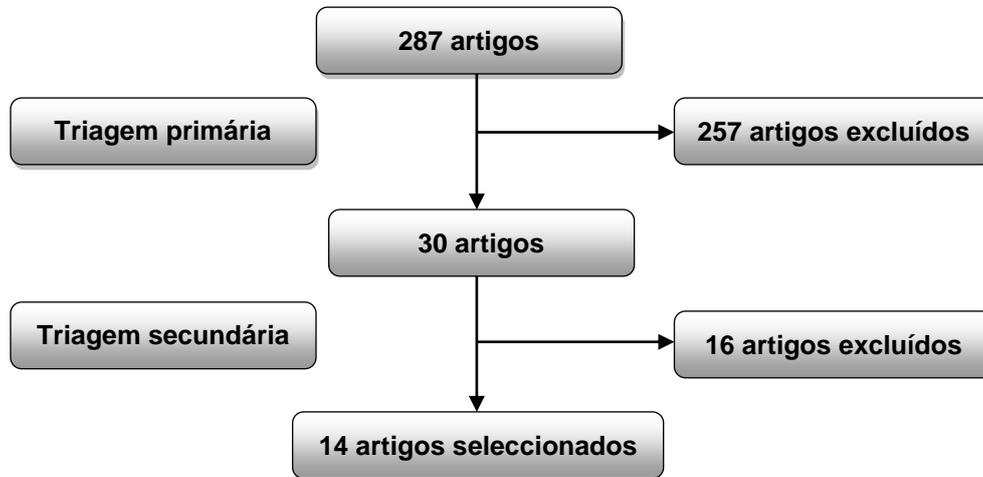


Figura 4. Esquema representativo da triagem e selecção dos artigos para inclusão nesta revisão.

2.4. Apresentação de Dois Casos Clínicos

Participaram nestes casos clínicos dois pacientes, encaminhados para atendimento na Clínica do Departamento de Medicina Dentária da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra. Ambos foram seguidos na consulta de Periodontologia e foi-lhes diagnosticada PAG. Antes de realizar qualquer tipo de tratamento foram realizadas colheitas microbiológicas de modo a ter em conta a composição da microbiota subgengival e considerar a melhor abordagem de antibioterapia para cada indivíduo.

Caracterização dos pacientes:

Paciente A	Paciente B
Nome: M. M.	Nome: I. B.
Data de nascimento: 17/07/1981	Data de nascimento: 27/12/86
Género: Feminino	Género: Masculino
Raça: Caucasiana	Raça: Negra
Anamnese: Saudável	Anamnese: Saudável
Antecedentes Familiares: Mãe	Antecedentes Familiares: não tem
Hábitos tabágicos: Não	antecedentes relatados
	Hábitos tabágicos: Não

Após a remoção da placa bacteriana supragengival foi efectuada a colheita de amostras de biofilme subgengival para identificar o tipo de bactérias de acordo com um processo *standard* (Meridol® Perio Diagnosis, GABA International AG, Switzerland). A forma

de colheita foi igual em ambos os casos tendo sido a seguinte: (i) foram seleccionadas as duas bolsas mais profundas de cada paciente; (ii) a zona envolvente da bolsa a sondar foi limpa com *pellet* de algodão e o dente em causa foi isolado com rolos de algodão para minimizar a contaminação por saliva; (iii) um cone de papel esterilizado nº 30 (PD, Produits Dentaires SA, Vevey, Switzerland) foi colocado a nível subgingival, em cada bolsa, durante 20 segundos; (iv) o cone de papel foi retirado e colocado numa manga esterilizada; e (v) a manga com os cones de papel foi armazenada a -20°C.

As amostras foram posteriormente enviadas para o Laboratório de Investigação de Biologia Molecular da Faculdade de Odontologia da Universidade Complutense de Madrid, para se proceder à sua análise microbiológica. Os resultados da colheita constam no Anexo E: Tabela IX.

Imagens do paciente A



Figura 5. Foto frontal.



Figura 6. Foto lateral do 1º e 4º quadrante.



Figura 7. Foto lateral do 2º e 3º quadrante.

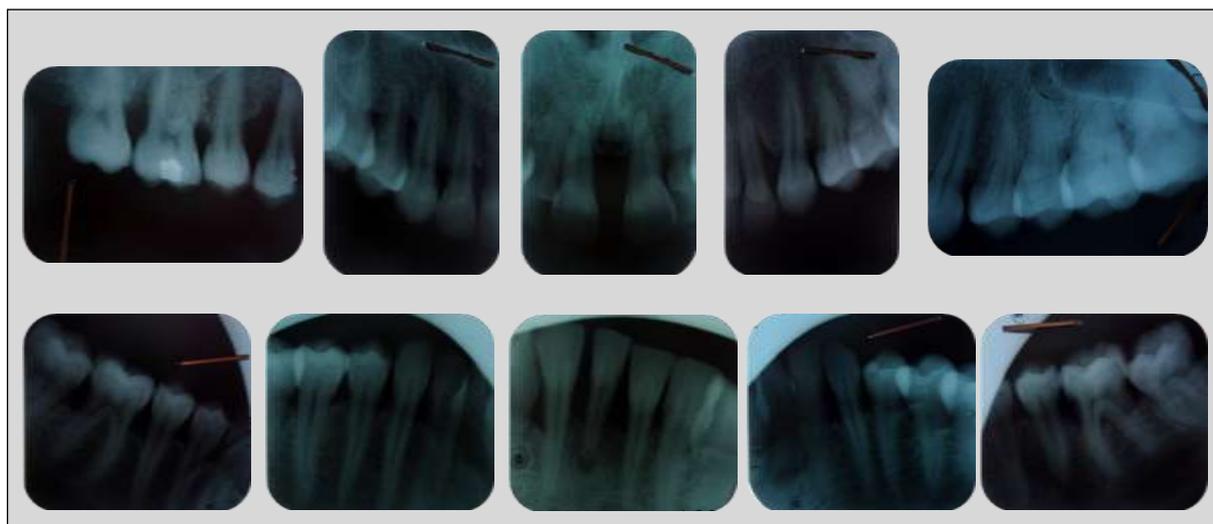


Figura 8. Status radiográfico.



Figura 9. 1º e 4º quadrante; 2º e 3º quadrante.

Imagens do paciente B



Figura 10. Foto frontal.



Figura 11. Foto lateral do 1º e 4º quadrante.



Figura 12. Foto lateral do 2º e 3º quadrante.



Figura 13. Status radiográfico.



Figura 14. 1º e 4º quadrante; 2º e 3º quadrante.

III – RESULTADOS

3.1. Resultados da Pesquisa

De acordo com a aplicação dos critérios de inclusão previamente definidos, um total de 14 artigos foram considerados elegíveis para esta revisão sistematizada, nomeadamente: Darby *et al.* (132), Lee *et al.* (133), Takeuchi *et al.* (134), Kamma *et al.* (135), Saygun *et al.* (136), Lafaurie *et al.* (137), Schacher *et al.* (138), Thiha *et al.* (139), Reichert *et al.* (140), Riep *et al.* (141), Chen *et al.* (142), Forni *et al.* (143), Ximenez-Fyvie *et al.* (144), Nibali *et al.* (8).

3.1.1. Apresentação dos Resultados

Anexo E: Tabelas (I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII)

PAL vs. Bactérias

A PAL foi avaliada em três estudos apresentando os pacientes uma idade média de 27.1 anos. Os estudos foram uniformes relativamente ao método de detecção de bactérias (PCR) bem como em relação ao grupo étnico/racial estudado (pacientes asiáticos).

As bactérias mais presentes na PAL foram *Pg* e *Tf*, as quais foram detectadas em 68.6% e 54.3% dos sujeitos surgindo em três estudos como bactérias predominantes. *Treponema* spp. foi a terceira espécie encontrada mais frequentemente, presente em 48.6% dos sujeitos e aparecendo em dois estudos como bactéria predominante. A quarta bactéria mais detectada foi *Fusobacterium* spp. (40.0%), a qual aparece num estudo como bactéria predominante. *Aa* (37.1%) surge em quinto lugar como a bactéria mais presente aparecendo em três estudos como bactéria predominante. A sexta bactéria mais detectada foi *Campylobacter* spp. (28.6%) surgindo num estudo como bactéria predominante. *P. micra* (20.0%) surge em sétimo lugar como a bactéria mais presente aparecendo também apenas num estudo. Por último, surge *Pi* (17.1%) como bactéria mais presente aparecendo em dois estudos como bactéria predominante.

PAG vs. Bactérias

A PAG foi avaliada em nove estudos apresentando os pacientes uma idade média de 34.1 anos. Os estudos foram homogéneos relativamente aos métodos de detecção de bactérias (PCR e/ou *Checkerboard DNA-DNA Hybridization*).

A bactéria mais detectada nesta forma de PA foi *Pg* (68.0%) aparecendo em nove estudos como bactéria predominante. *Tf* foi a segunda espécie encontrada mais frequentemente, presente em 64.8% dos sujeitos e surgindo em oito estudos como bactéria predominante. *Treponema* spp. (43.2%) foi a terceira bactéria mais detectada, aparecendo em seis estudos como bactéria predominante. Em quarto lugar, surge *Pi* sendo detectada em 42.9% dos pacientes e aparecendo em sete estudos como bactéria predominante. *Aa* foi a quinta espécie mais frequentemente encontrada, presente em 38.8% dos sujeitos e aparecendo em nove estudos como bactéria predominante. *Campylobacter* spp. (18.0%) foi a sexta bactéria mais presente aparecendo em três estudos como bactéria predominante. *Fusobacterium* spp. foi a sétima espécie mais frequente, presente em 13.9% dos pacientes e surgindo em três estudos como bactéria predominante.

As bactérias menos comuns nos pacientes com PAG foram *P. micra* (8.3%), seguida de *Streptococcus* spp. (5.9%), de *Ec* (5.6%), de *Actinomyces* spp., *Capnocytophaga* spp. e *Eubacterium* spp. (5.3%) e, por fim, de *P. melaninogenicus* (5.0%).

Os estudos onde as bactérias *Pg* e *Aa* estão presentes têm como universo de sujeitos pacientes caucasianos, negros, hispânicos, asiáticos e “outra/mista” (não especificada), sendo que dois dos estudos não fazem referência à raça/etnia. Os estudos nos quais surgem *Tf*, *Treponema* e *Pi* têm como universo de sujeitos pacientes caucasianos, hispânicos e asiáticos, sendo que para *Tf* e *Pi* dois dos estudos não fazem referência à raça/etnia, enquanto que para *Treponema* spp. apenas um dos estudos não faz essa referência. Nos estudos onde *Campylobacter* spp. e *Fusobacterium* spp. foram mais detectadas os pacientes pertencem à raça/etnia caucasiana, hispânica e asiática.

3.2. Resultados Microbiológicos dos Pacientes Incluídos nos Casos Clínicos

No paciente A, a bactéria mais prevalente foi *Fn* ($2,51 \times 10^7$ UFC/mL), seguida de *Tf* ($9,63 \times 10^6$ UFC/mL), *Cr* ($8,53 \times 10^4$ UFC/mL), de *Aa* ($3,24 \times 10^4$ UFC/mL) e de *Pg* ($2,24 \times 10^4$ UFC/mL). No paciente B, *Fn* foi, igualmente, a bactéria mais prevalente ($2,46 \times 10^7$ UFC/mL), seguida de *Aa* (3×10^6 UFC/mL), *Tf* ($5,01 \times 10^5$ UFC/mL), *Pg* ($3,98 \times 10^4$ UFC/mL) e, por fim, de *Cr* ($1,1 \times 10^4$ UFC/mL) (Anexo E: Tabela IX).

IV - DISCUSSÃO

A definição do perfil microbiológico das diferentes patologias periodontais é um passo importante para a delimitação de tratamentos mais específicos.

Dentro das 500 espécies de bactérias diferentes presentes na placa bacteriana, apenas um número restrito de bactérias, agrupadas em complexos, são consideradas patogénios periodontais (145).

Existe um forte consenso na literatura quanto ao envolvimento de *Aa* na etiopatogenia da PA (32, 35, 146, 30). Porém, poucos estudos avaliaram de forma mais complexa a composição da microbiota subgingival de indivíduos com PA (100, 147). O advento de novas técnicas de biologia molecular e o avanço na identificação de novas espécies de microrganismos tem demonstrado que alguns indivíduos portadores de doença periodontal agressiva não apresentam ou apresentam baixas proporções de *Aa* (40, 42, 148). Esses dados sugerem que outras espécies bacterianas poderiam estar relacionadas com distintas fases da PA, nomeadamente com o seu início e progressão.

Estudos realizados em diferentes latitudes relataram que *Aa* é o mais frequente na PA, especialmente na Roménia (149), Turquia (150), Tailândia (151), Coreia (152) e Holanda (153). Resultados semelhantes foram encontrados na América do Norte, embora com menor frequência (154). Na Grécia (40), pelo contrário, observou-se que *Pg* era a bactéria mais frequentemente isolada de pacientes com PA e *Aa* mostrou uma prevalência relativamente baixa. No presente estudo o resultado foi semelhante, encontrando-se maior frequência de *Pg* do que *Aa* o que também é consistente com o relatado na China (82), Japão (155), Quênia (156) e Reino Unido (42). Na América do Sul, mais concretamente Cortelli *et al.* (157) no Brasil e Gajardo *et al.* (38) e López *et al.* (41) no Chile relataram que *Pg* era o microrganismo mais frequente na PA.

