



Treatment of Aggressive Periodontal Patients With Antibiotics

Tratamento com Antibióticos de Pacientes com Periodontite Agressiva Localizada

Presença de *Actinobacillus Actinomycetemcomitans* Após Tratamento Periodontal, Utilizando Amoxicilina/Metronidazol Como Adjuvo

INTRODUÇÃO

O *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Aa) é um bastonete Gram-negativo, anaeróbio facultativo, que desempenha um papel importante na patogênese das Periodontites Agressivas, e é encontrado em 80-100% dos pacientes no início da infecção periodontal¹⁻⁹. Os principais reservatórios do microrganismo são a bolsa periodontal e a placa dental⁹. O Aa foi encontrado também na língua e na saliva¹⁰.

A capacidade do Aa em invadir tecidos periodontais dificulta a eficácia do tratamento convencional^{11,12} (raspagem e alisamento radicular). Torna-se necessária, portanto, a administração sistêmica de antibióticos para a eliminação ou supressão do patógeno a níveis não detectáveis¹¹. Porém a recolonização por Aa após o uso de antibióticos é um evento comum e está relacionada com futuros episódios de dano tecidual¹³. Pacientes com amostras positivas de Aa após o tratamento têm redução na cicatrização das bolsas e perda óssea alveolar Albandar et al. 1990. Kornman e Robertson¹⁴ sugerem que a diminuição de Aa a níveis não detectáveis é um excelente indicador de sucesso clínico e esse dado pode ser útil no monitoramento a longo prazo dos sítios envolvidos. A ausência de Aa, *P.gingivalis* e *P.intermedia* e sua relação com nenhuma perda de inserção futura, foi um parâmetro mais confiável do que a presença desses periodontopatógenos e episódios posteriores de perda de inserção¹⁵. A persistência de Aa nas bolsas periodontais pareceu se associar com uma resposta de cicatrização reduzida^{16,17}. De acordo com Albandar et al. (1990)¹³, o Aa associa-se significativamente com grau de perda óssea alveolar. A supressão de Aa na placa subgingival abaixo dos níveis detectáveis foi relacionada ao ganho de nível de inserção à sondagem^{18,19}.

O uso indiscriminado das tetraciclina em vários tipos de infecções levou à resistência das bactérias a essas drogas. Hoje, existem em torno de 14 determinantes conhecidos que codificam a resistência à tetraciclina entre as bactérias, com diversos mecanismos de atuação.

Determinadas cepas de patógenos presentes em pacientes com periodontite recorrente, como Aa, são resistentes a antibióticos normalmente usados, como tetraciclina, metronidazol, e penicilina G²⁰. Van Winkelhoff et al.^{21,22} testaram os efeitos do uso do metronidazol mais amoxicilina como adjuvo à terapia mecânica no tratamento da periodontite agressiva. Os resultados mostraram eliminação do patógeno (Aa) e melhoras clínicas que se mantiveram por até 11 meses após o tratamento.

- Alexandre Rezende Vieira
- Rodrigo Sant'anna Aguiar dos Reis
- Roberto Prado
- Eduardo Muniz Barretto Tinoco
Professores Doutores do Programa de Mestrado em Odontologia da Unigranrio/RJ

Os AA fazem uma pesquisa comparativa do tratamento periodontal com raspagem subgingival e antibioticoterapia, entre pacientes com e sem infecção por Aa.

Tabela 1a, b - Mudanças nos indicadores de higiene oral (médias dos índices de placa e gengival) e microbiológicos (presença de Aa) no início e no término do estudo

a) Sem infecção com Aa pós-tratamento

Pacientes	Presença de Aa		Índice de placa		Índice gengival	
	Início	1 ano	Início	1 ano	Início	1 ano
3P	positivo	negativo	1.00	0.00	1.50	1.20
12P	positivo	negativo	2.20	1.70	1.80	1.50
19P	positivo	negativo	1.80	1.30	1.70	1.60
23P	positivo	negativo	1.40	0.70	1.40	1.30

b) Infectados por Aa

Paciente	presença de Aa		Índice de placa		Índice gengival	
	Início	1 ano	Início	1 ano	Início	1 ano
05P	positivo	positivo	0.8	0.1	1.4	1.2
11P	positivo	positivo	2	0.3	1.6	1.3
12S1	positivo	positivo	1.8	1	1.8	1.5
13 P	positivo	positivo	0.9	0	1.3	1

Teste U de Mann-Whitney ($\alpha=0,05$):

• Índice de placa:

Estatística U=4 → p=0,171 - p=0,342

• Índice gengival:

Estatística U=3 → p=1,00 - p=0,200

Objetivo

O objetivo do presente estudo é comparar o status periodontal e microbiológico de pacientes com periodontite agressiva após tratamento periodontal com raspagem e antibióticos (amoxicilina e metronidazol).

