

PERIODONTITE CRÔNICA E AGRESSIVA: PREVALÊNCIA SUBGENGIVAL E FREQUÊNCIA DE OCORRÊNCIA DE PATÓGENOS PERIODONTAIS

CHRONIC AND AGGRESSIVE PERIODONTITIS: SUBGINGIVAL PREVALENCE AND FREQUENCY OF PERIODONTAL PATHOGENS

José Roberto Cortelli

Departamento de Odontologia da Universidade de Taubaté

Sheila Cavalca Cortelli

Departamento de Odontologia da Universidade de Taubaté
Universidade de Guarulhos

RESUMO

Determinou-se em indivíduos com periodontite crônica e agressiva a prevalência e a frequência de ocorrência de *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *B. forsythus* e *C. rectus*. Foram incluídos 203 indivíduos, 178 com periodontite crônica (PC) e 25 com periodontite agressiva (PA). Amostras subgingivais, coletadas dos sítios com as maiores medidas de profundidade à sondagem e perda de inserção clínica, foram avaliadas por ensaio *Dot Blot*. *A. actinomycetemcomitans* foi observado em 72% e 41%, *P. gingivalis* em 80% e 68%, *P. intermedia* em 52% e 53%, *B. forsythus* em 56% e 45%, e *C. rectus* em 48% e 30% respectivamente nos indivíduos com PA e PC. Houve diferença estatisticamente significativa entre a ocorrência de *A. actinomycetemcomitans* ($Z = 3,134$) e *C. rectus* ($Z = 1,671$), ambas bactérias mais prevalentes em indivíduos com PA ($p < 0,05$). Em indivíduos com PC foi observada maior frequência para ocorrência simultânea de 3 dentre as 5 espécies pesquisadas, enquanto os indivíduos com PA exibiram maior frequência para ocorrência de 2 bactérias. Conclui-se que na população estudada foi observada prevalência elevada de patógenos periodontais com ocorrência mais freqüente de 2 ou 3 espécies bacterianas.

PALAVRAS-CHAVES: prevalência; periodontite; bactérias.

INTRODUÇÃO

A periodontite crônica representa uma doença infecciosa resultante de inflamação dos tecidos de suporte dos dentes e perda progressiva de inserção conjuntiva. O início da periodontite crônica pode ocorrer em qualquer idade, todavia, essa é uma patologia mais freqüentemente encontrada em adultos. Por outro lado, a periodontite agressiva acomete indivíduos saudáveis sendo caracterizada por severa perda de inserção clínica associada à rápida destruição óssea alveolar (ACADEMIA AMERICANA DE PERIODONTIA, 1999). Embora ambas patologias envolvam microrganismos em sua etiologia, as bolsas periodontais de indivíduos com periodontite agressiva parecem ser colonizadas por um número mais limitado de espécies microbianas; enquanto as bolsas periodontais de indivíduos com periodontite crônica parecem representar ambientes mais complexos no que se refere à diversidade de espécies bacterianas (ZAMBON, 1994; ACADEMIA AMERICANA DE PERIODONTIA, 1999).

Apesar de muitos microrganismos bucais receberem a definição de periodontopatógenos, apenas um número reduzido de bactérias é responsável pela infecção dos tecidos periodontais. Estes poucos microrganismos pertencem às mais de 400 espécies de bactérias capazes de colonizar a cavidade bucal em seus mais variados locais (MOORE; MOORE, 1994). E, alguns estudos demonstraram que são estes microrganismos que apresentam capacidade de induzir o desenvolvimento de gengivites e periodontites em humanos (MOORE; MOORE, 1994; SOCRANSKY; HAFFAJEE, 2002). Especialmente as periodontites, estão fortemente associadas à presença de

Actinobacillus actinomycetemcomitans, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Eikenella corrodens*, *Bacteroides forsythus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Capnocytophaga spp*, *Peptostreptococcus micros*, *Campylobacter rectus* (KORNMAN et al., 1991; DARVEAU et al., 1997).

Na verdade, as espécies bacterianas apresentam ocorrências diversas quando se considera diferentes populações (SCHENKEIN et al., 1993), indicando assim uma interferência genética na composição da microbiota bucal. Além disso, como a resposta imune pode variar entre indivíduos a resposta tecidual frente à presença destes patógenos também torna-se distinta.