De acordo com estudos anteriores (158, 78, 159, 160), *Aa* é o patogénio mais importante na etiologia da PAL. No entanto, nesta revisão, este não foi o único patogénio periodontal mais presente nas lesões de PAL. *Pg*, *Tf*, *Td* e *Fusobacterium* spp. estavam também elevados nestes sujeitos. De facto, o *Aa* esteve menos presente nos sujeitos com PAL do que estes patogénios. As baixas proporções de *Aa* nos sujeitos com PAL já haviam sido descritas anteriormente (45, 161, 38). No entanto, tem sido sugerido que o limiar de *Aa* para o início ou progressão da doença periodontal pode ser mais baixo do que o necessário para espécies como *Pg* (162). Esta descoberta pode ser explicada pelo facto de *Aa* apresentar uma alta patogenicidade e, portanto, mesmo baixos níveis dessa espécie,

especialmente no biofilme oral não maduro de indivíduos jovens, pode desencadear destruição periodontal (163, 164). Hamlet *et al.* (165) sugeriram que provavelmente *Aa* seria um dos principais responsáveis pelo início da PA e posteriormente o aumento da profundidade da bolsa e a diminuição da taxa de oxigénio no ambiente subgingival permitiriam que outras espécies se desenvolvessem.

Poderia também especular-se que, devido ao facto de *Aa* não poder ser particularmente resistente à competição bacteriana (166), a presença de uma microbiota mais complexa poder levar a uma redução da sua quantidade e proporções, com o aumento da profundidade da bolsa. Estas constatações podem explicar porque, na nossa revisão, o *Aa* não foi o microrganismo mais prevalente.

Na presente revisão a *Pg* e *Tf* foram as espécies bacterianas mais prevalentes. Estes resultados estão de acordo com os resultados obtidos em populações da América do Norte, Japão, Brasil e Chile onde estes dois patogénios foram os mais prevalentes em indivíduos com PA (167, 168, 41, 169). Relativamente à PAG, no presente estudo, verificou-se que a diferença percentual entre estas duas bactérias mais presentes é baixa (3,2%), apresentando ambas uma prevalência com valores muito aproximados. A constatação deste facto pode-nos levar a questionar se haverá realmente uma bactéria mais prevalente, ou se andarão, neste tipo específico de PA, as duas bactérias associadas.

Neste estudo, *Pi* foi mais frequentemente detectada na forma generalizada do que na localizada. Uma associação diferencial desta bactéria entre a PA localizada e generalizada tem sido relatada noutros estudos (100, 42), sendo mais prevalente na PAG do que na PAL, podendo esta diferença estar relacionada com a progressão das formas mais graves e progressivas de PA.

Espécies de *Treponema* foram muito prevalentes, tanto na PAL como na PAG. Recentemente, espécies específicas de espiroquetas, como *Td*, têm sido relacionadas com a destruição periodontal usando técnicas moleculares (100).

Espécies de *Fusobacterium* foram também encontradas com alta frequência na PAL, concordando com estudos já realizados, que detectaram uma alta prevalência de *Fn* em pacientes jovens com PA (170, 100).

Streptococcus spp. e *V. parvula* também estiveram presentes. Estas espécies são reconhecidas como sendo bactérias protectoras ou benéficas ao hospedeiro, por inibirem o crescimento de bactérias periodontopatogénicas como o *Aa* (27). Nesta revisão, na forma não especificada de PA, há estudos com elevados valores de *Streptococcus* spp. e *V. parvula* bem como *Aa*. Na PAG, no estudo com maior percentagem de *Streptococcus* spp. (144), os valores de *Aa* são também elevados. A presença de *Streptococcus* spp. e *V.*

parvula não inibiram o crescimento de *Aa*, deste modo o resultado desta revisão não corrobora o descrito anteriormente e não encontramos explicação para tal.

É importante enfatizar a baixa frequência de espécies *Actinomyces*, as quais estiveram ausentes na PAL e foram pouco detectadas na PAG, e na forma não especificada de PA no entanto, sempre que detectadas o seu valor era elevado. Estas espécies estiveram presentes apenas em dois estudos, nomeadamente Kamma *et al.* (135) e Ximenez-Fyvie *et al.* (144). Esta informação pode explicar o menor grau de acumulação de placa bacteriana observada na PA, pois os *Actinomyces* têm um papel importante na formação de placa bacteriana. Para além disso, estas espécies bacterianas têm sido muito associadas aos sujeitos periodontalmente saudáveis (171, 27) e os seus níveis aumentados podem ser necessários para obtenção de resultados terapêuticos eficazes.

Muitos estudos microbiológicos envolvendo indivíduos com PA têm avaliado um reduzido número de espécies bacterianas (146, 30, 157). No entanto, o biofilme subgengival é composto por diversas espécies de microrganismos altamente relacionadas entre si (27). Assim sendo, é de suma importância que o biofilme subgengival dos indivíduos com PA seja estudado de uma forma mais complexa. A maioria dos estudos incluídos nesta revisão avaliou um reduzido número de bactérias, envolvendo principalmente os patogénios orais classicamente suspeitos e centrou-se nas espécies bacterianas individuais.

Na PAL, as três espécies mais prevalentes, *Pg*, *Tf* e *Treponema* spp., foram detectadas num pequeno número de estudos, sobretudo *Treponema* spp., a qual foi detectada apenas em dois estudos como a mais presente. Os dados relativamente a estas bactérias devem ser considerados com precaução, uma vez que derivam de amostras relativamente reduzidas para além disso, o reduzido número de estudos na PAL condiciona bastante a obtenção de conclusões. Na PAG, as três bactérias mais prevalentes, *Pg*, *Tf* e *Treponema* spp., foram detectadas entre seis e nove estudos. Os dados relativamente a estas bactérias são mais robustos uma vez que derivam de uma amostra maior de estudos.

Verificou-se que esta revisão apresenta uma considerável disparidade de resultados entre estudos. Esta pode estar relacionada com a aplicação de diferentes métodos de detecção, com distintos intervalos de idade dos pacientes e com a variabilidade étnica. De acordo com os vários estudos verificamos que a metodologia para a detecção de bactérias foi heterogénea. O método de cultura, considerado o “padrão ouro”, permite a detecção simultânea de microrganismos cultiváveis presentes na amostra e a realização de testes de sensibilidade antibiótica (154, 172). Este método tem a vantagem de ser capaz de quantitativamente detectar uma grande variedade de espécies. A caracterização de todos os isolados pode permitir a identificação de espécies inesperadas ou novas espécies. Apesar

de se apresentar como importante método diagnóstico, a cultura possui várias limitações, como a necessidade de preservar a viabilidade bacteriana, dificuldade de recuperar espécies cultiváveis quando estas são encontradas em número reduzido, incapacidade de detectar microrganismos em baixas proporções, condições rigorosas de transporte das amostras e a necessidade de preparação de meios específicos para cada espécie (172). Além destas limitações, espécies importantes relacionadas com a periodontite, como por exemplo, *Tf* e *Td*, exigem condições rigorosas para o seu crescimento e são difíceis de serem detectadas e quantificadas através de métodos convencionais de cultura bacteriana (173).

A técnica PCR é um método sensível na detecção de sequências bacterianas de ácido desoxirribonucleico (*Deoxyribonucleic Acid* – DNA). A sua sensibilidade permite a detecção de patogénios periodontais em amostras de placa subgingival abaixo do nível normal de detecção, comparativamente ao método de cultura (167, 174). Por outro lado, a técnica *Checkerboard DNA-DNA Hybridization* é um método de diagnóstico que oferece vantagens em relação aos métodos tradicionais de cultura microbiana, incluindo a detecção de microrganismos de desenvolvimento lento, nutricionalmente exigentes ou fastidiosos, além da detecção da microbiota não cultivável. É também um método mais rápido que o PCR, pois utiliza várias sondas de DNA de uma única vez (175). No entanto, o emprego das técnicas moleculares apresentam limitações, uma vez que qualquer molécula de DNA alvo, tanto de células viáveis quanto de células mortas presentes numa determinada amostra, pode ser amplificada podendo enviesar os resultados e apenas detectam bactérias para as quais haja *primers* específicos.

Nesta revisão o método PCR detectou um menor número de espécies. No entanto, a bactéria *Td* foi detectada apenas por técnicas moleculares, PCR e *Checkerboard DNA-DNA Hybridization*. Isto pode ser uma consequência do facto de *Td* ser difícil de cultivar e das técnicas de biologia molecular detectarem tanto células viáveis como não viáveis. A *Pg* foi detectada com menor frequência através do método de cultura. Estes resultados estão de acordo com o estudo de Riggio *et al.* (174), que detectou a *Pg* com menor prevalência usando métodos de cultura convencionais, mas relatou uma prevalência de recuperação superior usando o método PCR. A *Tf*, também apresentou diferenças consideráveis ao comparar as duas técnicas observando-se que a frequência de detecção era maior com técnicas moleculares porque é um organismo “fastidioso” de cultivar. A combinação da técnica de cultura com uma abordagem molecular poderá fornecer uma avaliação mais completa da diversidade bacteriana presente nas amostras de placa subgingival.

Da mesma forma, o intervalo de idades pode influenciar a detecção de determinados patogénios visto que idades superiores podem estar relacionadas com a variante

generalizada, a qual possui patogénios activos com carácter mais complexo, envolvendo microrganismos associados também com a PC. De acordo com a nova classificação de PA (1, 12), a idade já não é considerada como sendo um critério major de classificação, no entanto é sugerido que a PAG geralmente afecta indivíduos abaixo dos 30 anos de idade (7). Na presente revisão, a idade média verificada num estudo foi de 40.9 anos podendo ter falhado o diagnóstico diferencial entre a PC e a PA.

Por outro lado, nesta revisão os estudos relacionados, tanto com a PAL como com a PAG, apresentam um intervalo muito considerável entre as idades dos pacientes incluídos nos estudos. Para que os resultados fossem comparáveis os autores deveriam ter trabalhado com populações de idade semelhante pois a colonização pode variar com a idade e com a fase da PA: no início ou já em franca progressão.

As diferenças nos resultados dos vários estudos também podem ser atribuídas à variabilidade étnica. De acordo com Sanz *et al.* (176), a prevalência e o nível de colonização dos patogénios varia consideravelmente entre populações de origens geográficas e raciais distintas.

Neste estudo, verificamos que no grupo PA (forma não especificada) a maioria dos pacientes eram hispânicos, na PAL verificou-se homogeneidade no grupo étnico/racial sendo constituído apenas por pacientes asiáticos e na PAG a maioria dos pacientes eram caucasianos. Deste modo, podemos afirmar que, nesta revisão, *Pg*, *Tf*, *Treponema* spp. e *Fusobacterium* spp. foram as bactérias periodontopatogénicas predominantes nos pacientes asiáticos com PAL. Apesar de *Aa* ter sido também detectado nestes pacientes, a prevalência desta bactéria foi muito menor do que *Pg*.

Adicionalmente, muitos outros factores podem influenciar a prevalência das bactérias associadas à PA. É conhecido, que a selecção do local de colheita microbiológica ou o número de amostras recolhidas de um sujeito (177) e outros factores ambientais como fumar (42) influenciam a probabilidade de detectar o organismo em questão. A integridade da colheita microbiológica também deve ser mantida até ser analisada. As condições de recolha, transporte e armazenamento da colheita de material para exame são essenciais para o diagnóstico, uma vez que o número de anaeróbios isolados, assim como o seu significado clínico, estão estreitamente relacionados com estes procedimentos. Tendo em conta os artigos incluídos nesta revisão verificam-se algumas discrepâncias no modo como as colheitas foram guardadas, o que pode influenciar os resultados, pois distintos meios de armazenamento podem levar a alterações nos resultados.

Na presente revisão sistematizada incluiu-se dois casos clínicos. Foram determinadas as bactérias periodontais presentes em amostras de biofilme subgingival de dois pacientes de raça distinta diagnosticados com PAG, no sentido de se otimizar a terapia periodontal.

As amostras bacterianas foram recolhidas de duas bolsas periodontais mais profundas de cada paciente, tal como sublinhado por Savitt *et al.* (178). Foi usado o método PCR em tempo real para a identificação das bactérias, pois este oferece grande sensibilidade e especificidade e é eficaz na detecção de pequenos números de bactérias numa flora mista.

Fn encontra-se em proporção similar nos dois pacientes. O paciente B apresenta níveis mais elevados de *Aa* e *Pg* em relação ao paciente A, sendo que este apresenta níveis mais elevados de *Tf* e *Cr*. Como referido anteriormente, a prevalência de microrganismos varia com a raça (176). Haubek *et al.* (179), no seu estudo mostra o tropismo do *Aa* para a raça negra e seus descendentes o que se confirma nestes casos clínicos apresentando o paciente de raça negra um nível mais elevado de *Aa* comparativamente ao paciente de raça caucasiana.

Relativamente aos casos clínicos apresentados, a detecção de *Aa* foi mais baixa nos dois pacientes comparativamente a outros patogénios, o que está de acordo com os resultados obtidos nesta revisão e com outros estudos que analisaram amostras de pacientes com PA (40, 157). Por outro lado, *Fn* foi a bactéria mais detectada em ambos os pacientes o que não é consistente com os resultados encontrados nesta revisão sistematizada, na qual a *Fusobacterium* spp. foi a sétima bactéria mais detectada na PAG. Isso pode levantar a seguinte questão: haverá diferenças na microbiologia, entre pacientes com PAG, condicionadas pela localização geográfica? Outra explicação para isto poderá ser por, hipoteticamente, a PAG dos pacientes incluídos na revisão sistematizada estar numa fase distinta de evolução daquela apresentada nos casos clínicos.

