

# OCORRÊNCIA DE *Actinobacillus actinomycetemcomitans* NA DOENÇA PERIODONTAL

## OCCURRENCE OF *Actinobacillus actinomycetemcomitans* IN PERIODONTAL DISEASE

**José Roberto Cortelli**

**Sheila Cavalca Cortelli**

Departamento de Odontologia da Universidade de Taubaté

**Antonio Olavo Cardoso Jorge**

Departamento de Odontologia da Universidade de Taubaté

Faculdade de Odontologia de São José dos Campos/UNESP

### RESUMO

*Actinobacillus actinomycetemcomitans* é um bastonete Gram negativo, pequeno, não formador de esporo, imóvel, anaeróbio facultativo que se desenvolve melhor em condições de anaerobiose. Este microrganismo pode ser encontrado em menores proporções na cavidade bucal de indivíduos saudáveis ou com gengivite, e em proporções mais elevadas quando da presença de periodontites. O objetivo do presente estudo foi avaliar a ocorrência subgengival de *A. actinomycetemcomitans* em 139 indivíduos com gengivite, periodontite agressiva e periodontite crônica da região do Vale do Paraíba. Estes indivíduos foram submetidos a exame clínico periodontal e diagnosticados de acordo com os critérios estabelecidos pela Academia Americana de Periodontia (AAP, 1999). Para a análise microbiológica foram selecionados no mínimo 2 dentes para cada indivíduo, e a presença de *A. actinomycetemcomitans* foi determinada por meio de cultura bacteriana. O microrganismo foi encontrado em proporções mais elevadas nos casos de periodontite agressiva localizada (60%) e generalizada (54,5%), seguida dos casos de periodontite crônica avançada (21,2%) e moderada (17,2%) e, por último, nos indivíduos com gengivite (10%). Com base nos resultados observados, pode-se concluir que a ocorrência subgengival de *A. actinomycetemcomitans* encontrada foi de 10%, 56,25% e 19,54%, respectivamente, nos indivíduos diagnosticados com gengivite, periodontite agressiva e periodontite crônica.

PALAVRAS-CHAVE: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*; gengivite; periodontite agressiva; periodontite crônica.

### INTRODUÇÃO

*Actinobacillus actinomycetemcomitans* é um bastonete Gram negativo, pequeno, não formador de esporo, imóvel, anaeróbio facultativo (SLOTS, 1994) que se desenvolve melhor em condições de anaerobiose, principalmente na temperatura de 37 °C (SLOTS, 1982c). Crianças periodontalmente saudáveis mostram ocorrência de *A. actinomycetemcomitans* de 0 a 26% (CONRADS *et al.*, 1996, CHEN *et al.*, 1997), enquanto nos indivíduos jovens acometidos com doença periodontal esta ocorrência pode variar de 40% a 100% (LÓPEZ *et al.*, 1996, CLEREHUGH *et al.*, 1997).

A periodontite juvenil localizada (AAP, 1989), atualmente chamada periodontite agressiva localizada (AAP, 1999), é a forma de doença periodontal mais associada à presença deste patógeno. Em alguns estudos em indivíduos com esta periodontite, *A. actinomycetemcomitans* foi isolado de bolsas periodontais ativas numa proporção de 75 a 100% (ZAMBON; CHRISTERSSON; SLOTT, 1983, ZAMBON *et al.*, 1996). Periodontite agressiva localizada caracteriza-se ainda por rápida e severa perda óssea alveolar, podendo apresentar, nos indivíduos afetados, pouca quantidade de placa bacteriana e cálculo aderidos sobre as superfícies dentárias. De modo distinto, a forma generalizada da periodontite agressiva (AAP, 1999) mostra pronunciados episódios de

destruição periodontal, apresenta sinais mais evidentes de inflamação dos tecidos periodontais e maior quantidade de placa bacteriana e cálculo dental, em relação à periodontite agressiva localizada (PAGE, 1983).