Muitas regiões apresentam diferenças demográficas, ambientais, e também características ecológicas que levam a padrões distintos na doença periodontal. Estudos clínicos e microbiológicos longitudinais realizados em países em desenvolvimento verificaram que a ocorrência de alguns microrganismos nas populações alvo não foi suficiente para produzir doença periodontal (ALI et al., 1997, PAPAPANOU et al., 1997). Apesar da indefinição em relação a que espécies bacterianas ou quais combinações de microrganismos são requeridas para induzir doença periodontal, certas espécies são reconhecidas como patógenos periodontais verdadeiros (GENCO et al., 1986; TANNER, 1991).

O objetivo do presente estudo foi determinar em indivíduos com periodontite crônica e agressiva a prevalência na frequência de ocorrência de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus*, and *Campylobacter rectus*.

MATERIAL E MÉTODO

População

Duzentos e três indivíduos, de 15 a 69 anos de idade, previamente diagnosticados com periodontite crônica (178) e agressiva (25) foram incluídos no presente estudo de acordo com critérios clínicos e radiográficos de profundidade à sondagem, perda de inserção clínica e reabsorção óssea alveolar, estabelecidos pela Academia Americana de Periodontia em 1999.

Indivíduos utilizando medicação sistêmica antibiótica, ou tendo recebido terapia periodontal previamente ao início do estudo foram excluídos do trabalho. Todos os indivíduos participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da UNITAU.

Análise microbiológica

Após a remoção da placa bacteriana supragengival, amostras subgengivais foram coletadas dos sulcos gengivais ou bolsas periodontais dos primeiros e segundos molares e incisivos com pontas de papel esterilizadas (Johnson&Johnson). As pontas de papel absorvente foram mantidas em posição por 30 segundos, removidas e imediatamente colocadas em tampão fosfato (pH 7,4). O processamento das amostras realizado logo em seguida está brevemente descrito:

1. Isolamento do DNA bacteriano – matriz comercial de purificação *Instagene* Bio Rad Laboratories
2. Amplificação da porção 16S do DNA ribossômico – Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)
3. Análise das porções amplificadas – eletroforese em gel (agarose 1%)
4. Hibridização com sondas de oligonucleotídeos - ensaio *Dot-blot*
A. actinomycetemcomitans: CACTTAAAGGTCGGCCTACGTGCC;
P. gingivalis: GCAGTTTCAACGGCAGGGCTGAA CG;
P. intermedia: GGTCTTATTTCGAAGGGTAAATGC;
B. forsythus: CGTATCTCATTTTATTCCCCTGTA;
C. rectus: CGGAGCGTAAACTCCTTTTC
5. Visualização das membranas - detecção colorimétrica.

Os dados foram analisados estatisticamente utilizando-se testes Z e Qui-quadrado considerando-se $p < 0,05$.

RESULTADOS

O teste Qui-quadrado não demonstrou associação entre gênero e diagnóstico periodontal nem entre gênero e a ocorrência de patógenos periodontais ($p < 0,05$).

Tabela 1- População estudada de acordo com idade, gênero e diagnóstico periodontal

		Agressiva	Crônica	Total
idade \pm dp		21,84 \pm 4,7	39,12 \pm 10,5	37,0 \pm 11,47
Gênero	Fem.	19	113	132
	Masc.	6	65	71
	Total	25	178	203

dp = desvio padrão

Tabela 2 - Diferenças nas proporções de *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *B. forsythus* e *C. rectus* segundo o diagnóstico periodontal

Bactéria	Agressiva	Crônica	Z	P
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	72%	41,6%	3,134	0,001*
<i>P. gingivalis</i>	80%	68,0%	1,377	0,084
<i>P. intermedia</i>	52%	53,4%	0,128	0,449
<i>B. forsythus</i>	56%	45,5%	0,989	0,161
<i>C. rectus</i>	48%	30,3%	1,671	0,047*