Os resultados obtidos nesta revisão mostram que as espécies bacterianas detectadas com maior frequência foram *Pg*, *Tf*, *Aa*, *Pi*, *Treponema* spp., *Campylobacter* spp. e *Fusobacterium* spp. Estes dados microbiológicos demonstram que as espécies do complexo vermelho e laranja, e *Aa* foram os patogénios mais numerosos e prevalentes, tanto na PAL como na PAG, os quais estão de acordo com estudos microbiológicos anteriores (180, 42, 43).

Tendo em conta que a PA é uma doença multifactorial a exclusiva presença de determinados microrganismos não é suficiente para o seu desenvolvimento. Factores de risco e ambientais somados à resposta do hospedeiro estão directamente ligados à susceptibilidade individual e ao desenvolvimento da doença (181).

Com base nos resultados desta revisão sistematizada sabe-se que são necessárias bactérias para promover a doença, mas os factores que influenciam o seu desenvolvimento ainda não estão bem esclarecidos. Do mesmo modo, ainda não está esclarecida a forma como, eventualmente, determinadas bactérias interagem na progressão da PA. Falhas na resposta imunológica do paciente, genes para a doença, microrganismos mais virulentos e meio ambiente propício parecem ser factores coadjuvantes no desencadeamento da doença.

Limitações do Estudo

Em relação às limitações desta revisão pode-se citar o número reduzido de estudos incluídos (3/9; PAL/PAG). O facto de vários estudos usarem um número pequeno de pacientes, devido à especificidade da doença, o aumento deste número poderia aumentar as potencialidades da revisão.

Outro ponto que deve ser focado é o facto de não se terem considerado estudos que diferenciavam estirpes virulentas de não virulentas. Talvez o mais importante exemplo desta limitação seja o caso de *Aa*. Embora o *Aa* seja considerado um patogénio na PA, sabe-se que estirpes altamente leucotóxicas estão associadas com as formas mais agressivas da doença (159).

Verificou-se pouca transparência na definição do tipo de PA em cinco estudos incluídos nesta revisão, os quais não distinguem as formas localizadas e generalizadas, pelo que os dados não podem ser comparados, contribuindo apenas para a quantificação total de bactérias.

Por outro lado, um dos estudos não faz referência ao género; outros dois não indicam o desvio padrão; nas tabelas II e IV, quatro estudos não mencionam a origem étnica dos pacientes; e oito estudos não mencionam o intervalo de idades. Esta incompleta referência, por parte de alguns estudos, a características dos pacientes incluídos nos mesmos, torna-os de mais difícil interpretação e impossibilita a obtenção de conclusões robustas.

Desde que a nova classificação foi introduzida em 1999, o termo PA (localizada ou generalizada) foi usado em doze artigos. Em dois artigos os autores apenas afirmaram que os pacientes possuíam “Periodontite de Início Precoce” e “Periodontite de Início Precoce Generalizada”. A agregação familiar desta doença, de acordo com a nova classificação, é uma característica fundamental para a PA. No entanto, na maioria dos artigos incluídos na nossa revisão não foi sistematicamente determinada. Apenas dois estudos analisaram o facto de polimorfismos genéticos poderem favorecer a colonização por bactérias periodontopatogénicas específicas.

V - CONCLUSÕES

Com base na análise desta revisão sistematizada e de acordo com os objectivos delineados podemos enunciar de modo sucinto as seguintes conclusões:

- 1) *Pg* é a bactéria periodontal patogénica predominante da PA.
- 2) A doença periodontal agressiva é de natureza polimicrobiana. Outras bactérias estão envolvidas na sua etiologia e patogenia.
- 3) *Aa* apresenta-se como uma bactéria bastante característica na PA devido à sua patogenicidade. Esse microrganismo é capaz de produzir uma série de factores de virulência que facilitam a sua colonização, invasão e destruição dos tecidos periodontais sendo considerado como um microrganismo-chave na etiologia da doença periodontal agressiva.
- 4) A PA é causada por bactérias Gram-negativas presentes nos biofilmes dentários. Lipopolissacarídeos e outras substâncias têm acesso aos tecidos gengivais, iniciam e perpetuam eventos imuno-inflamatórios resultando na produção de altos níveis de citocinas pro-inflamatórias. Essas induzem a produção de MMPs que destroem o tecido conjuntivo da gengiva e do ligamento periodontal, bem como prostaglandinas que medeiam a reabsorção do osso alveolar.
- 5) Nem todos os hospedeiros são iguais nas suas susceptibilidades para a doença.
- 6) Poucos estudos clínicos têm sido relatados devido à dificuldade em se obter populações suficientemente grandes.
- 7) É provável que bactérias que continuam por serem classificadas desempenhem um papel importante na iniciação e progressão da doença periodontal agressiva.

Perspectivas Futuras

Uma mais adequada identificação das estirpes bacterianas mais virulentas e dos hospedeiros mais susceptíveis. Desta maneira, pode ser possível prever precisamente os indivíduos de risco para uma doença futura e desenvolver mais eficazmente estratégias para prevenir o início e a progressão da PA.

A utilidade actual de uma análise genética, em pacientes com PA, é ainda uma realidade distante. Tal como noutras doenças e condições, enquanto o exame clínico não permitir distinguir as diferentes formas da doença com diferentes patogénios, no futuro, uma análise genética poderá tornar-se uma ferramenta adicional para o estabelecimento de um diagnóstico clínico mais específico, com possíveis implicações na intervenção terapêutica.

No que respeita à agregação familiar da PA, deve-se ter em consideração o histórico familiar quando o diagnóstico é incerto. A importância de se conhecer a genética relacionada à PA está na possibilidade de se detectar pacientes mais susceptíveis a ela e o profissional poder intervir num estágio anterior à instalação da doença ou na sua fase inicial.

Para finalizar, realçamos a necessidade de mais estudos clínicos aleatorizados, com amostras maiores, de forma a caracterizarem melhor a PA.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Doutor Mariano Sanz, expresso a minha profunda gratidão pela orientação do presente trabalho. Pela receptividade, disponibilidade, interesse e atenção dispensada. O seu exemplo enquanto profissional e investigador são para mim uma referência para toda a vida.

Ao Dr. Orlando Martins, o meu sincero reconhecimento pela co-orientação deste trabalho. Pela forma como soube transmitir os seus vastos conhecimentos. Pela sua dedicação, compreensão, apoio e disponibilidade permanente. A sua competência e profissionalismo são para mim um exemplo a ser seguido.

Aos Docentes da Área de Medicina Dentária da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, pela transmissão de saberes que me proporcionaram rumo ao crescimento profissional.

A toda a equipa do Laboratório de Investigação de Biologia Molecular da Faculdade de Odontologia da Universidade Complutense de Madrid, especialmente à Dr.^a Maria José pela valiosa ajuda na fase laboratorial do trabalho.

BIBLIOGRAFIA

1. Armitage GC. International workshop for classification. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol* 1999;4(1):1-6.
2. American Academy of Periodontology. 1999 International workshop for a classification of periodontal diseases and conditions. In: Caton JG, Armitage GC, editors. Illinois: Oak Brook, *Ann Periodontol* 1999;4(1):1-112.
3. Armitage GC. Classifying periodontal diseases - a long-standing dilemma. *Periodontol 2000* 2002;30(1):9-23.
4. American Academy of Periodontology. Proceedings of the World Workshop in Clinical Periodontics. Chicago: American Academy of Periodontology; 1989:23-27.
5. Demmer RT, Papapanou PN. Epidemiologic patterns of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontol 2000* 2010;53(1):28-44.
6. Tonetti MS, Mombelli A. Early-onset periodontitis. *Ann Periodontol* 1999;4(1):39-53.
7. Lang N, Barthold PM, Cullinan M, Jeffcoat M, Mombelli A, Murakami S, et al. Consensus Report: Aggressive Periodontitis. *Ann Periodontol* 1999;4(1):53.
8. Nibali L, D'Aiuto F, Ready D, Parkar M, Yahaya R, Donos N. No association between *A actinomycetemcomitans* or *P gingivalis* and chronic or aggressive periodontitis diagnosis. *Quintessence Int* 2012;43(3):247-254.
9. Tonetti MS, Mombelli A. Periodontite agressiva. In: Lindhe J, Lang NP, Karring T, editores. Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2010:410-438.
10. Lindhe J, Lang NP, Karring T. Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2010:410-438.
11. Waerhaug J. Subgingival plaque and loss of attachment in periodontosis as observed in autopsy material. *J Periodontol* 1976;47(11):636-42.
12. American Academy of Periodontology. Parameter on aggressive periodontitis. *J Periodontol* 2000;71(5):867-869.
13. Manson JD, Lehner T. Clinical features of juvenile periodontitis (periodontosis). *J Periodontol* 1974;45(8):636-40.
14. Carranza FA, Newman MG, Takei HH. Periodontia clínica. 9ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2004:31-501.
15. Baer PN. The case for periodontosis as a clinical entity. *J Periodontol* 1971;42(8):516-20.

16. Marazita ML, Burmeister JA, Gunsolley JC, Koertge TE, Lake K, Schenkein HA. Evidence for autosomal dominant inheritance and race-specific heterogeneity in early-onset periodontitis. *J Periodontol* 1994;65(6):623-30.
17. American Academy of Periodontology. Periodontal diseases of children and adolescents. *J Periodontol* 2003;74(11):1696-1704.
18. Page RC, Altman LC, Ebersole JL, Vandesteen GE, Dahlberg WH, Williams BL, et al. Rapidly progressive periodontitis. A distinct clinical condition. *J Periodontol* 1983;54(4):197-209.
19. Armitage GC. Comparison of the microbiological features of chronic and aggressive periodontitis. *Periodontol 2000* 2010;53(1):70-88.
20. Gustke CJ. A review of localized juvenile periodontitis (LJP): II. Clinical trials and treatment guidelines. *Gen Dent* 1998;46(6):580-587.
21. López NJ. Clinical, laboratory, and immunological studies of a family with a high prevalence of generalized prepubertal and juvenile periodontitis. *J Periodontol* 1992;63(5):457-68.
22. Page RC, Vandesteen GE, Ebersole JL, Williams BL, Dixon IL, Altman LC. Clinical and laboratory studies of a family with a high prevalence of juvenile periodontitis. *J Periodontol* 1985;56(10):602-610.
23. Matos SMA. Aplicação de matrizes enriquecidas com moduladores biológicos na regeneração de tecidos periodontais e tecidos ósseos [Tese de Doutorado]. Coimbra: Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra; 2008.
24. Feng Z, Weinberg A. Role of bacteria in health and disease of periodontal tissues. *Periodontol 2000* 2006;40(1):50-76.
25. Nishihara T, Koseki T. Microbial etiology of periodontitis. *Periodontol 2000* 2004;36(1):14-26.
26. Zee KY, Samaranayake LP, Attström R. Predominant cultivable supragingival plaque in Chinese "rapid" and "slow" plaque formers. *J Clin Periodontol* 1996;23(11):1025-31.
27. Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontol 2000* 2005;38(1):135-187.
28. Darby I, Curtis M. Microbiology of periodontal disease in children and young adults. *Periodontol 2000* 2001;26(1):33-53.
29. Doğan B, Kipalev AS, Okte E, Sultan N, Asikainen SE. Consistent intrafamilial transmission of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* despite clonal diversity. *J Periodontol* 2008;79(2): 307-15.
30. Tinoco EM, Lyngstadaas SP, Preus HR, Gjermo P. Attachment loss and serum antibody levels against autologous and reference strains of *Actinobacillus*

- actinomycetemcomitans in untreated localized juvenile periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 1997;24(12):937-944.
31. Tonetti MS, Mombelli A. Aggressive periodontitis. In: Lindhe J, Lang NP, Karring T, editors. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. 4th ed. USA: Blackwell Munksgaard; 2003:216-242.
 32. Slots J, Reynolds HS, Genco RJ. Actinobacillus actinomycetemcomitans in human periodontal disease: a cross-sectional microbiological investigation. *Infect Immun* 1980;29(3):1013-1020.
 33. Russo PA, Nowzari H, Slots J. Transmission and persistence of Actinobacillus actinomycetemcomitans in twins with advanced periodontitis. *J Calif Dent Assoc* 1998;26(4):290-4.
 34. Yang HW, Huang YF, Chan Y, Chou MY. Relationship of Actinobacillus actinomycetemcomitans serotypes to periodontal condition: prevalence and proportions in subgingival plaque. *Eur J Oral Sci* 2005;113(1):28-33.
 35. Zambon JJ. Actinobacillus actinomycetemcomitans in human periodontal disease. *J Clin Periodontol* 1985;12(1):1-20.
 36. Chung HJ, Chung CP, Son SH, Nisengard RJ. Actinobacillus actinomycetemcomitans serotypes and leukotoxicity in Korean localized juvenile periodontitis. *J Periodontol* 1989;60(9):506-11.
 37. Fine DH, Markowitz K, Furgang D, Fairlie K, Ferrandiz J, Nasri C, et al. Aggregatibacter actinomycetemcomitans and Its Relationship to Initiation of Localized Aggressive Periodontitis: Longitudinal Cohort Study of Initially Healthy Adolescents. *J Clin Microbiol* 2007;45(12):3859-3869.
 38. Gajardo M, Silva N, Gómez L, León R, Parra B, Contreras A, et al. Prevalence of periodontopathic bacteria in aggressive periodontitis patients in a Chilean population. *J Periodontol* 2005;76(2):289-94.
 39. Han N, Xiao X, Zhang L, Ri X, Zhang J, Tong Y, et al. Bacteriological study of juvenile periodontitis in China. *J Periodont Res* 1991;26(5):409-414.
 40. Kamma JJ, Contreras A, Slots J. Herpes viruses and periodontopathic bacteria in early-onset periodontitis. *J Clin Periodontol* 2001;28(9):879-85.
 41. López NJ, Mellado JC, Leighton GX. Occurrence of Actinobacillus actinomycetemcomitans, Porphyromonas gingivalis and Prevotella intermedia in juvenile periodontitis. *J Clin Periodontol* 1996;23(2):101-105.
 42. Mullally BH, Dace B, Shelburne CE, Wolff LF, Coulter WA. Prevalence of periodontal pathogens in localized and generalized forms of early-onset periodontitis. *J Periodontal Res* 2000;35(4):232-41.