Indivíduos adultos com saúde periodontal parecem não apresentar níveis subgingivais detectáveis de *A. actinomycetemcomitans*, enquanto estudos realizados em indivíduos com periodontite crônica demonstram uma ocorrência deste patógeno de 10% a 50% (PAPAPANOU *et al.*, 1997, LIE *et al.*, 1998, LEE *et al.*, 1999). A periodontite crônica é a forma de doença periodontal destrutiva mais comum em adultos, embora possa acometer indivíduos jovens. A patologia, em geral, progride lentamente e apresenta relação com a presença de irritantes locais o que se mostra compatível com a severidade da doença (AAP, 1999). *A. actinomycetemcomitans* pode ainda ser detectado em proporções variáveis em quadros de gengivite em que há exclusivamente o acometimento dos tecidos de proteção do elemento dentário (MÜLLER *et al.*, 1993; LIE *et al.*, 1995; AMANO *et al.*, 2001). Nesses casos, existe a presença de evidências clínicas de inflamação, as quais podem ser substancialmente modificadas por algumas alterações sistêmicas, uso de medicamentos e presença de fatores locais que promovam um acúmulo acentuado de placa bacteriana (AAP, 1999).

A tabela 1 mostra os dados prevalentes de *A. actinomycetemcomitans* em diferentes formas de doença periodontal de acordo com diferentes autores.

**TABELA 1** - Dados percentuais de *A. actinomycetemcomitans* em indivíduos com gengivite, periodontite agressiva e periodontite crônica

<b>Autores</b>	<b>Faixa Etária</b>	<b>Diagnóstico Periodontal</b>	<b>Número de Indivíduos Examinados</b>	<b>% de Indivíduos A.a Positivos</b>
Amano <i>et al.</i> , 2001	20 - 35	Gengivite: síndrome Down	28	82,1
Mombelli <i>et al.</i> , 1995	19 - 35	Gengivite	33	3
Lie <i>et al.</i> , 1995	19 - 35	Gengivite	13	0
Müller <i>et al.</i> , 1993	19 - 35	Gengivite	10	10
Amano <i>et al.</i> , 2001	20 - 35	Periodontite: síndrome Down	39	82,1
Choi <i>et al.</i> , 2000	29 - 49	PC avançada	29	71
Kamma <i>et al.</i> , 2000	25 - 35	PA	30	10
Mombelli <i>et al.</i> , 1999	Jovens e adultos	P avançada	185	63
Söder <i>et al.</i> , 1999	Adultos	Periodontite severa	64	17,18
Takamatsu <i>et al.</i> , 1999	Adultos	PC moderada a avançada	26	7,7
Eggert <i>et al.</i> , 1998	35 - 55	PC	253	23,9
Haffajee <i>et al.</i> , 1998	Adultos	PC	138	17
Papapanou <i>et al.</i> , 1997	30 - 59	Doença periodontal	148	37,7
Renvert <i>et al.</i> , 1997	40 - 60	P avançada	16	8,9
Tinoco <i>et al.</i> , 1997	12 - 18	PA localizada	25	80
Lopez <i>et al.</i> , 1996	19 - 35	PA localizada	18	39
		PA generalizada	06	0
Dahlén <i>et al.</i> , 1996	28 - 54	P avançada	16	50
Lopez <i>et al.</i> , 1995	12 - 18	PA localizada	10	40
		PA generalizada	05	50
Müller <i>et al.</i> , 1995	Adultos	PC	32	24
Zambon <i>et al.</i> , 1983	12 - 18	PA localizada	29	97
	21 - 78	PC	134	20,8

PC – periodontite crônica

PA localizada – periodontite agressiva localizada

PA generalizada – periodontite agressiva generalizada

O objetivo do presente estudo foi avaliar a ocorrência subgingival de *A. actinomycetemcomitans* em 139 indivíduos com gengivite, periodontite agressiva e periodontite crônica da região do Vale do Paraíba, SP.

## MATERIAL E MÉTODO

Foram examinados 139 indivíduos de 15 a 72 anos de idade, de ambos os sexos, fumantes e não fumantes, por meio de sondagem clínica periodontal realizada em 6 pontos por dente a fim de se estabelecer o diagnóstico periodontal de acordo com os critérios propostos pela Academia Americana de Periodontia (1999). O protocolo deste estudo foi previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Taubaté, e os participantes assinaram termo de consentimento após explanação sobre os objetivos da pesquisa. A todos os pacientes participantes do estudo foi oferecido tratamento clínico na Disciplina de Periodontia do Departamento de Odontologia da UNITAU.