*estatisticamente significativa

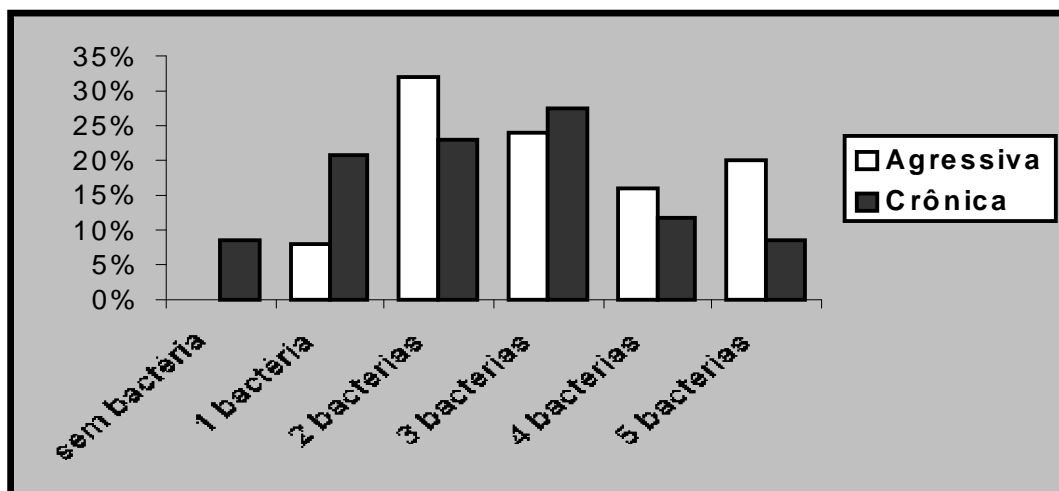


Figura 1 - Frequência de ocorrência por indivíduo, segundo o diagnóstico periodontal, das espécies bacterianas analisadas. Foi considerada a ocorrência simultânea entre 0 e 5 bactérias

DISCUSSÃO

Estudos epidemiológicos têm mostrado que, em adultos, a doença periodontal é mais prevalente em indivíduos do gênero masculino. Todavia, dados referindo-se à prevalência de doença periodontal em crianças e adolescentes parecem menos consistentes, existindo algumas discordâncias referentes a possível preferência de acometimento entre os indivíduos do gênero masculino. O efeito do gênero como fator de risco para a periodontite em adolescentes e adultos jovens pode ser dependente do critério estabelecido para a caracterização da doença. De acordo com estudo conduzido em 600 adultos jovens brasileiros, correlação positiva foi observada entre o gênero feminino e a ocorrência de periodontite agressiva localizada e generalizada utilizando-se o critério de perda de inserção clínica \geq 4mm (CORTELLI et al., 2002). No presente estudo, o gênero não exerceu influência sobre o diagnóstico periodontal, nem sobre a ocorrência de patógenos periodontais.

Existe um consenso na literatura científica de que a presença do biofilme dentário é um pré-requisito fundamental para o início e progressão das doenças periodontais. Todavia, algumas espécies bacterianas apresentam características importantes na patogênese da doença em decorrência de alguns fatores de virulência diretamente relacionados à inibição da defesa do hospedeiro como também a ativação de mediadores da inflamação relacionados principalmente à perda óssea alveolar (WOLFF et al. 1994). Socransky e Haffajee (1994) sugeriram que a microbiota associada à periodontite ativa consiste basicamente em um número aumentado de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus*, *Campylobacter rectus*, *Eubacterium nodatum* e *Treponema* spp. O presente estudo investigou a presença de cinco patógenos periodontais em indivíduos diagnosticados com periodontite crônica e agressiva. Embora elevados, os dados prevalentes observados no presente estudo estão de acordo com os achados de outros autores. Estudos microbiológicos prévios realizados em diferentes regiões do Brasil focalizando estas duas patologias periodontais têm demonstrado alta prevalência destes microrganismos, especialmente em indivíduos não tratados, o que enfatiza a participação destes patógenos na instalação e progressão da doença periodontal (LOTUFO et al., 1994; TINOCO; BELDI; LOUREIRO, 1997). Ao se avaliar a presença de *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus*, e *Campylobacter rectus* constatou-se que estes patógenos prevaleceram de forma semelhante ao descrito em outros estudos, tanto nos casos de periodontite crônica como agressiva (ACADEMIA AMERICANA DE PERIODONTIA, 1999). Houve diferença estatisticamente significativa apenas entre as proporções de *Actinobacillus actinomycetemcomitans* e *Campylobacter rectus*, tendo ambas as espécies sido mais freqüentemente encontradas nos casos de periodontite agressiva.