43. Mombelli A, Casagni F, Madianos PN. Can presence or absence of periodontal pathogens distinguish between subjects with chronic and aggressive periodontitis? A systematic review. *J Clin Periodontol* 2002;29(Suppl. 3):10-21.
44. Faveri M, Mayer MP, Feres M, de Figueiredo LC, Dewhirst FE, Paster BJ. Microbiological diversity of generalized aggressive periodontitis by 16S rRNA clonal analysis. *Oral Microbiol Immunol* 2008;23(2):112-118.
45. Moore WE, Holdeman LV, Cato EP, Smibert RM, Burmeister JA, Palcanis KG, et al. Comparative bacteriology of juvenile periodontitis. *Infect Immun* 1985;48(2):507-519.
46. Lang N, Mombelli A, Attström R. Biofilmes e cálculos orais. In: Lindhe J, Lang NP, Karring T, editores. *Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral*. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2010:173-196.
47. Socransky SS, Haffajee AD. Infecções Periodontais. In: Lindhe J, Lang NP, Karring T, editores. *Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral*. 5ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2010:197-254.
48. Nørskov-Lauritsen N, Kilian M. Reclassification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Haemophilus aphrophilus*, *Haemophilus paraphrophilus* and *Haemophilus segnis* as *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* gen. nov., comb. nov., *Aggregatibacter aphrophilus* comb. nov. and *Aggregatibacter segnis* comb. nov., and emended description of *Aggregatibacter aphrophilus* to include V factor-dependent and V factor-independent isolates. *Int J Syst Evol Microbiol* 2006;56(Pt 9):2135-46.
49. Fine DH, Kaplan JB, Kachlany SC, Schreiner HC. How we got attached to *Actinobacillus actinomycetemcomitans*: A model for infectious diseases. *Periodontol 2000* 2006;42(1):114-157.
50. Könönen E, Asikainen S, Alaluusua S, Könönen M, Summanen P, Kanervo A, et al. Are certain oral pathogens part of normal oral flora in denture-wearing edentulous subjects? *Oral Microbiol Immunol* 1991;6(2):119-22.
51. Christersson LA, Albin B, Zambon JJ, Wikesjö UM, Genco RJ. Tissue localization of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontitis. I. Light, immunofluorescence and electron microscopic studies. *J Periodontol* 1987;58(8):529-39.
52. Saglie FR, Marfany A, Camargo P. Intragingival occurrence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Bacteroides gingivalis* in active destructive periodontal lesions. *J Periodontol* 1988;59(4):259-65.
53. Fives-Taylor PM, Meyer DH, Mintz KP, Brissette C. Virulence factors of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Periodontol 2000* 1999;20(1):136-167.
54. Johansson A, Sandström G, Claesson R, Hänström L, Kalfas S. Anaerobic neutrophil-

- dependent killing of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in relation to the bacterial leukotoxicity. *Eur J Oral Sci* 2000;108(2):136-46.
55. Lally ET, Kieba IR, Golub EE, Lear JD, Tanaka JC. Structure/function aspects of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* leukotoxin. *J Periodontol* 1996;67(3):298-308.
 56. Slots J, Genco RJ. Black-pigmented *Bacteroides* species, *Capnocytophaga* species, and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease: virulence factors in colonization, survival, and tissue destruction. *J Dent Res* 1984;63(3):412-421.
 57. Kilian M, Frandsen EV, Haubek D, Poulsen K. The etiology of periodontal disease revisited by population genetic analysis. *Periodontol 2000* 2006;42(1):158-179.
 58. Alfant B, Shaddox LM, Tobler J, Magnusson I, Aukhil I, Walker C. Matrix metalloproteinase levels in children with aggressive periodontitis. *J Periodontol* 2008;79(5):819-826.
 59. Lavine WS, Maderazo EG, Stolman J, Ward PA, Cogen RB, Greenblatt I, et al. Impaired neutrophil chemotaxis in patients with juvenile and rapidly progressing periodontitis. *J Periodontal Res* 1979;14:10-19.
 60. Leino L, Hurtta H. A potential role of an intracellular signaling defect in neutrophil functional abnormalities and promotion of tissue damage in patients with localized juvenile periodontitis. *Clin Chem Lab Med* 1999;37:215-22.
 61. Liu RK, Cao CF, Meng HX, Gao Y. Polymorphonuclear neutrophils and their mediators in gingival tissues from generalized aggressive periodontitis. *J Periodontol* 2001;72(11):1545-53.
 62. Wolf HF, Rateitschak EM, Rateitschak KH. *Periodontia*. 3^a ed. Porto Alegre: Artmed; 2006:21-462.
 63. McCoy SA, Creamer HR, Kawanami M, Adams DF. The concentration of lipopolysaccharide on individual root surfaces at varying times following in vivo root planing. *J Periodontol* 1987;58(6):393-399.
 64. Lindemann RA, Eilber F. Activation of human natural killer cells by lipopolysaccharide from *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Arch Oral Biol* 1989;34(6):459-63.
 65. Lindemann RA, Economou JS, Rothermel H. Production of interleukin-1 and tumor necrosis factor by human peripheral monocytes activated by periodontal bacteria and extracted lipopolysaccharides. *J Dent Res* 1988;67(8):1131-5.
 66. Paster BJ, Boches SK, Galvin JL, Ericson RE, Lau CN, Levanos VA, et al. Bacterial diversity in human subgingival plaque. *J Bacteriol* 2001;183(12):3770-3783.

67. Henderson B, Nair SP, Ward JM, Wilson M. Molecular pathogenicity of the oral opportunistic pathogen *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Ann Review Microbiol* 2003;57:29-55.
68. Belibasakis GN, Johansson A, Wang Y, Claesson R, Chen C, Asikainen S, et al. Inhibited proliferation of human periodontal ligament cells and gingival fibroblasts by *Actinobacillus actinomycetemcomitans*: involvement of the cytolethal distending toxin. *Eur J Oral Sci* 2002;110(5):366-73.
69. Belibasakis GN, Mattsson A, Wang Y, Chen C, Johansson A. Cell cycle arrest of human gingival fibroblasts and periodontal ligament cells by *Actinobacillus actinomycetemcomitans*: involvement of the cytolethal distending toxin. *APMIS* 2004;112(10):674-85.
70. Kachlany SC, Fine DH, Figurski DH. Secretion of RTX leukotoxin by *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Infect Immun* 2000;68(11):6094-6100.
71. Helgeland K, Nordby O. Cell cycle-specific growth inhibitory effect on human gingival fibroblasts of a toxin isolated from the culture medium of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Periodontal Res* 1993;28(3):161-165.
72. Haffajee AD, Cugini MA, Tanner A, Pollack RP, Smith C, Kent RL, et al. Subgingival microbiota in healthy, wellmaintained elder and periodontitis subjects. *J Clin Periodontol* 1998;25(5):346-53.
73. Reddi K, Nair SP, White PA, Hodges S, Tabona P, Meghji S, et al. Surface-associated material from the bacterium *Actinobacillus actinomycetemcomitans* contains a peptide which, in contrast to lipopolysaccharide, directly stimulates fibroblast interleukin-6 gene transcription. *Eur J Biochem* 1996;236(3):871-6.
74. Brogan JM, Lally ET, Poulsen K, Kilian M, Demuth DR. Regulation of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* leukotoxin expression: analysis of the promoter regions of leukotoxic and minimally leukotoxic strains. *Infect Immun* 1994;62(2):501-508.
75. Spitznagel J, Kraig E, Kolodrubetz D. Regulation of leukotoxin in leukotoxic and nonleukotoxic strains of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Infect Immun* 1991;59(4):1394-1401.
76. Zambon JJ, DeLuca C, Slots J, Genco RJ. Studies of leukotoxin from *Actinobacillus actinomycetemcomitans* using the promyelocytic HL-60 cell line. *Infect Immun* 1983a;40(1):205-212.
77. Contreras A, Rusitanonta T, Chen C, Wagner WG, Michalowicz BS, Slots, J. Frequency of 530-bp deletion in *Actinobacillus actinomycetemcomitans* leukotoxin promoter region. *Oral Microbiol Immunol* 2000;15(5):338-340.

78. Haraszthy VI, Hariharan G, Tinoco EM, Cortelli JR, Lally ET, Davis E, 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(6):912-922.
79. Haubek D, Poulsen K, Kilian M. Microevolution and patterns of dissemination of the JP2 clone of *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans*. *Infect Immun* 2007;75(6):3080–3088.
80. Haubek D, Ennibi OK, Poulsen K, Vaeth M, Poulsen S, Kilian M. Risk of aggressive periodontitis in adolescent carriers of the JP2 clone of *Aggregatibacter (Actinobacillus) actinomycetemcomitans* in Morocco: a prospective longitudinal cohort study. *Lancet* 2008;371(9608):237-242.
81. Haubek D, Poulsen K, Asikainen S, Kilian M. Evidence for absence in northern Europe of especially virulent clonal types of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Clin Microbiol* 1995;33(2):395-401.
82. Mombelli A, Gmür R, Frey J, Meyer J, Zee KY, Tam JO, et al. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in young Chinese adults. *Oral Microbiol Immunol* 1998;13(4):231-237.
83. Seki M, Poulsen K, Haubek D, Kilian M. Novel Loop-Mediated Isothermal Amplification Method for Detection of the JP2 Clone of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in Subgingival Plaque. *J Clin Microbiol* 2008;46(3):1113-1115.
84. Isogai H, Isogai E, Yoshimura F, Suzuki T, Kagota W, Takano K. Specific inhibition of adherence of an oral strain of *Bacteroides gingivalis* 381 to epithelial cells by monoclonal antibodies against the bacterial fimbriae. *Arch Oral Biol* 1988;33(7):479-85.
85. Amano A, Sharma A, Lee JY, Sojar HT, Raj PA, Genco RJ. Structural domains of *Porphyromonas gingivalis* recombinant fimbriillin that mediate binding to salivary proline-rich protein and statherin. *Infect Immun* 1996;64(5):1631-1637.
86. Holt SC, Kesavalu L, Walker S, Genco CA. Virulence factors of *Porphyromonas gingivalis*. *Periodontol 2000* 1999;20(1):168-238.
87. Dorn BR, Dunn WA Jr, Progulsk-Fox A. Bacterial interactions with the autophagic pathway. *Cell Microbiol* 2002;4(1):1-10.
88. Yilmaz Ö , Verbeke P, Lamont RJ, Ojcius DM. Intercellular spreading of *Porphyromonas gingivalis* infection in primary gingival epithelial cells. *Infect Immun* 2006;74(1):703-710.
89. Kuehn MJ, Kesty NC. Bacterial outer membrane vesicles and the host–pathogen interaction. *Genes Dev* 2005;19:2645–2655.

90. Duncan L, Yoshioka M, Chandad F, Grenier D. Loss of lipopolysaccharide receptor CD14 from the surface of human macrophage-like cells mediated by *Porphyromonas gingivalis* outer membrane vesicles. *Microb Pathog* 2004;36(6):319-325.
91. Rylev M, Kilian M. Prevalence and distribution of principal periodontal pathogens worldwide. *J Clin Periodontol* 2008;35(8 Suppl.):346-361.
92. Cho CM, You HK, Jeong SN. The clinical assessment of aggressive periodontitis patients. *J Periodontal Implant Sci* 2011;41(3):143–148.
93. Brown LJ, Albandar JM, Brunelle JA, Løe H. Early-onset periodontitis: progression of attachment loss during 6 years. *J Periodontol* 1996;67(10):968-75.
94. Kronauer E, Borsa G, Lang NP. Prevalence of incipient juvenile periodontitis at age 16 years in Switzerland. *J Clin Periodontol* 1986;13(2):103-108.
95. Saxen L. Prevalence of juvenile periodontitis in Finland. *J Clin Periodontol* 1980;7:177-186.
96. Gjermo P, Bellini HT, Pereira Santos V, Martins JG, Ferracyoli JR. Prevalence of bone loss in a group of Brazilian teenagers assessed on bite-wing radiographs. *J Clin Periodontol* 1984;11(2):104–113.
97. Albandar JM, Buischi YA, Barbosa MF. Destructive forms of periodontal disease in adolescents. A 3-year longitudinal study. *J Periodontol* 1991;62(6):370–376.
98. Albandar JM. Prevalence of incipient radiographic periodontal lesions in relation to ethnic background and dental care provisions in young adults. *J Clin Periodontol* 1989;16(10):625-9.
99. Timmerman MF, Van der Weijden GA, Armand S, Abbas F, Winkel EG, Van Winkelhoff AJ, et al. Untreated periodontal disease in Indonesian adolescents. Clinical and microbiological baseline data. *J Clin Periodontol* 1998;25(3):215–224.
100. Albandar JM, Brown LJ, Løe H. Clinical features of early-onset periodontitis. *J Am Dent Assoc* 1997;128(10):1393-1399.
101. Løe H, Brown LJ. Early onset periodontitis in the United States of America. *J Periodontol* 1991;62(10):608-616.
102. Albandar JM, Tinoco EM. Global epidemiology of periodontal diseases in children and young persons. *Periodontol 2000* 2002;29:153-76.
103. Saxby MS. Sex ratio in juvenile periodontitis: the value of epidemiological studies. *Community Dent Health* 1984;1(1):29-32.
104. Saxby MS. Juvenile periodontitis: an epidemiological study in the west Midlands of the United Kingdom. *J Clin Periodontol* 1987;14(10):594-8.
105. Levin L, Baev V, Lev R, Stabholz A, Ashkenazi M. Aggressive periodontitis among young Israeli army personnel. *J Periodontol* 2006;77(8):1392-1396.