Para a análise microbiana foram selecionados no mínimo dois dentes para cada paciente, preferencialmente primeiros molares e/ou incisivos, nos casos de periodontite agressiva. Para a seleção dos sítios, dentre os pacientes com gengivite ou periodontite crônica foram considerados os valores de profundidade de sondagem e sinais clínicos de inflamação gengival. Cada dente foi isolado com roletes de gaze, e a placa bacteriana supragengival, removida com algodão esterilizado. Cinco pontas de papel absorvente nº 30 (Tanari) também esterilizadas foram inseridas na porção mais apical da bolsa periodontal, com o auxílio de pinças clínicas, e mantidas no local por 15 segundos (RENVERT *et al.*, 1992). As pontas de papel foram transferidas para recipiente contendo 1ml de solução de Ringer reduzida (SLOTS; REYNOLDS; GENCO, 1980) e as amostras foram transferidas para o laboratório de Microbiologia da Universidade de Taubaté, onde foram processadas.

Após homogeneização em agitador mecânico (Phoenix, AP 56) por sessenta segundos (SLOTS; REYNOLDS; GENCO, 1980), alíquotas de 0,1ml das amostras foram semeadas com alça Drigalsky, em duplicata, na superfície de placas de ágar soja tripticaseína acrescido de bacitracina e vancomicina (TSBV) (SLOTS, 1982b). As placas de TSBV foram então incubadas por cinco dias em estufa de CO<sub>2</sub>, à temperatura de 37°C (SLOTS, 1986). As colônias de *A. actinomycetemcomitans* foram identificadas com utilização de lupa estereoscópica (LEIKA MZ6), em sua morfologia, observando-se colônias pequenas, circulares, convexas, translúcidas e aderentes, exibindo estrutura central em forma de estrela. Nas colônias características, realizaram-se: coloração de Gram, provas bioquímicas de fermentação de açúcares e reação de catalase (SLOTS, 1982a).

Para o grupo periodontite crônica moderada foi aplicado o teste Qui-quadrado, a fim de se avaliar a relação entre hábito de fumar, presença de *A. actinomycetemcomitans* e severidade da doença periodontal.

## RESULTADOS

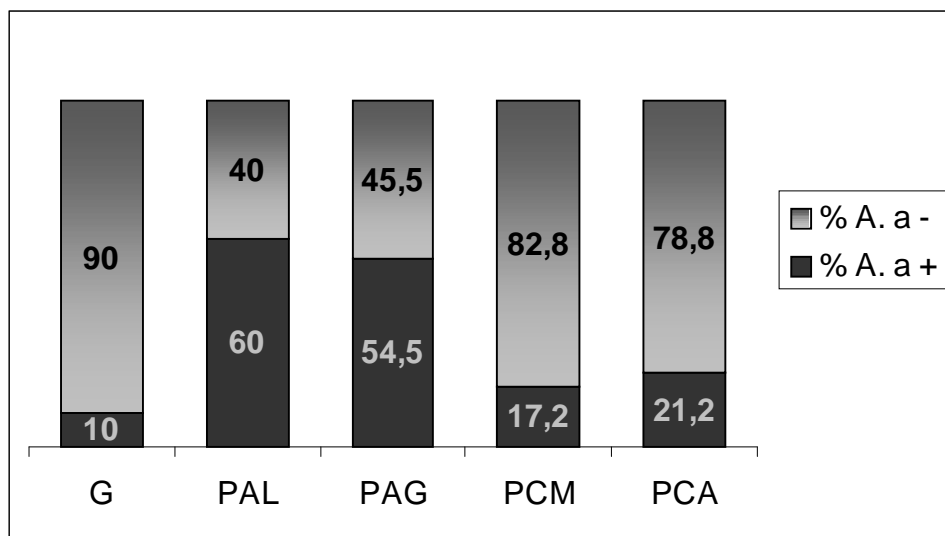
Dos 139 indivíduos analisados, 20 receberam diagnóstico de gengivite; 32, de periodontite agressiva; e 87, de periodontite crônica. A Tabela 2 mostra a distribuição da população estudada segundo diagnóstico periodontal, sexo e idade.

**TABELA 2** - Distribuição da população estudada segundo diagnóstico periodontal, sexo, média e desvio padrão da idade

Diagnóstico	Sexo masculino	Sexo feminino	Total
	Média de idade ± DP	Média de idade ± DP	Média de idade ± DP
Gengivite	04 27,3 ± 5,6	16 32,3 ± 10,5	20 31,3 ± 9,8
PA localizada	02 (18,50 ± 2,12)	08 (19,25 ± 3,91)	10 (19,10 ± 3,54)
PA generalizada	06 (19,18 ± 3,06)	16 (20,18 ± 2,71)	22 (19,91 ± 2,77)
PC moderada	15 38,7 ± 11,3	20 40,2 ± 9,6	35 39,5 ± 10,3
PC avançada	14 42,9 ± 11,8	38 39,5 ± 8,5	52 40,5 ± 9,6

DP – desvio padrão; PA – periodontite agressiva; PC – periodontite crônica

Dezessete (19,54%) indivíduos com periodontite crônica, 18 com periodontite agressiva (56,25%) e 2 com gengivite (10%) apresentaram amostras positivas de *A. actinomycetemcomitans*. Os resultados referentes à presença de *A. actinomycetemcomitans*, de acordo com o diagnóstico periodontal, estão expressos na Figura 1.