MATERIAIS E MÉTODOS

População de estudo

Oito pacientes com Periodontite Agressiva Localizada foram selecionados de uma população descrita por Tinoco et al.^{23,24}. Essa população consistia de adolescentes com idade entre 12 e 19 anos no início do estudo, alunos de escolas públicas e instituições de caridade localizados nos subúrbios das cidades do Rio de Janeiro, Belo Horizonte e Votorantim.

Todos os pacientes preenchem os seguintes critérios de inclusão:

- presença de pelo menos um defeito infra-ósseo diagnosticado que envolva molares e/ou incisivos. As lesões devem ser confirmadas por radiografias bitewing bilateral da área posterior ou por periapicais da área anterior.

- perda de inserção clínica maior que 2mm em pelo menos um sítio.

Além disso, os pacientes não devem ter nenhuma doença sistêmica reconhecida, e seus pais ou parentes responsáveis devem estar dispostos a assinar um consentimento pós-informado para participação no estudo.

Exame Clínico

Os pacientes submeteram-se à avaliação clínica das condições periodontais no início do tratamento e 12 meses após. Índice de placa (Silness & Løe 1964) e índice gengival (Løe & Silness 1963), foram calculados para cada paciente baseado em 4 sítios (mesial, bucal, distal e palatal) em todos os dentes presentes.

Profundidade de bolsa à sondagem e nível de inserção

Tabela 2a, b - Número e porcentagem dos sítios que mostraram redução, nenhuma mudança ou aumento na Profundidade de Bolsa à Sondagem (PBS), entre sítios com qualquer valor diferente de zero em qualquer registro (cut-off level for change = 2mm).

a) Sem infecção com Aa pós-tratamento

Pacientes	Número de sítios	Redução		Sem mudança		Aumento	
		n	%	n	%	n	%
3P	9	7	77.8	2	22.2	0	0
12P	2	1	50	1	50	0	0
19P	16	12	75	4	25	1	6.3
23P	6	4	66.7	0	0	2	33.3

b) Infectados por Aa

Pacientes	Número de sítios	Redução		Sem mudança		Aumento	
		n	%	n	%	n	%
11P	10	8	80	2	20	0	0
12S1	6	6	100	0	0	0	0
13P	8	6	75	2	25	0	0
5P	2	2	100	0	0	0	0

Teste U de Mann-Whitney ($\alpha=0,05$):

• Sítios com redução na profundidade de bolsa:

Estatística U=7 → 0,443 - p=0,886

clínica menores que 2 mm não foram consideradas alterações reais em nenhum sítio específico. Para evitar diluição dos dados, somente sítios doentes (com profundidade de bolsa maior ou igual a 5 mm e nível de inserção maior que 2 mm) foram incluídos no cálculo.

Calibração do examinador

A reprodutibilidade intra-examinador para o único periodontista treinado que realizou o exame clínico foi avaliada pela análise Kappa. Medidas de profundidade à sondagem reproduzidas mostraram 89.8% de concordância exata, 99.6% de concordância com 1 mm e um coeficiente Kappa de 0.85 + ou - 0.03 (sd). A reprodução do nível de inserção clínica periodontal alcançou concordância exata de 91.3%; 99.1% de concordância com + ou - 1mm, e um coeficiente Kappa de 0.80 + ou - 0.03 (sd).

Microbiologia

Para participar da parte microbiológica do estudo, os indivíduos não deviam ter nenhum tratamento com antibióticos nos últimos 6 meses.

As amostras microbiológicas foram obtidas pela inserção de tiras de papel estéreis no fundo de sulcos / bolsas mesiais de todos os dentes e qualquer sítio adicional com profundidade de bolsa igual ou maior que 5mm. Após 10 segundos, as tiras foram transferidas para tubos contendo 10 ml de solução de VMG III e processadas separadamente para cada sítio.

Pacientes foram considerados negativos para Aa somente após 3 amostragens. Após 48 h de incubação no meio selecionado, colônias de Aa foram provisoriamente identificadas pela morfologia da colônia e teste da catalase. A identificação foi confirmada por ensaio de rRNA e antisoro sorotipo específico. Três colônias confirmadas de Aa de cada paciente foram processadas para mais análises.