106. Sofaer JA. Genetic approaches in the study of periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 1990;17(7):401-408.
107. Nicklin MJ, Barton JL, Nguyen M, FitzGerald MG, Duff GW, Kornman K. A sequence-based map of the nine genes of the human interleukin-1 cluster. *Genomics* 2002;79(5):718-25.
108. Meisel P, Siegemund A, Grimm R, Herrmann FH, John U, Schwahn C, et al. The interleukin-1 polymorphism, smoking, and the risk of periodontal disease in the population-based SHIP study. *J Dent Res* 2003;82(3):189-93.
109. Quappe L, Jara L, López NJ. Association of interleukin-1 polymorphisms with aggressive periodontitis. *J Periodontol* 2004;75(11):1509-1515.
110. Brett PM, Zygogianni P, Griffiths GS, Tomaz M, Parkar M, D'Aiuto F, et al. Functional Gene Polymorphisms in Aggressive and Chronic Periodontitis. *J Dent Res* 2005;84(12):1149-1153.
111. Nibali L, Donos N, Brett PM, Parkar M, Ellinas T, Llorente M, et al. A familial analysis of aggressive periodontitis: clinical and genetic findings. *J Periodontal Res* 2008;43(6):627-34.
112. Saxen L, Nevalinna HR. Autosomal recessive inheritance of juvenile periodontitis: test of a hypothesis. *Clin Genet* 1984;25(4):332-5.
113. Hart TC, Marazita ML, Schenkein HA, Diehl SR. Re-interpretation of the evidence for X-linked dominant inheritance of juvenile periodontitis. *J Periodontol* 1992;63(3):169-173.
114. Long JC, Nance WE, Waring P, Burmeister JA, Ranney RR. Early onset periodontitis: a comparison and evaluation of two proposed modes of inheritance. *Genet Epidemiol* 1987;4(1):13-24.
115. Asikainen S, Chen C, Slots J. Likelihood of transmitting *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in families with periodontitis. *Oral Microbiol Immunol* 1996;11(6):387-394.
116. Van Dyke TE, Schweinebraten M, Cianciola LJ, Offenbacher S, Genco RJ. Neutrophil chemotaxis in families with localized juvenile periodontitis. *J Periodontal Res* 1985;20(5):503-514.
117. Gunsolley JC, Pandey JP, Quinn SM, Tew J, Schenkein HA. The effect of race, smoking and immunoglobulin allotypes on IgG subclass concentrations. *J Periodontal Res* 1997;32(4):381-7.
118. Michalowicz BS. Genetic and heritable risk factors in periodontal disease. *J Periodontol* 1994;65(5 Suppl.):479-488.
119. Deas DE, Mealey BL. Response of chronic and aggressive periodontitis to treatment.

- Periodontol* 2000;53(1):154-66.
120. 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(4):254-264.
 121. Worch KP, Listgarten MA, Korostoff JM. A multidisciplinary approach to the diagnosis and treatment of early-onset periodontitis: a case report. *J Periodontol* 2001;72(1):96-106.
 122. Kornman KS, Robertson PB. Clinical and microbiological evaluation of therapy for juvenile periodontitis. *J Periodontol* 1985;56(8):443-6.
 123. Eley BM, Manson JD. Periodontics. 5th ed. London: John Wright; 2004:158-344.
 124. Sigusch BW, Güntsch A, Pfitzner A, Glockmann E. Enhanced root planing and systemic metronidazole administration improve clinical and microbiological outcomes in a two-step treatment procedure. *J Periodontol* 2005;76(6):991-997.
 125. Herrera D, Sanz M, Jepsen S, Needleman I, Roldán S. A systematic review on the effect of systemic antimicrobials as an adjunct to scaling and root planing in periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 2002;29(Suppl. 3):136-159.
 126. Haffajee AD, Socransky SS, Gunsolley JC. Systemic anti-infective periodontal therapy. A systematic review. *Ann Periodontol* 2003;8(1):115-181.
 127. Walker C, Karpinia K. Rationale for use of antibiotics in periodontics. *J Periodontol* 2002;73(10):1188-1196.
 128. Oh TJ, Eber R, Wang HL. Periodontal diseases in the child and adolescent. *J Clin Periodontol* 2002;29(5):400-410.
 129. Lindhe J, Liljenberg B. Treatment of localized juvenile periodontitis – Result after 5 years. *J Clin Periodontol* 1984;11(6):399-410.
 130. Buchmann R, Nunn ME, Van Dyke TE, Lange DE. Aggressive periodontitis: 5 year follow-up of treatment. *J Periodontol* 2002;73(6):675–683.
 131. Zucchelli G, Brini C, De Sanctis M. GTR treatment of intrabony defects in patients with early-onset and chronic adult periodontitis. *Int J Periodontics Restorative Dent* 2002;22(4):323-33.
 132. Darby IB, Hodge PJ, Riggio MP, Kinane DF. Microbial comparison of smoker and non-smoker adult and early-onset periodontitis patients by polymerase chain reaction. *J Clin Periodontol* 2000;27(6):417-424.
 133. Lee JW, Choi BK, Yoo YJ, Choi SH, Cho KS, Chai JK, et al. Distribution of periodontal pathogens in Korean aggressive periodontitis. *J Periodontol* 2003;74(9):1329-1335.
 134. Takeuchi Y, Umeda M, Ishizuka M, Huang Y, Ishikawa I. Prevalence of periodontopathic bacteria in aggressive periodontitis patients in a Japanese population.

- J Periodontol* 2003;74(10):1460-1469.
135. Kamma JJ, Nakou M, Gmür R, Baehni PC. Microbiological profile of early onset/aggressive periodontitis patients. *Oral Microbiol Immunol* 2004;19(5):314-321.
 136. Saygun I, Kubar A, Ozdemir A, Yapar M, Slots J. Herpesviral-bacterial interrelationships in aggressive periodontitis. *J Periodontal Res* 2004;39(4):207-212.
 137. Lafaurie GI, Contreras A, Barón A, Botero J, Mayorga-Fayad I, Jaramillo A, et al. Demographic, clinical, and microbial aspects of chronic and aggressive periodontitis in Colombia: a multicenter study. *J Periodontol* 2007;78(4):629-639.
 138. Schacher B, Baron F, Rossberg M, Wohlfeil M, Arndt R, Eickholz P. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* as indicator for aggressive periodontitis by two analysing strategies. *J Clin Periodontol* 2007;34(7):566-573.
 139. Thiha K, Takeuchi Y, Umeda M, Huang Y, Ohnishi M, Ishikawa I. Identification of periodontopathic bacteria in gingival tissue of Japanese periodontitis patients. *Oral Microbiol Immunol* 2007;22(3):201-7.
 140. Reichert S, Machulla HK, Klapproth J, Zimmermann U, Reichert Y, Gläser C, et al. Interleukin-2 -330 and 166 gene polymorphisms in relation to aggressive or chronic periodontitis and the presence of periodontopathic bacteria. *J Periodontal Res* 2009;44(5):628-35.
 141. Riep B, Edesi-Neuß L, Claessen F, Skarabis H, Ehmke B, Flemmig TF, et al. Are putative periodontal pathogens reliable diagnostic markers? *J Clin Microbiol* 2009;47(6):1705-1711.
 142. Chen C, Wang T, Chen W. Occurrence of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* serotypes in subgingival plaque from United States subjects. *Mol Oral Microbiol* 2010;25(3):207-14.
 143. Fornì F, Dri M, Germano F, Ombres D, Arcuri C. Prevalence of periodontopathic bacteria and microbial complexes in GCP and GAgP untreated patients in an Italian population. *International journal of Clinical Dentistry* 2010;3(3):163-172.
 144. Ximenez-Fyvie LA, Almaguer-Flores A, Jacobo-Soto V, Lara-Cordoba M, Moreno-Borjas JY, Alcantara-Maruri E. Subgingival microbiota of periodontally untreated Mexican subjects with generalized aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol* 2006;33(12):869-77.
 145. Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 1998;25(2):134-44.

146. Schenkein HA, Burmeister JA, Koertge TE, Brooks CN, Best AM, Moore LVH, et al. The Influence of Race and Gender on Periodontal Microflora. *J Periodontol* 1993;64(4):292-296.
147. Christersson LA, Slots J, Zambon JJ, Genco RJ. Transmission and colonization of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in localized juvenile periodontitis patients. *J Periodontol* 1985;56(3):127-31.
148. Trevilatto PC, Tramontina VA, Machado MA, Gonçalves RB, Sallum AW, Line SR. Clinical, genetic and microbiological findings in a Brazilian family with aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol* 2002;29(3):233-9.
149. Ali RW, Velcescu C, Jivanescu MC, Lofthus B, Skaug N. Prevalence of 6 putative periodontal pathogens in subgingival plaque samples from Romanian adult periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 1996;23(2):133-9.
150. Doğan B, Antinheimo J, Cetiner D, Bodur A, Emingil G, Buduneli E, et al. Subgingival microflora in Turkish patients with periodontitis. *J Periodontol* 2003;74(6):803-814.
151. Dahlén G, Widar F, Teanpaisan R, Papapanou PN, Baelum V, Fejerskov O. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in a rural adult population in southern Thailand. *Oral Microbiol Immunol* 2002;17(3):137-42.
152. Choi BK, Park SH, Yoo YJ, Choi SH, Chai JK, Cho KS, et al. Detection of major putative periodontopathogens in Korean advanced adult periodontitis patients using a nucleic acid-based approach. *J Periodontol* 2000;71(9):1387-94.
153. Van der Weijden GA, Timmerman MF, Reijerse E, Wolffe GN, Van Winkelhoff AJ, Van der Velden U. The prevalence of *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* and *P. intermedia* in selected subjects with periodontitis. *J Clin Periodontol* 1994;21(9):583-8.
154. Slots J, Bragd L, Wikström M, Dahlén G. The occurrence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides intermedius* in destructive periodontal disease in adults. *J Clin Periodontol* 1986;13(6):570-7.
155. Miyamoto E, Nakano K, Fujita K, Nomura R, Okawa R, Matsumoto M, et al. Bacterial profiles of oral streptococcal and periodontal bacterial species in saliva specimens from Japanese subjects. *Arch Oral Biol* 2009;54(4):374-379.
156. Dahlén G, Manji F, Baelum V, Fejerskov O. Black-pigmented *Bacteroides* species and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in subgingival plaque of adult Kenyans. *J Clin Periodontol* 1989;16(5):305-10.
157. Cortelli JR, Cortelli SC, Jordan S, Haraszthy VI, Zambon JJ. Prevalence of periodontal pathogens in Brazilians with aggressive or chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2005;32(8):860-6.