G – gengivite; PAL – periodontite agressiva localizada; PAG – periodontite agressiva generalizada; PCM – periodontite crônica moderada e PCA – periodontite crônica avançada

Amostras positivas de *A. actinomycetemcomitans* e diagnóstico de periodontite moderada foram encontradas em maior porcentagem dentre os indivíduos fumantes. Estes dados estão expressos na Tabela 3. O teste Qui-quadrado mostrou que, dentre os fumantes com periodontite crônica moderada, não houve associação entre a presença da bactéria e a severidade da doença ( $\chi^2 = 0,28$  e  $p = 0,60$ ).

**TABELA 3** – Distribuição da população estudada segundo hábito de fumar, diagnóstico periodontal e presença de *A. actinomycetemcomitans*

Diagnóstico Periodontal Hábito de Fumar	<i>A. actinomycetemcomitans</i> +		<i>A. actinomycetemcomitans</i> -	
	Fumantes	Não fumantes	Fumantes	Não fumantes
Gengivite	0	2	7	11
PA localizada	0	0	0	0
PA generalizada	1	0	0	0
PC moderada	6	0	13	16
PC avançada	4	10	13	25

PA – periodontite agressiva  
PC – periodontite crônica

## DISCUSSÃO

Diversos estudos têm associado a ocorrência de determinados patógenos periodontais em diferentes populações. Crianças periodontalmente saudáveis mostram ocorrência de *A. actinomycetemcomitans* de 0 a 17% (CONRADS *et al.*, 1996; CHEN *et al.*, 1997). Por outro lado, a doença periodontal destrutiva em crianças está frequentemente associada a níveis elevados de *A. actinomycetemcomitans* (MÜLLER *et al.*, 1993). Adolescentes com características periodontais saudáveis ou mínima presença de doença exibem menos do que 18% de ocorrência de *A. actinomycetemcomitans* em amostras de placa bacteriana subgengival (ASIKAINEN *et al.*, 1991; CLEREHUGH *et al.*, 1997). Entretanto, a doença periodontal mais associada à presença deste patógeno é a periodontite agressiva localizada. Indivíduos entre 12 e 18 anos de idade demonstraram prevalência média de

*A. actinomycetemcomitans* em torno de 75% (ZAMBON; CHRISTERSSON; SLOTS, 1983; LÓPEZ *et al.*, 1995; TINOCO *et al.*, 1997). Esta porcentagem parece diminuir, quando a população estudada apresenta-se entre 19 e 35 anos de idade (MÜLLER *et al.*, 1993; LÓPEZ *et al.*, 1996). Todavia, outros autores afirmam que amostras de *A. actinomycetemcomitans* podem estar ausentes (HAN *et al.* 1991) ou em número extremamente reduzido nos indivíduos com lesões características de periodontite agressiva localizada e periodontite agressiva generalizada (LÓPEZ *et al.*, 1995 e 1996).

Poucos estudos têm sido realizados com o propósito de relacionar diretamente a presença de *A. actinomycetemcomitans* em lesões periodontais de indivíduos com periodontite agressiva generalizada (LÓPEZ *et al.*, 1995 e 1996). De modo similar, a relação entre a bactéria e a periodontite crônica não está totalmente estabelecida, já que, neste caso *A. actinomycetemcomitans* está presente em um ambiente microbiano mais complexo, podendo, em determinadas situações, assumir um papel secundário na instalação da doença, atuando de forma mais ativa em estágios posteriores de desenvolvimento da patologia periodontal (ZAMBON, 1994). Espécies bacterianas como *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Campylobacter rectus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Capnocytophaga sp.*, entre outras, também têm sido encontradas em lesões periodontais destrutivas; todavia, suas prevalências ou relação com a patogênese das periodontites agressivas parecem ser menos importantes que as referidas para *A. actinomycetemcomitans* (LÓPEZ *et al.*, 1995). No presente estudo, foi pesquisada a presença de *A. actinomycetemcomitans* em 139 indivíduos com gengivite, periodontite agressiva localizada e generalizada e periodontite crônica moderada e avançada. Este patógeno foi encontrado em 60% dos indivíduos com periodontite agressiva localizada, em 54,5% dos com periodontite agressiva generalizada e em 10% dos indivíduos com gengivite. Dentre os indivíduos com periodontite crônica, 17,2% dos casos moderados e 21,2% dos casos avançados apresentaram amostras positivas para *A. actinomycetemcomitans*.