Apesar de ter havido alta prevalência para todas as cinco bactérias examinadas, como observado na Tabela 2, o microrganismo mais prevalente tanto na periodontite crônica (68,0%) como na agressiva (80,0%) foi *Porphyromonas gingivalis*, que tem sido associado a lesões periodontais, na ordem de 34 a 94%, em indivíduos com periodontite agressiva não tratada (MANDELL; EBERSOLE; SOCRANSKY, 1987; LOPEZ et al., 1996). Por outro lado, quando o diagnóstico estabelecido é periodontite crônica, 48 a 100% das bolsas periodontais parecem ser habitadas por esse microrganismo (DI MURRO et al., 1997; PAPAPANOU et al., 1997). *Actinobacillus actinomycetemcomitans* é um microrganismo diretamente associado a periodontite agressiva. Confirmando esta afirmação, estudos relataram isolar *Actinobacillus actinomycetemcomitans* em proporções elevadas alcançando até 100% das lesões periodontais não tratadas de indivíduos entre 12 e 18 anos de idade, com esta entidade patológica (DI RIENZO et al., 1994; TINOCO; BELDI; LOUREIRO, 1997). No presente estudo *Actinobacillus actinomycetemcomitans* foi detectado em 72% dos indivíduos com periodontite agressiva.

Sabe-se que a bolsa periodontal é um ecossistema fechado habitado por diferentes espécies microbianas as quais convivem harmonicamente. Em relação à diversidade de espécies bacterianas, a periodontite crônica parece representar um ambiente mais complexo quando comparada a periodontite agressiva (ZAMBON, 1994; ACADEMIA AMERICANA DE PERIODONTIA, 1999). Assim, a periodontite crônica oferece maiores dificuldades no que se refere ao estabelecimento exato do papel de um microrganismo isolado dentro da patogênese periodontal. Independente de qual ou quais espécies foi avaliada a freqüência de ocorrência, entre 0 e 5 bactérias. Para os casos de periodontite crônica foi observada maior freqüência para a ocorrência de 3 bactérias enquanto os indivíduos com periodontite agressiva exibiram maior freqüência de ocorrência para 2 espécies bacterianas. Estes dados poderiam confirmar uma diversidade de espécies mais acentuada quando se analisa

indivíduos com periodontite crônica. Entretanto, deve-se considerar que amostras subgingivais negativas para as 5 espécies bacterianas foram encontradas exclusivamente neste tipo de patologia. Além disso, indivíduos com periodontite agressiva exibiram em um número mais elevado de casos, ocorrência de 5 bactérias.

CONCLUSÃO

Após a realização do presente trabalho, pode-se concluir que na população estudada foi observada prevalência elevada de patógenos periodontais com ocorrência mais freqüente de 2 ou 3 espécies bacterianas, confirmando achados microbiológicos previamente descritos em indivíduos com periodontite crônica e agressiva. Assim, o diagnóstico precoce de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus*, *Campylobacter rectus* pode constituir ferramenta importante no estabelecimento de um plano de tratamento compatível com os preceitos terapêuticos periodontais atuais.

ABSTRACT

The purpose of this study was to determine the prevalence and the frequency of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus* and *Campylobacter rectus* in Brazilian cohort with chronic and aggressive periodontitis. Subgingival plaque samples were collected from 203 individuals, 178 chronic and 25 aggressive periodontitis. The bacterial samples obtained from periodontal pockets showed high measurements of clinical attachment loss. Dot-blot assay was performed to identify plaque samples. The data were analyzed through Z and Chi-square tests ($p < 0,05$). The results showed that *A. actinomycetemcomitans* was observed in 72% and 41%, *P.gingivalis* in 80% and 68%, *P.intermedia* in 52% and 53%, *B.forsythus* in 56% and 45%, and *C.rectus* in 48% and 30%. There was significant difference between *A. actinomycetemcomitans* ($Z=3,134$) and *C.rectus* ($Z=1,671$). In chronic periodontitis 3 bacteria occurred more frequently, and in aggressive periodontitis most of individuals showed 2 bacteria. The authors concluded that *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus*, *Campylobacter rectus* were observed in high numbers in matched population.