158. Zambon JJ, Slots J, Genco RJ. Serology of oral *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and serotype distribution in human periodontal disease. *Infect Immun* 1983b;41(1):19-27.
159. Haubek D, Ennibi OK, Abdellaoui L, Benzarti N, Poulsen S. Attachment loss in Moroccan early onset periodontitis patients and infection with the JP2-type of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Clin Periodontol* 2002;29(7):657-60.
160. Yang HW, Asikainen S, Doğan B, Suda R, Lai CH. Relationship of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotype b to aggressive periodontitis: frequency in pure cultured isolates. *J Periodontol* 2004;75(4):592-9.
161. Nonnenmacher C, Mutters R, de Jacoby LF. Microbiological characteristics of subgingival microbiota in adult periodontitis, localized juvenile periodontitis and rapidly progressive periodontitis subjects. *Clin Microbiol Infect* 2001;7(4):213-217.
162. Haffajee AD, Socransky SS. Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontol 2000* 1994;5:78-111.
163. Bragd L, Dahlén G, Wikström M, Slots J. The capability of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides gingivalis* and *Bacteroides intermedius* to indicate progressive periodontitis; a retrospective study. *J Clin Periodontol* 1987;14(2):95-9.
164. Rams TE, Flynn MJ, Slots J. Subgingival microbial associations in severe human periodontitis. *Clin Infect Dis* 1997;25 (Suppl. 2):224-6.
165. Hamlet SM, Cullinan MP, Westerman B, Lindeman M, Bird PS, Palmer J, et al. Distribution of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella intermedia* in an Australian population. *J Clin Periodontol* 2001;28(12):1163-71.
166. Teughels W, Kinder Haake S, Sliepen I, Pauwels M, Van Eldere J, Cassiman JJ, et al. Bacteria interfere with *A. actinomycetemcomitans* colonization. *J Dent Res* 2007;86(7):611-7.
167. Ashimoto A, Chen C, Bakker I, Slots J. Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. *Oral Microbiol Immunol* 1996;11(4):266-73.
168. Barbosa FC, Mayer MP, Saba-Chujfi E, Cai S. Subgingival occurrence and antimicrobial susceptibility of enteric rods and pseudomonads from Brazilian periodontitis patients. *Oral Microbiol Immunol* 2001;16(5):306-10.
169. Tanner A, Maiden MF, Macuch PJ, Murray LL, Kent RL Jr. Microbiota of health, gingivitis, and initial periodontitis. *J Clin Periodontol* 1998;25(2):85-98.
170. Kuru B, Yilmaz S, Noyan U, Acar O, Kadir T. Microbiological features and crevicular

- fluid aspartate aminotransferase enzyme activity in early onset periodontitis patients. *J Clin Periodontol* 1999;26(1):19-25.
171. López NJ, Socransky SS, Da Silva I, Japlit MR, Haffajee AD. Subgingival microbiota of Chilean patients with chronic periodontitis. *J Periodontol* 2004;75(5):717-25.
172. Lau L, Sanz M, Herrera D, Morillo JM, Martín C, Silva A. Quantitative real-time polymerase chain reaction versus culture: a comparison between two methods for the detection and quantification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Tannerella forsythensis* in subgingival plaque samples. *J Clin Periodontol* 2004;31(12):1061-9.
173. Rudney JD, Chen R, Pan Y. Endpoint quantitative PCR assays for *Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis*, and *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Periodontol Res* 2003;38(5):465-70.
174. Riggio MP, Macfarlane TW, Mackenzie D, Lennon A, Smith AJ, Kinane D. Comparison of polymerase chain reaction and culture methods for detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in subgingival plaque samples. *J Periodontol Res* 1996;31(7):496-501.
175. Moraes SR, Siqueira JF Jr, Colombo AP, Rôças IN, Ferreira MC, Domingues RM. Comparison of the effectiveness of bacterial culture, 16S rDNA directed polymerase chain reaction, and checkerboard DNA-DNA hybridization for detection of *Fusobacterium nucleatum* in endodontic infections. *J Endod* 2002;28(2):86-9.
176. Sanz M, van Winkelhoff AJ, Herrera D, Dellemijn-Kippuw N, Simón R, Winkel E. Differences in the composition of the subgingival microbiota of two periodontitis populations of different geographical origin. A comparison between Spain and the Netherlands. *Eur J Oral Sci* 2000;108(5):383-392.
177. Mombelli A, Schmid B, Rutar A, Lang NP. Persistence patterns of *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia/nigrescens*, and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* after mechanical therapy of periodontal disease. *J Periodontol* 2000;71(1):14-21.
178. Savitt ED, Darack AP, Killoy WJ, Lieberman MG. Site selection criteria for microbiological testing of periodontal microorganisms. *J Periodontol* 1991;62(9):558-61.
179. Haubek D, Dirienzo JM, Tinoco EM, Westergaard J, López NJ, Chung CP, et al. Racial tropism of a highly toxic clone of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* associated with juvenile periodontitis. *J Clin Microbiol* 1997;35(12):3037-3042.
180. Kamma JJ, Nakou M, Manti FA. Predominant microflora of severe, moderate and minimal periodontal lesions in young adults with rapidly progressive periodontitis. *J Periodontol Res* 1995;30(1):66-72.

181. Page RC, Kornman KS. The pathogenesis of human periodontitis: an introduction.
Periodontol 2000 1997;14(1):9-11.

ANEXOS

ANEXO A

Lista de Figuras

Figura 1:	a) Fotografia clínica e b) radiografia panorâmica de um paciente de 31 anos de idade diagnosticado com PA.....	8
Figura 2:	Complexos microbianos subgingivais.....	11
Figura 3:	Esquema representativo da resposta inflamatória frente à infecção bacteriana.....	14
Figura 4:	Esquema representativo da triagem e selecção dos artigos para inclusão nesta revisão.....	25
Figura 5:	Foto frontal.....	26
Figura 6:	Foto lateral do 1º e 4º quadrante.....	26
Figura 7:	Foto lateral do 2º e 3º quadrante.....	26
Figura 8:	Status radiográfico.....	27
Figura 9:	1º e 4º quadrante; 2º e 3º quadrante.....	27
Figura 10:	Foto frontal.....	27
Figura 11:	Foto lateral do 1º e 4º quadrante.....	28
Figura 12:	Foto lateral do 2º e 3º quadrante.....	28
Figura 13:	Status radiográfico.....	28
Figura 14:	1º e 4º quadrante; 2º e 3º quadrante.....	28

ANEXO B**Lista de Tabelas**

Tabela I:	Estudos incluídos na revisão sistematizada.....	61
Tabela II:	Caracterização dos pacientes incluídos nos estudos (forma não especificada de PA).....	62
Tabela III:	Caracterização dos pacientes incluídos nos estudos (com PAL).....	63
Tabela IV:	Caracterização dos pacientes incluídos nos estudos (com PAG).....	64
Tabela V:	Frequência de detecção de bactérias (forma não especificada de PA)..	65
Tabela VI:	Frequência de detecção de bactérias associadas especificamente com a PAL.....	66
Tabela VII:	Frequência de detecção de bactérias associadas especificamente com a PAG.....	67
Tabela VIII:	Frequência de bactérias identificadas nesta revisão sistematizada.....	69
Tabela IX:	Resultados microbiológicos dos pacientes incluídos nos casos clínicos	70

ANEXO C

Lista de Abreviaturas

AAP	<i>American Academy of Periodontology</i> – Academia Americana de Periodontologia
CDT	<i>Cytolethal Distending Toxin</i> – Toxina de distensão citoletal
UFC/mL	Unidades formadoras de colónias por mililitro
DNA	<i>Deoxyribonucleic Acid</i> – Ácido desoxirribonucleico
EUA	Estados Unidos da América
H₂S	Hydrogen sulfide – Sulfeto de hidrogénio
IgG2	Subclasse da Imunoglobulina G (IgG)
IL-1	Interleucina-1
IL-1β	Interleucina-1 beta
IL-6	Interleucina-6
LPS	Lipopolissacarídeo
LtxA	Leucotoxina de <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>
MA	<i>Meta-Analysis</i> – Meta-análise
MMPs	<i>Matrix metalloproteinases</i> – Metaloproteinases da matriz
PA	Periodontite Agressiva
PAG	Periodontite Agressiva Generalizada
PAL	Periodontite Agressiva Localizada
PC	Periodontite Crónica
PCR	<i>Polymerase Chain Reaction</i> – Reacção em cadeia da polimerase
PGE₂	<i>Prostaglandin E₂</i> – Prostaglandina E ₂
RAR	Raspagem e Alisamento Radicular
RCT	<i>Randomized Controlled Trials</i> – Estudos clínicos controlados e aleatórios
RTX	<i>Repeats in Toxin</i> – Repetida na toxina
SR	<i>Systematic Reviews</i> – Revisões sistemáticas
TNF-α	<i>Tumour Necrosis Factor Alpha</i> – Factor de necrose tumoral alfa

ANEXO D

Lista de Microrganismos

Aa	<i>Aggregatibacter</i> (antes <i>Actinobacillus</i>) <i>actinomycetemcomitans</i>
Actinomyces spp.	Espécies de <i>Actinomyces</i>
A. israelii	<i>Actinomyces israelii</i>
A. naeslundii	<i>Actinomyces naeslundii</i>
Campylobacter spp.	Espécies de <i>Campylobacter</i>
Cr	<i>Campylobacter rectus</i>
Capnocytophaga spp.	Espécies de <i>Capnocytophaga</i>
C. gingivalis	<i>Capnocytophaga gingivalis</i>
C. ochracea	<i>Capnocytophaga ochracea</i>
C. sputigena	<i>Capnocytophaga sputigena</i>
Ec	<i>Eikenella corrodens</i>
Eubacterium sp.	Espécie de <i>Eubacterium</i>
E. saburreum	<i>Eubacterium saburreum</i>
Fusobacterium spp.	Espécies de <i>Fusobacterium</i>
Fn	<i>Fusobacterium nucleatum</i>
P. micra	<i>Parvimonas micra</i> (antes <i>Micromonas micros</i> e <i>Peptostreptococcus micros</i>)
Pg	<i>Porphyromonas gingivalis</i>
Pi	<i>Prevotella intermedia</i>
P. melaninogenicus	<i>Prevotella melaninogenicus</i>
Selenomonas spp.	Espécies de <i>Selenomonas</i>
Streptococcus spp.	Espécies de <i>Streptococcus</i>
S. intermedius	<i>Streptococcus intermedius</i>
S. oralis	<i>Streptococcus oralis</i>
S. sanguis	<i>Streptococcus sanguis</i>
Tf	<i>Tannerella forsythia</i> (antes <i>Bacteroides forsythus</i>)
Treponema spp.	Espécies de <i>Treponema</i>
Td	<i>Treponema denticola</i>
V. parvula	<i>Veillonella parvula</i>

ANEXO E

Apresentação dos Resultados

Tabela I. Estudos incluídos na revisão sistematizada

Estudo	Tipo de estudo	Métodos de detecção	Bactérias detectadas
Darby <i>et al.</i> (2000)	Série de casos	PCR	<i>Aa, Pg, Pi, Tf, Td</i>
Lee <i>et al.</i> (2003)	Série de casos	PCR/dot-blot	<i>Aa, Fusobacterium spp., Pg, Pi, P. micra, Treponema spp., Tf</i>
Takeuchi <i>et al.</i> (2003)	Série de casos	PCR	<i>Aa, Cr, Pg, Pi, Td, Tf</i>
Kamma <i>et al.</i> (2004)	Série de casos	Cultura	<i>Aa, Actinomyces israelii, Actinomyces naeslundii, Capnocytophaga ochracea, Capnocytophaga sputigena, Capnocytophaga gingivalis, Cr, Ec, Fn, Pg, Pi, P. micra, Selenomonas sp., S. intermedius, S. oralis, S. sanguis, Tf, V. parvula</i>
Saygun <i>et al.</i> (2004)	Série de casos	PCR	<i>Aa, Cr, Pg, Pi, Tf</i>
Lafaurie <i>et al.</i> (2007)	Série de casos	PCR/Cultura	<i>Aa, Pg, Tf</i>
Schacher <i>et al.</i> (2007)	Série de casos	Real-time PCR	<i>Aa, Pg, Tf, Td</i>
Thiha <i>et al.</i> (2007)	Série de casos	PCR	<i>Aa, Pg, Tf, S. oralis</i>
Reichert <i>et al.</i> (2009)	Série de casos	PCR e <i>Checkerboard DNA-DNA Hybridization</i>	<i>Aa, Pg, Pi, Tf, Td</i>
Riep <i>et al.</i> (2009)	Série de casos	PCR/dot-blot	<i>Aa, Pg, Pi, Tf</i>
Chen <i>et al.</i> (2010)	Série de casos	Cultura	<i>Aa, Pg, Tf</i>
Forni <i>et al.</i> (2010)	Série de casos	PCR	<i>Aa, Pg, Tf, Td, Fn, Pi, Cr, P. micra, Capnocytophaga sp., Ec</i>
Ximenez-Fyvie <i>et al.</i> (2006)	Série de casos	<i>Checkerboard DNA-DNA Hybridization</i>	<i>Aa, A. israelii, Cr, C. ochracea, Ec, E. saburreum, Fn, P. micra, Pg, Pi, P. melaninogenicus, S. oralis, Tf, Td</i>
Nibali <i>et al.</i> (2012)	Meta-análise	<i>Nested PCR</i>	<i>Aa, Pg</i>

PCR, *Polymerase Chain Reaction* (reação em cadeia da polimerase); Real-time PCR (PCR em tempo real); *Checkerboard DNA-DNA Hybridization* (Hibridização de DNA); DNA, *Deoxyribonucleic Acid* (ácido desoxirribonucleico).

Tabela II. Caracterização dos pacientes incluídos nos estudos (forma não especificada de PA)

Estudo	Amostra (<i>n</i>)	Gênero [<i>n</i> (%)]		Idade Média (variação)	DP (±)	Grupos Étnicos/Raciais (<i>n</i>)					
		Masc.	Fem.			Caucasiano	Negro	Afro- Americano	Hispânico	Asiático	Outra/ Mista
Kamma <i>et al.</i> (2004)	66	25 (37.9)	41 (62.1)	31.1 (23-35)	3.1	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
Saygun <i>et al.</i> (2004)	18	9 (50.0)	9 (50.0)	24.1 (17-31)	3.2	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	18 Turcos (euro- asiático)
Lafaurie <i>et al.</i> (2007)	158	60 (38.0)	98 (62.0)	28.0	6.8	n.i.	6	n.i.	n.i.	n.i.	152
Schacher <i>et al.</i> (2007)	30	13 (43.0)	17 (57.0)	30.3	6.9	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
Chen <i>et al.</i> (2010)	51	19 (37.3)	32 (62.7)	24.6 (14-32)	4.6	3	n.i.	12	19	n.i.	17 (ásio- americano)
Total	323	126 (39.0)	197 (61.0)	28.1		3	6	12	19		187

Abreviaturas: *n*, número de sujeitos; Masc., masculino; Fem., feminino; DP, desvio padrão; n.r., não refere; n.i., não inclui.