Atualmente, diferentes condições sistêmicas e hábitos dos indivíduos têm sido relacionados, de forma isolada ou conjunta, com aumento do risco para desenvolvimento e progressão da patologia periodontal. O consumo de cigarros pode contribuir significativamente para o aumento do risco da instalação e progressão das periodontites, quando de sua associação a determinados patógenos periodontopatogênicos, incluindo *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *B. forsythus*, *T. denticola*. (SCHLEGEL-BREGENZER *et al.*, 1998). No entanto, uma reposta inflamatória mais discreta pode estar presente no periodonto de pacientes fumantes nos quais o tabaco pode apresentar uma influência mais acentuada sobre os aspectos clínicos do que a presença de certos microrganismos (LIE *et al.*, 1998). Neste estudo, ao se considerar os grupos analisados, amostras positivas de *A. actinomycetemcomitans* e presença de periodontite moderada foram encontrados dentre os indivíduos. Entretanto, especificamente para este grupo, o teste Qui-quadrado não demonstrou associação entre a presença da bactéria e severidade da doença periodontal ( $\chi^2 = 0,28$  e  $p = 0,60$ ).

## CONCLUSÃO

A ocorrência subgingival de *A. actinomycetemcomitans* encontrada foi de 10% para os indivíduos que apresentaram gengivite, 56,25% para os diagnosticados com periodontite agressiva e finalmente 19,54% para os indivíduos com periodontite crônica.

## ABSTRACT

*Actinobacillus actinomycetemcomitans* is a small, negative Gram, non sporulate, non mobile, facultative anaerobic rod that could be recovery in few sites of healthy and gingivitis individuals, and high sites of other forms of periodontal disease. The aim of the present study was to evaluate the presence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in 139 individuals diagnosed with gingivitis, aggressive periodontitis and chronic periodontitis from, "Vale do Paraíba" São Paulo. After periodontal clinical evaluation these individuals were diagnosed according to The American Academy of Periodontology (1999). The presence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* was determined by culture and microbiological exams which were obtained from two teeth of each examined individual. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* was identified by stereoscopic and biochemical characters. The results showed that *Actinobacillus actinomycetemcomitans* was present in high numbers in localized aggressive periodontitis (60%) and generalized aggressive periodontitis (54.5%), few

numbers in advanced chronic periodontitis (21.2%) and moderate chronic periodontitis (17.2%) and finally 10% of gingivitis subjects. It can be concluded that *Actinobacillus actinomycetemcomitans* was present in few sites of gingivitis and chronic periodontitis in high number of aggressive periodontitis.

KEY – WORDS: *Actinobacillus actinomycetemcomitans*; gingivitis; aggressive periodontitis; chronic periodontitis.

## AGRADECIMENTOS

À Universidade de Taubaté pelas Bolsas de Estudo, Portarias nº 091/97 (Doutorado) e nº 349/2001 (Doutorado).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMANO, A. *et al.* Relationship of periodontopathic bacteria with early-onset periodontitis in Down's syndrome. *J. Periodontol.*, v. 72, n.2, p. 368-73, Feb. 2001.

AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY. *Annals of Periodontol.*, v. 2, n. 1, p. 1-9, jan. 1989.

AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY. International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions. *Annals of Periodontol.*, v. 4, n. 1, p. 53-4, Dec.1999.

ASIKAINEN, S. *et al.* Distribution of *A. actinomycetemcomitans* serotypes in periodontal health and disease. *Oral Microbiol. Immunol.*, v. 6, n. 2, p. 115-8, Apr. 1991.

CHEN, C. *et al.* Oral food consumption and subgingival microorganisms: sub-gingival microbiota of gastrostomy tube-fed children and healthy children and health controls. *J. Periodontol.*, v. 68, n. 12, p.1163-8, Dec. 1997.

CLEREHUGH *et al.* The detection of *A. actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella intermedia* using an ELISA in an adolescent population with early periodontitis. *J. Clin. Periodontol.*, v. 24, n. 1, p. 57-64, Jan. 1997.