Reação em Cadeia da Polimerase com Primers Arbitrários (AP-PCR)

O DNA bacteriano foi amplificado em tubos de reação de 100 µl contendo 10mM Tris-Cl (pH 8.3), 50 mM KCl, 5 mM MgCl₂; cada 100 il de dATP, dCTP, dGTP, dTTP; 0.2 iM primer [GGGTAACGCC]; 0.5 U Taq polimerase; e 0.05 ig de

Tabela 3a, b - Média das mudanças (mm) na Profundidade de Bolsa à Sondagem (PBS) em todos os sítios que mostraram qualquer valor diferente de 0 (zero) em qualquer registro.

a) Sem infecção com Aa pós-tratamento

Pacientes	Número de sítios	Todos os sítios	Sítios com redução	Sítios com aumento
3P	9	2.11	2.11	0
12P	2	1.5	1.5	0
23P	6	0.83	2.75	3
19P	16	2.62	2.86	1

b) Infectados por Aa

Pacientes	Número de sítios	Todos os sítios	Sítios com redução	Sítios com aumento
12P	6	3	3	0
13P	8	1.85	2.14	0
5P	2	2.5	2.5	0
11P	10	2.44	2.66	0

Teste U de Mann-Whitney ($\alpha=0,05$):

• Médias dos sítios com redução da profundidade de bolsa à sondagem: Estatística U=6 → p=0,343 - p=0,686

DNA genômico.

As ampliações foram realizadas em uma circuladora térmica 2400 programada da seguinte maneira: 1 ciclo de 5 minutos a 94° C, 2 minutos a 42° C, e 2 minutos a 72° C; 30 ciclos de 1 minuto a 94° C, 2 minutos a 42° C, e 2 minutos a 72° C; 1 ciclo de 1 minuto a 94oC, 2 minutos a 42° C e 10 minutos a 72° C, usando a transição mais rápida disponível entre temperaturas.

A reação começou e terminou a 0° C. os produtos da amplificação foram separados por eletroforese em gel de agarose submarino a 1%, corrido a 45V por 5 horas, e as bandas formadas por estes produtos foram detectadas por coloração com brometo de etídio.

Todas as reações foram realizadas em duplicata, codificadas e lidas num único modelo cego. Extratos de DNA individuais testados em dias separados mostraram padrões de agrupamento consistentes (amplitipos), como eram consistentes diferentes extratos de DNA da mesma cepa obtida de diferentes culturas da mesma cepa.

Tratamento Higiene oral

Os pacientes receberam informação sobre a doença; instrução de higiene oral (incluindo visualização da placa corada); e um kit com 2 escovas de dente, fio dental e pasta de dente. Todos receberam limpeza profissional com taça de borracha.

Tratamento geral

Todos os dentes severamente cariados e fraturados foram extraídos, as lesões cariosas preenchidas com óxido de zinco/ eugenol; qualquer excesso de restauração foi removido. Dentes com envolvimento pulpar foram tratados endodonticamente e pontes temporárias foram confeccionadas quando necessário de um ponto de vista funcional e estético.

Raspagem, alisamento radicular e cirurgia

Todos os pacientes receberam raspagem supra e subgingival e alisamento radicular. A técnica do retalho de

Tabela 4a, b - Número e porcentagem dos sítios que mostraram ganho, nenhuma mudança ou perda no Nível de Inserção Clínica entre sítios com qualquer valor diferente de zero em qualquer registro (cut-off level for change = 2mm).

a) Sem infecção com Aa pós-tratamento

Pacientes	Número de sítios	Ganho		Sem mudança		Perda	
		n	%	n	%	n	%
3P	28	9	32.1	19	67.9	0	0
12P	6	2	33.3	4	66.7	0	0
23P	19	7	36.8	9	47.4	3	15.8
19P	29	8	27.6	15	51.7	6	20.7

b) Infectados por Aa

Pacientes	Número de sítios	Ganho		Sem mudança		Perda	
		n	%	n	%	n	%
11P	19	9	47.4	10	52.6	0	0
12S1	48	9	18.8	22	45.8	17	35.4
13P	24	4	16.7	17	70.8	3	12.5
5P	13	6	46.2	7	53.8	0	0

Teste U de Mann-Whitney ($\alpha=0,05$):

• Sítios com ganho de inserção clínica: Estatística U=6 → p=0,343 - p=0,686

Widman modificado foi utilizada quando o acesso para debridamento subgingival foi considerado difícil (bolsas > 6mm). Todos os pacientes que sofreram cirurgia periodontal (5 pacientes experimentais e 6 controle) receberam uma solução de clorexidina a 0.12% para bochecho 2 vezes ao dia por 2 semanas seguintes à cirurgia.

Os procedimentos cirúrgicos foram realizados por um periodontista treinado, após a raspagem supragengival. Imediatamente após a última sessão de tratamento mecânico, os pacientes foram medicados com mentronidazol sistêmico (750 mg diários) e amoxicilina (1500 mg diários) por 8 dias.