KEY WORDS: prevalence; periodontitis; bacteria.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALI, R. W. et al. Comparison of the subgingival microbiota of periodontally healthy and diseased adults in northern Cameroon. *J. Clin. Periodontol.*, v. 24, p. 830-835, 1997.

ACADEMIA AMERICANA DE PERIODONTIA. *Annals of Periodontology.*, v. 4, p. 32-37, 1999.

CORTELLI, J. R. et al. Prevalência de periodontite agressiva em adolescentes e adultos jovens do Vale do Paraíba. *Pesqui. Odontol. Brás.*, v. 16, p. 162-168, 2002.

DARVEAU, R. P. et al. The microbial challenge in periodontitis. *Periodontol 2000.*, v. 14, p. 12-32, 1997.

DI RIENZO, J. M. et al. Specific genetic variants of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* correlate with disease and health in a regional population of families with localized juvenile periodontitis. *Infect. Immun.*, v. 62, p. 3058-3065, 1994.

DI MURRO, C. et al. Occurrence of *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus*, and *Treponema denticola* in periodontally healthy and diseased subjects as determined by an ELISA technique. *J. Periodontol.*, v. 68, p.18-23, 1997.

GENCO, R. J. et al. Use and interpretation of microbiological assays in periodontal diseases. *Oral Microbiol. Immunol.*, v. 1, p.73-79,1986.

- KORNMAN, K. et al. Clinical and microbiological patterns of adults with periodontitis. *J. Periodontol.*, v. 62, p. 634-642, 1991.
- LÓPEZ, N. J. et al. Occurrence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *porphyromonas gingivalis* and *Prevotella intermedia* in juvenile periodontitis. *J. Clin. Periodontol.*, v. 23, p. 101-105, 1996.
- LOTUFO, R. F. et al. Molecular detection of *Bacteroides Forsythus* in human periodontitis. *Oral Microbiol. Immunol.*, v. 9, p. 154-160, 1994.
- MANDELL, R. L.; EBERSOLE, J. L.; SOCRANSKY, S. S. Clinical, immunologic and microbiologic features of active disease sites in juvenile periodontitis. *J. Clin. Periodontol.*, v. 14, p. 534-540, 1987.
- MOORE, W. E. C.; MOORE, L. V. H. The bacteria of periodontal diseases. *Periodontology 2000.*, v. 5, p. 66-77, 1994.
- PAPAPANOU, P. N. et al. Subgingival microbiota in adult Chinese: Prevalence and relation to periodontal disease progression. *J. Periodontol.*, v. 68, p. 651-666, 1997.
- SCHENKEIN, H. et al. The influence of race and gender on periodontal microflora. *J. Clin. Periodontol.*, v. 64, p. 292-296, 1993.
- SOCRANSKY, S. S.; HAFFAJEE, A. D. Evidence of bacterial etiology: a historical perspective. *Periodontology 2000.*, v. 5, p. 7-25, 1994.
- SOCRANSKY, S. S.; HAFFAJEE, A. D. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontology 2000.*, v. 28, p. 12-55, 2002.
- TANNER, C. Microbial succession in the development of periodontal disease. In: HAMADA S.; HOLT S. C.; MCGHEE JUNIOR, (eds.) *Periodontal Disease: Pathogens and Host Immune Responses*. Tokyo: Quintessence Publishing, 1991. p. 13-25.
- TINOCO, EMB., BELDI, MI., LOUREIRO, CA. Localized juvenile periodontitis and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in a Brazilian population. *Eur. J. Oral Sci.*, v. 105, p. 9-14, 1997.
- ZAMBON, J.J. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in adult periodontitis. *J Periodontol*, v. 65, p. 892-893, 1994.
- WOLFF, L. et al. Bacteria as risk markers for periodontitis. *J. Periodontol.*, v. 64, p. 498-510, 1994.