Tabela III. Caracterização dos pacientes incluídos nos estudos (com PAL)

Estudo	Amostra (n)	Gênero [n (%)]		Idade Média (variação)	DP (±)	Grupos Étnicos/Raciais (n)					
		Masc.	Fem.			Caucasiano	Negro	Afro- Americano	Hispânico	Asiático	Outra/ Mista
Lee <i>et al.</i> (2003)	17	8 (47.1)	9 (52.9)	29.4 (20-35)	n.r.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	17	n.i.
Takeuchi <i>et al.</i> (2003)	10	n.r.	n.r.	20.0 (15-25)	3.3	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	10	n.i.
Thiha <i>et al.</i> (2007)	8	4 (50.0)	4 (50.0)	31.3	5.6	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	8	n.i.
Total	35	12 (48.0)	13 (52.0)	27.1						35	

Abreviaturas: n, número de sujeitos; Masc., masculino; Fem., feminino; DP, desvio padrão; n.r., não refere; n.i., não inclui.

Tabela IV. Caracterização dos pacientes incluídos nos estudos (com PAG)

Estudo	Amostra (n)	Gênero [n (%)]		Idade Média (variação)	DP (±)	Grupos Étnicos/Raciais (n)					
		Masc.	Fem.			Caucasiano	Negro	Afro- Americano	Hispânico	Asiático	Outra/ Mista
Darby <i>et al.</i> (2000)	24	9 (37.5)	15 (62.5)	33.2 (26-35)	3.4	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
Lee <i>et al.</i> (2003)	22	16 (72.7)	6 (27.3)	29.8 (20-35)	n.r.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	22	n.i.
Takeuchi <i>et al.</i> (2003)	40	n.r.	n.r.	28.0 (18-34)	4.4	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	40	n.i.
Thiha <i>et al.</i> (2007)	16	9 (56.2)	7 (43.8)	35.1	8.2	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	16	n.i.
Reichert <i>et al.</i> (2009)	73	27 (37.0)	46 (63.0)	40.9	9.8	73	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
Riep <i>et al.</i> (2009)	44	19 (43.2)	25 (56.8)	34.4	6.5	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
Forni <i>et al.</i> (2010)	16	6 (37.5)	10 (62.5)	35.8	7.0	16	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.	n.i.
Ximenez-Fyvie <i>et al.</i> (2006)	19	3 (15.8)	16 (84.2)	21.5 (12-29)	1.2	n.i.	n.i.	n.i.	19	n.i.	n.i.
Nibali <i>et al.</i> (2012)	84	35 (41.7)	49 (58.3)	34.5	7.8	52	17	n.i.	n.i.	13	2
Total	338	124 (41.6)	174 (58.4)	34.1		141	17		19	91	2

Abreviaturas: n, número de sujeitos; Masc., masculino; Fem., feminino; DP, desvio padrão; n.r., não refere; n.i., não inclui.

Tabela V. Frequência de detecção de bactérias (forma não especificada de PA)

Estudo (n = 323)	Aa		Actinomyces spp.		Campylobacter spp.		Capnocytophaga spp.		Ec		Fusobacterium spp.		Pg	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Kamma <i>et al.</i> (2004)	22	33.0	51	77.0	42	64.0	51	77.0	24	37.0	32	48.0	39	59.0
Saygun <i>et al.</i> (2004)	8	44.4	n.r.	n.r.	15	83.3	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	14	77.8
Lafaurie <i>et al.</i> (2007)	48	30.1	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	118	74.6
Schacher <i>et al.</i> (2007)	20	66.7	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	24	80.0
Chen <i>et al.</i> (2010)	12	23.5	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	22	43.1
Total	110	34.1	51	15.8	57	17.6	51	15.8	24	7.4	32	9.9	217	67.2

Abreviaturas: n, número de sujeitos; n.r., não refere.

Tabela V. (Continuação)

Estudo (n = 323)	Pi		P. micra		Selenomonas spp.		Streptococcus spp.		Tf		Treponema spp.		V. parvula	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Kamma <i>et al.</i> (2004)	44	66.0	38	58	26	39.0	61	93.0	43	65.0	n.r.	n.r.	19	29.0
Saygun <i>et al.</i> (2004)	8	44.4	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	14	77.8	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
Lafaurie <i>et al.</i> (2007)	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	92	58.1	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
Schacher <i>et al.</i> (2007)	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	29	96.7	29	96.7	n.r.	n.r.
Chen <i>et al.</i> (2010)	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	8	15.6	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
Total	52	16.1	38	11.8	26	8.0	61	18.9	186	57.6	29	9.0	19	5.9

Abreviaturas: n, número de sujeitos; n.r., não refere.

Tabela VI. Frequência de detecção de bactérias associadas especificamente com a PAL

Estudo (<i>n</i> = 35)	<i>Aa</i>		<i>Campylobacter</i> spp.		<i>Fusobacterium</i> spp.		<i>Pg</i>	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Lee <i>et al.</i> (2003)	6	35.3	n.r.	n.r.	14	82.3	8	47.1
Takeuchi <i>et al.</i> (2003)	2	20.0	10	100	n.r.	n.r.	9	90.0
Thiha <i>et al.</i> (2007)	5	63.0	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	7	88.0
Total	13	37.1	10	28.6	14	40.0	24	68.6

Abreviaturas: *n*, número de sujeitos; n.r., não refere.

Tabela VI. (Continuação)

Estudo (<i>n</i> = 35)	<i>Pi</i>		<i>P. micra</i>		<i>Streptococcus</i> spp.		<i>Tf</i>		<i>Treponema</i> spp.	
	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%	<i>n</i>	%
Lee <i>et al.</i> (2003)	5	29.4	7	41.2	n.r.	n.r.	6	35.3	10	58.8
Takeuchi <i>et al.</i> (2003)	1	10.0	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	7	70.0	7	70.0
Thiha <i>et al.</i> (2007)	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	0	0.0	6	75.0	n.r.	n.r.
Total	6	17.1	7	20.0	0	0.0	19	54.3	17	48.6

Abreviaturas: *n*, número de sujeitos; n.r., não refere.

Tabela VII. Frequência de detecção de bactérias associadas especificamente com a PAG

Estudo (n = 338)	Aa		Actinomyces spp.		Campylobacter spp.		Capnocytophaga spp.		Ec		Eubacterium spp.		Fusobacterium spp.	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Darby <i>et al.</i> (2000)	5	20.8	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
Lee <i>et al.</i> (2003)	7	31.8	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	17	77.3
Takeuchi <i>et al.</i> (2003)	7	17.5	n.r.	n.r.	39	97.5	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
Thiha <i>et al.</i> (2007)	6	38.0	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
Reichert <i>et al.</i> (2009)	29	39.7	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
Riep <i>et al.</i> (2009)	16	36.0	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
Forni <i>et al.</i> (2010)	3	18.8	n.r.	n.r.	5	31.3	1	6.3	1	6.3	n.r.	n.r.	11	68.8
Ximenez-Fyvie <i>et al.</i> (2006)	18	94.7	18	94.7	17	89.5	17	89.5	18	94.7	18	94.7	19	100.0
Nibali <i>et al.</i> (2012)	40	47.6	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
Total	131	38.8	18	5.3	61	18.0	18	5.3	19	5.6	18	5.3	47	13.9

Abreviaturas: n, número de sujeitos; n.r., não refere.

Tabela VII. (Continuação)

Estudo (n = 338)	Pg		Pi		P. melaninogenicus		P. micra		Streptococcus spp.		Tf		Treponema spp.	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
Darby <i>et al.</i> (2000)	15	62.5	19	79.2	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	22	91.7	11	45.8
Lee <i>et al.</i> (2003)	14	63.6	11	50.0	n.r.	n.r.	10	45.4	n.r.	n.r.	13	59.1	16	72.7
Takeuchi <i>et al.</i> (2003)	33	82.5	19	47.5	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	35	87.5	32	80.0
Thiha <i>et al.</i> (2007)	11	69.0	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	2	13.0	13	81.0	n.r.	n.r.
Reichert <i>et al.</i> (2009)	58	79.5	47	64.4	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	65	89.0	64	87.8
Riep <i>et al.</i> (2009)	28	64.0	31	70.0	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	42	95.0	n.r.	n.r.
Forni <i>et al.</i> (2010)	8	50.0	3	18.8	n.r.	n.r.	0	0.0	n.r.	n.r.	11	68.8	6	37.5
Ximenez-Fyvie <i>et al.</i> (2006)	19	100.0	15	77.8	17	89.5	18	94.1	18	94.7	18	94.4	17	89.5
Nibali <i>et al.</i> (2012)	44	52.4	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.
Total	230	68.0	145	42.9	17	5.0	28	8.3	20	5.9	219	64.8	146	43.2

Abreviaturas: n, número de sujeitos; n.r., não refere.

Tabela VIII. Frequência de bactérias identificadas nesta revisão sistematizada

Bactérias	PA							
	PA (forma n/especificada) (n = 323)		Localizada (n = 35)		Generalizada (n = 338)		Total (n = 696)	
	n	%	n	%	n	%	n	%
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	217	67.2	24	68.6	230	68.0	471	67.7
<i>Tannerella forsythia</i>	186	57.6	19	54.3	219	64.8	424	60.9
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	110	34.1	13	37.1	131	38.8	254	36.5
<i>P. intermedia</i>	52	16.1	6	17.1	145	42.9	203	29.2
<i>Treponema spp.</i>	29	9.0	17	48.6	146	43.2	192	27.6
<i>Campylobacter spp.</i>	57	17.6	10	28.6	61	18.0	128	18.4
<i>Fusobacterium spp.</i>	32	9.9	14	40.0	47	13.9	93	13.4
<i>Streptococcus spp.</i>	61	18.9	0	0.0	20	5.9	81	11.6
<i>Parvimonas micra</i>	38	11.8	7	20.0	28	8.3	73	10.5
<i>Actinomyces spp.</i>	51	15.8	n.r.	n.r.	18	5.3	69	9.9
<i>Capnocytophaga spp.</i>	51	15.8	n.r.	n.r.	18	5.3	69	9.9
<i>Eikenella corrodens</i>	24	7.4	n.r.	n.r.	19	5.6	43	6.2
<i>Selenomonas spp.</i>	26	8.0	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	26	3.7
<i>Veillonella parvula</i>	19	5.9	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	19	2.7
<i>Eubacterium spp.</i>	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	18	5.3	18	2.6
<i>Prevotella melaninogenica</i>	n.r.	n.r.	n.r.	n.r.	17	5.0	17	2.4

Abreviaturas: n, número de sujeitos; n.r., não refere.

Resultados Microbiológicos dos Pacientes Incluídos nos Casos Clínicos

Tabela IX. Resultados microbiológicos dos pacientes incluídos nos casos clínicos

Bactérias	Paciente A (UFC/mL)	Paciente B (UFC/mL)
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	$3,24 \times 10^4$	$3,0 \times 10^6$
<i>Campylobacter rectus</i>	$8,53 \times 10^4$	$1,1 \times 10^4$
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	$2,51 \times 10^7$	$2,46 \times 10^7$
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	$2,24 \times 10^4$	$3,98 \times 10^4$
<i>Tannerella forsythia</i>	$9,63 \times 10^6$	$5,01 \times 10^5$

Abreviaturas: UFC/mL, unidades formadoras de colónias por mililitro.

ANEXO F



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
MADRID

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

CUANTIFICACIÓN DE ADN BACTERIANO MEDIANTE RT-PCR (REAL TIME-POLIMERASE CHAIN REACTION)

Paciente: M. M.

BACTERIA	CUANTIFICACIÓN ADN (UFC/ml)
<i>Campylobacter rectus</i>	8,53 x 10 ⁴
<i>Tannerella forsythia</i>	9,63 x 10 ⁶
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	2,51 x 10 ⁷
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	3,24 x 10 ⁴
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	2,24 x 10 ⁴

Paciente: I. B.