CONRADS, G. *et al.* PCR reation and dot-blot hybridization to monitor the distribution of oral pathogens within plaque samples of periodontally healthy individuals. *J. Periodontol.*, v. 67, n. 10, p. 994-03, Oct. 1996.

HAN, N. *et al.* Bacteriological study of juvenile periodontitis in china. *J. Periodontol.*, v. 26, n. 10, p. 409-14, Oct. 1991.

LEE, K. H. *et al.* Microbiota of sucessful osseointegrated dental implants. *J. Periodontol.*, v. 70, n. 2, p. 131-8, Feb. 1999.

LIE, M. A. *et al.* Oral microbiota in subjects with a weak or strong response in experimental gingivitis. *J. Clin. Periodontol.*, v. 22, n. 7, p. 642-5, July 1995.

LIE, M. A. *et al.* Oral microbiota in smokers and non-smokers in natural and experimentally-induced gingivitis. *J. Clin Periodontol.*, v. 25, n. 8, p.745-52, Aug. 1998.

LÓPEZ, N. J. *et al.* Occurrence of certain bacterial species and morphotypes in juvenile periodontitis in Chile. *J. Periodontol.*, v. 66, n. 7 , p. 559-67, July 1995.

LÓPEZ, N. J. *et al.* Occurrence of *A. actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella intermedia* in juvenile periodontitis. *J. Clin. Periodontol.*, v. 23, n. 2 . p. 101-5, Feb. 1996.

- MÜLLER, H. P. *et al.* *A. actinomycetemcomitans* recovery from extracrevicular locations of the mouth. *Oral Microbiol. Immunol.*, v. 8, n. 5, p. 334-48, Oct. 1993.
- PAGE, R. C. Rapidly progressive periodontitis: a distinct clinical condition. *J. Periodontol.*, v. 54, n. 2, p. 197-207, Feb. 1983.
- PAPAPANOU P. N. *et al.* Subgingival microbiota in adult chins: prevalence and relation to periodontal disease progression. *J. Periodontol.*, v. 68, n. 7, p. 651-66, July 1997.
- RENVERT, S. *et al.* Comparative study of subgingival microbiological sampling techniques. *J. Periodontol.*, v. 63, p. 797-801, Sept. 1992.
- SCHLEGEL-BREGENZER, B. *et al.* Clinical and microbiological findings in edlerly subjects with gingivitis or periodontitis. *J. Clin Periodontol.*, v. 25, n. 11, p. 897-907, Nov. 1998.
- SLOTS, J.; REYNOLDS, H. S.; GENCO, R.J. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease: a cross-sectional microbiological investigation. *Infec. Immun.*, v. 29, n. 3, p. 1013-0, Sept. 1980.
- SLOTS, J. Selective medium for isolation of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J. Clin. Microbiol.*, v. 15, n. 4, p. 606-9, Apr. 1982.
- SLOTS, J. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease. Association, serology, leukotoxicity and treatment. *J. Periodontal Re.*, v. 17, p. 447-8, July 1982.
- SLOTS, J. Salient biochemical characters of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Arch. Microbiol.*, v. 131, p. 60-7, Feb. 1982.
- SLOTS, J. *A. actinomycetemcomitans*. In: NISENGARD, R. J; NEWMAN, N. G. *Oral microbiology and immunology*. 2. ed. Philadelphia: W. B. Saunders, 1994. p. 218-227.
- TINOCO, E. M. *et al.* Localized juvenile periodontitis and *A. actinomycetemcomitans* in a Brazilian population. *Eur. J. Oral Sci.*, v. 105, n. 1, p. 9-14, Feb. 1997.
- ZAMBON, J. J.; CHRISTERSSON, L. A.; SLOTS, J. *A. actinomycetemcomitans* in human periodontal disease. Prevalence in patient groups and distribution of biotypes and serotypes within families. *J. Periodontol.*, v. 54, n. 11, p. 707-11, Nov. 1983.
- ZAMBON, J. J. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in adult periodontitis. *J. Periodontol.*, v. 65, n.9, p. 892-3, Sept. 1994.
- ZAMBON, J. J. *et al.* The microbiology of early-onset periodontitis: association of highly toxic *Actinobacillus actinomycetemcomitans* strains with localized juvenile periodontitis. *J. Periodontol.*, v. 67, n. 3 suppl., p. 282-90, Mar. 1996.