BACTERIA	CUANTIFICACIÓN ADN (UFC/ml)
<i>Campylobacter rectus</i>	1,1 x 10 ⁴
<i>Tannerella forsythia</i>	5,01 x 10 ⁵
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	2,46 x 10 ⁷
<i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i>	3,0 x 10 ⁶
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	3,98 x 10 ⁴



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
LABORATORIO INVESTIGACIÓN

Laboratorio de Investigación-Biología Molecular
Facultad de Odontología; Universidad Complutense de Madrid

ANEXO G

Lista de Artigos Excluídos

Triagem primária - Foram excluídos 257 estudos, nomeadamente:

PubMed/MEDLINE

Autor/ano	Motivo exclusão	Autor/ano	Motivo exclusão
Kshitish & Laxman (2010)	1, 2	Isaza <i>et al.</i> (2008)	1
Shao <i>et al.</i> (2009)	2	Wiebe <i>et al.</i> (2008)	1, 2
Ryan <i>et al.</i> (2003)	2	Shelburne <i>et al.</i> (2008)	1, 2
Camen <i>et al.</i> (2012)	1, 2	Stingu <i>et al.</i> (2008)	1
Choi <i>et al.</i> (2011)	1, 2	Schaeffer <i>et al.</i> (2008)	1
Ababneh <i>et al.</i> (2012)	1	Ryan <i>et al.</i> (2003)	1
Hans & Mehta (2011)	1	Seki <i>et al.</i> (2008)	1, 2
Gomes <i>et al.</i> (2011)	1	Watanabe <i>et al.</i> (2007)	1
Rompikuntal <i>et al.</i> (2012)	2	Fine <i>et al.</i> (2007)	1
Rapp <i>et al.</i> (2011)	2	Freitas <i>et al.</i> (2007)	1, 2
Ababneh <i>et al.</i> (2010)	2	Loureiro <i>et al.</i> (2007)	1, 2
Kshitish & Laxman (2010)	1	Bidault <i>et al.</i> (2007)	1
Fine <i>et al.</i> (2010)	1	Balashova <i>et al.</i> (2007)	1
Saito <i>et al.</i> (2010)	1	Haubek <i>et al.</i> (2007)	2
Ernst <i>et al.</i> (2010)	1, 2	Joshi & Vandana (2007)	2
Cortelli <i>et al.</i> (2010)	2	Moter <i>et al.</i> (2006)	2
Rapp <i>et al.</i> (2010)	1,2	Zhang & Teng (2006)	1, 2
Wang (2010)	2	Ullbro <i>et al.</i> (2006)	1
Teles <i>et al.</i> (2010)	2	Balashova <i>et al.</i> (2006)	1, 2
Schenkein <i>et al.</i> (2010)	1, 2	Hasturk <i>et al.</i> (2006)	1, 2
Carvalho <i>et al.</i> (2010)	2	Fujita <i>et al.</i> (2005)	2
Kachlany (2010)	2	Eriksen <i>et al.</i> (2005)	2
Schlafer <i>et al.</i> (2010)	1, 2	Yang <i>et al.</i> (2005)	1, 2
Shaddox <i>et al.</i> (2010)	1, 2	Herrmann <i>et al.</i> (2005)	1, 2
Shao <i>et al.</i> (2009)	1	Richardson <i>et al.</i> (2005)	1
Vieira <i>et al.</i> (2009)	1	Pérez <i>et al.</i> (2004)	1
Schaefer <i>et al.</i> (2010)	1	Belibasakis <i>et al.</i> (2005)	1
Yagi <i>et al.</i> (2009)	2	Kikuchi <i>et al.</i> (2004)	2
Pradeep & Patel (2009)	1, 2	Al-Darmaki <i>et al.</i> (2004)	1, 2

Maney & Walters (2009)	2	Sakamoto <i>et al.</i> (2004)	2
Corraini <i>et al.</i> (2009)	2	Fujise <i>et al.</i> (2004)	2
Bostanci <i>et al.</i> (2009)	1, 2	Park <i>et al.</i> (2004)	1, 2
Iwata <i>et al.</i> (2009)	1, 2	Gronert <i>et al.</i> (2004)	1, 2
Kimizuka <i>et al.</i> (2009)	1	Kinane & Hart (2003)	1
Rabin <i>et al.</i> (2009)	1	Araya <i>et al.</i> (2003)	1
de Carvalho <i>et al.</i> (2009)	1	Velliyagounder <i>et al.</i> (2003)	1
Chaturvedi (2009)	2	Cortelli <i>et al.</i> (2003)	2
Vanden <i>et al.</i> (2009)	1, 2	Poulsen <i>et al.</i> (2003)	1, 2
Bilichodmath <i>et al.</i> (2009)	2	Lakio <i>et al.</i> (2003)	2
Maney <i>et al.</i> (2009)	2	Schreiner <i>et al.</i> (2003)	2
Potempa <i>et al.</i> (2009)	1, 2	Al-Darmaki <i>et al.</i> (2003)	1, 2
Xynogala <i>et al.</i> (2009)	1, 2	Sakamoto <i>et al.</i> (2003)	1, 2
Schaefer <i>et al.</i> (2009)	1	Henderson <i>et al.</i> (2002)	1
Menezes & Colombo (2008)	1	Dickinson (2002)	1
Johnson <i>et al.</i> (2008)	1	Cacchillo & Walters (2002)	1
Oscarsson <i>et al.</i> (2008)	2	Barbour <i>et al.</i> (2002)	2
Atkinson <i>et al.</i> (2008)	1	Sela (2001)	1, 2
Kebschull <i>et al.</i> (2009)	1	Kaplan <i>et al.</i> (2002)	2
Costa <i>et al.</i> (2008)	2	Guthmiller <i>et al.</i> (2001)	2
Guzeldemir <i>et al.</i> (2008)	1	Bártová <i>et al.</i> (2000)	1, 2
Puklo <i>et al.</i> (2008)	1		

EBSCOhost

Autor/ano	Motivo exclusão	Autor/ano	Motivo exclusão
Aimetti <i>et al.</i> (2011)	1, 2	Frydman & Nowzari (2012)	1
Al-Habashneh <i>et al.</i> (2009)	1	Graswinckel <i>et al.</i> (2004)	1, 2
Al-Jundi <i>et al.</i> (2011)	2	Grenier <i>et al.</i> (2009)	1
Amano (2010)	1, 2	Griffiths <i>et al.</i> (2011)	1, 2
Amel <i>et al.</i> (2009)	2	Guarnelli <i>et al.</i> (2010)	1, 2
Ando <i>et al.</i> (2010)	2	Guentsch <i>et al.</i> (2009)	1
Barrow (2010)	1, 2	Hägewald <i>et al.</i> (2002)	1, 2
Berezow & Darveau (2011)	2	Heitz-Mayfield & Lang (2010)	2
Berglundh & Donati (2005)	1	Heitz-Mayfield (2009)	2
Bhattacharjee <i>et al.</i> (2011)	1, 2	Heller <i>et al.</i> (2011)	1, 2
Bidault <i>et al.</i> (2007)	1	Hooshmand <i>et al.</i> (2008)	1
Bilichodmath <i>et al.</i> (2009)	1, 2	Hua <i>et al.</i> (2010)	1, 2
Bodur <i>et al.</i> (2001)	1	Huang <i>et al.</i> (2003)	2

Bowen & Denise (2011)	1, 2	Hui <i>et al.</i> (2011)	1
Buchmann <i>et al.</i> (2002)	2	Hui-Wen <i>et al.</i> (2005)	2
Buchmann <i>et al.</i> (2010)	1	Jaramillo <i>et al.</i> (2005)	2
Carvalho <i>et al.</i> (2009)	2	Ji <i>et al.</i> (2007)	2
Castillo <i>et al.</i> (2011)	2	Kachlany (2010)	2
Cavalcante <i>et al.</i> (2009)	2	Kamma & Baehni (2003)	1, 2
Chambrone & Chambrone (2010)	2	Kamma & Slots (2003)	2
Christan <i>et al.</i> (2002)	1, 2	Kamma <i>et al.</i> (2006)	1
Cortelli <i>et al.</i> (2005)	2	Kinane & Hart (2003)	1
Cortelli <i>et al.</i> (2010)	1	Kinane & Bouchard (2008)	1
Cosgarea <i>et al.</i> (2010)	1	Konstantinidis <i>et al.</i> (2005)	1, 2
Cosgarea <i>et al.</i> (2010)	1	Kubar <i>et al.</i> (2005)	1
da Silva-Boghossian <i>et al.</i> (2011)	1, 2	Kuboniwa <i>et al.</i> (2010)	1, 2
Dashper <i>et al.</i> (2011)	1	Kubota <i>et al.</i> (2011)	2
Dimou <i>et al.</i> (2010)	1, 2	Lakhssassi <i>et al.</i> (2005)	1
Drescher <i>et al.</i> (2010)	2	López & Baelum (2010)	2
Durga & Vandana (2010)	1	López & Baelum, (2011)	2
Eickholz <i>et al.</i> (2005)	2	Meng <i>et al.</i> (2011)	2
Elamin <i>et al.</i> (2011)	2	Miura <i>et al.</i> (2005)	2
Emrani <i>et al.</i> (2009)	2	Mizuno <i>et al.</i> (2011)	1, 2
Faveri <i>et al.</i> (2008)	2	Mros & Berglundh (2010)	2
Fine <i>et al.</i> (2006)	1, 2	Nibali <i>et al.</i> (2007)	1
Fritschi <i>et al.</i> (2008)	2	Nishihara & Koseki (2011)	1
Oh <i>et al.</i> (2002)	1	Noack & Hoffmann (2004)	1
Olsen & Dahlén (2004)	1	Noack <i>et al.</i> (2008)	1, 2
Osawa <i>et al.</i> (2007)	2	Nussbaum & Shapira (2011)	1
Oteo <i>et al.</i> (2010)	1	Takada <i>et al.</i> (2010)	1, 2
Ozturk & Vieira (2009)	2	Takahashi <i>et al.</i> (2011)	2
Paksoy <i>et al.</i> (2008)	2	Takashima <i>et al.</i> (2010)	1
Papapanou <i>et al.</i> (2004)	2	Takeuchi <i>et al.</i> (2006)	1
Park <i>et al.</i> (2008)	2	Takeuchi-Hatanaka <i>et al.</i> (2008)	1
Patil <i>et al.</i> (2006)	1, 2	Tan <i>et al.</i> (2001)	1, 2
Pawlowski <i>et al.</i> (2005)	2	Tan <i>et al.</i> (2002)	2
Picolos <i>et al.</i> (2005)	1	Teles <i>et al.</i> (2012)	2
Pinheiro <i>et al.</i> (2011)	1	Tew <i>et al.</i> (2012)	2
Puklo <i>et al.</i> (2008)	1	Thöne-Mühling <i>et al.</i> (2012)	1, 2
Rajan <i>et al.</i> (2010)	1, 2	Toker <i>et al.</i> (2008)	2
Reichert <i>et al.</i> (2002)	1	Trevilatto <i>et al.</i> (2002)	1
Reichert <i>et al.</i> (2008)	1, 2	Tsang <i>et al.</i> (2005)	1, 2
Reichert <i>et al.</i> (2011)	2	Tsurudome (2003)	1

Roman-Torres <i>et al.</i> (2010)	1	Tsuzukibashi <i>et al.</i> (2008)	1, 2
Rufail <i>et al.</i> (2007)	2	Türkoğlu <i>et al.</i> (2011)	1
Rylev & Kilian (2008)	2	Tymkiw <i>et al.</i> (2011)	1, 2
Rylev <i>et al.</i> (2011)	2	Vaidya <i>et al.</i> (2012)	2
Sabeti <i>et al.</i> (2003)	2	van Winkelhoff (2005)	1
Sahingur <i>et al.</i> (2011)	1, 2	Veerabahu <i>et al.</i> (2011)	2
Sakellari <i>et al.</i> (2011)	2	Veerabahu <i>et al.</i> (2011)	2
Sanz <i>et al.</i> (2004)	1, 2	Verdugo <i>et al.</i> (2011)	2
Saygun <i>et al.</i> (2008)	1	Verner <i>et al.</i> (2006)	2
Saygun <i>et al.</i> 2011	1	Wade (2011)	1, 2
Schaefer <i>et al.</i> (2010)	1, 2	Wang <i>et al.</i> (2005)	2
Schulz <i>et al.</i> (2008)	1	Wang <i>et al.</i> (2009)	1
Schulz <i>et al.</i> (2010)	1, 2	Wu <i>et al.</i> (2009)	1, 2
Shankar <i>et al.</i> (2011)	2	Xynogala <i>et al.</i> (2009)	1, 2
Sharma & Whatling (2011)	1	Sharma (2010)	1
Slots <i>et al.</i> (2006)	2	Shimomura-Kuroki <i>et al.</i> (2009)	1, 2
Stein <i>et al.</i> (2008)	2	Slim (2005)	2
Stingu <i>et al.</i> (2008)	2	Slots (2004)	1
Sun <i>et al.</i> (2011)	2	Slots (2010)	2
Slots <i>et al.</i> (2003)	1, 2		

Cochrane Central

Autor/ano	Motivo exclusão	Autor/ano	Motivo exclusão
Cazzaniga <i>et al.</i> (2005)	1, 2	Manresa <i>et al.</i> (2011)	2
Crowther <i>et al.</i> (2005)	2	Needleman <i>et al.</i> (2006)	1, 2
Eberhard <i>et al.</i> (2008)	1	Sambunjak <i>et al.</i> (2011)	2
Esposito <i>et al.</i> (2009)	2	Simpson <i>et al.</i> (2010)	1
Kuteyi & Okwundu (2012)	2	Suvan <i>et al.</i> (2004)	1, 2
Li <i>et al.</i> (2011)	2		

Triagem secundária - Foram excluídos 16 estudos, nomeadamente:

PubMed/MEDLINE

Autor/ano	Motivo exclusão	Autor/ano	Motivo exclusão
Eriksen <i>et al.</i> (2005)	3	Seki <i>et al.</i> (2008)	5
Fine <i>et al.</i> (2007)	4, 5	Stingu <i>et al.</i> (2008)	5
Fine <i>et al.</i> (2010)	3, 4	Teles <i>et al.</i> (2010)	5

EBSCOhost

Autor/ano	Motivo exclusão	Autor/ano	Motivo exclusão
Armitage (2010)	5	Haubek <i>et al.</i> (2009)	3, 5
Casarin <i>et al.</i> (2010)	4, 5	Shaddox <i>et al.</i> (2010)	4, 5
Claesson <i>et al.</i> (2011)	3	Stingu <i>et al.</i> (2012)	5
Faveri <i>et al.</i> (2009)	4	Varela <i>et al.</i> (2011)	3, 5

Revistas científicas

Autor/ano	Motivo exclusão
Sirinian <i>et al.</i> (2002)	5
Timmerman <i>et al.</i> (2001)	5

1. Não apresentam dados microbiológicos;
2. A informação não se enquadra no âmbito da etiologia e patogenia da PA;
3. Falta de dados microbiológicos específicos relativamente a bactérias;
4. Falta de análise de espécies da microbiota subgingival relativas à PA;
5. Não cumprem com a totalidade dos critérios de inclusão previamente estabelecidos.