Ao grupo controle foi dado placebo. Em cada local, a administração da medicação foi supervisionada através de todo o estudo (os pacientes foram pedidos para mostrar diariamente os tabletes remanescentes para o supervisor local e para confirmar se estavam tomando de acordo com as instruções).

Manutenção

Após as três primeiras fases todos os pacientes foram chamados para visitas periódicas 30, 60, e 90 dias e então a cada terceiro mês. Durante essas visitas as instruções de higiene oral foram reforçadas quando necessário e os pacientes passaram por limpeza profissional com taça de borracha, assim como raspagem supra e subgingival, se necessário.

Nessa fase, as cavidades preenchidas com óxido de zinco e eugenol foram trocadas por amálgamas e os tratamentos endodônticos foram finalizados. Além disso, escovas dentárias, fios dentais e pastas de dente foram fornecidas para os pacientes quando necessário.

Após 12 meses, os parâmetros clínicos foram medidos novamente e as condições de higiene reavaliadas.

Análise Estatística.

O teste de Mann-Whitney (U), foi utilizado para análise dos parâmetros clínicos. Para assegurar a confiabilidade dos resultados, o teste T de Student foi aplicado. A significância trabalhada em ambos os testes foi de 5% ($\alpha=0,05$).

RESULTADOS

De acordo com a tabela 1 (a,b), os índices de placa e

gingival sofreram redução em ambos os grupos, mas a redução desses índices no grupo sem infecção por Aa após 1 ano foi significativamente maior do que no grupo infectado pelo Aa.

DISCUSSÃO

Vários estudos utilizando pacientes com periodontites agressivas têm relatado uma superioridade do uso de antibióticos como adjuntos ao tratamento convencional composto de raspagem e alisamento radicular^{18,19,21,22}

Isto pode ser explicado pelo fato do Aa, principal organismo envolvido, apresentar propriedades invasivas, penetrando células epiteliais e tecido conjuntivo favorecendo sua permanência na cavidade oral mesmo após a raspagem e alisamento radicular sem o uso de antibióticos como adjunto^{11,12,25}

Além disso o microorganismo é capaz de produzir uma potente toxina, leucotoxina, capaz de matar leucócitos humanos, inibindo assim uma das principais linhas de defesa do hospedeiro²⁵

No entanto, estudos relatam que alguns pacientes, mesmo após receberem tratamento com antibióticos, apresentam infecções por periodontopatógenos aproximadamente 6 meses após o término do tratamento. Isto pode ser explicado pela falta de cooperação do paciente com o tratamento, não tomando a medicação corretamente

A presença de patógenos alguns meses após o tratamento deve-se também à recolonização ou reinfecção por uma nova cepa do microorganismo. Recidivas de infecções são comuns em pacientes que compartilham um meio-ambiente com alto grau de contaminação, baixo nível de infra-estrutura sanitária e higiene oral deficiente.

Cepas virulentas também devem ser consideradas. Atualmente sabe-se que o Aa possui sorotipos diferentes, de acordo com diferenças raciais e geográficas. Esses sorotipos têm graus diferentes de patogenicidade e estão associados a diferentes tipos de periodontites^{27,28}.

Autores mostram a importância da eliminação do Aa para a melhora das condições clínicas²⁹. Dados revelam que a ausência de Aa está relacionada ao ganho de inserção à sondagem¹⁹.

Da mesma forma, a presença de Aa após o tratamento esteve associada à cicatrização reduzida¹⁶, a episódios de dano periodontal e à perda óssea radiográfica³⁰.

No presente estudo, pode-se observar que a quantidade de pacientes com níveis detectáveis de Aa após o tratamento foi bastante elevada (50%). Tal fato pode ser explicado devido à alta prevalência do microorganismo na população de origem desses pacientes, sugerindo uma possível transmissão de microorganismos entre indivíduos²⁴. Buchmann et al.³¹ semelhantemente, relataram que 46% dos pacientes que receberam tratamento com antibióticos persistiam na infecção por Aa.

Neste estudo o grupo infectado por Aa após o tratamento apresentou um quadro periodontal discretamente pior do que o grupo não infectado em alguns dos parâmetros clínicos avaliados, não atingindo porém significância estatística. O tamanho reduzido da amostra pode explicar, em parte, esta falta de significância estatística.

De acordo com a literatura estudos longitudinais demons-

tram o Aa pode ser considerado como um marcador de risco para perda de inserção periodontal³⁰, e sua presença em pacientes após o tratamento pode ser prejudicial.

A alta prevalência do microorganismo em algumas populações pode ser um fator complicador para o tratamento periodontal de indivíduos inseridos nestas populações.

Estudo longitudinais com uma amostra maior de indivíduos e uma monitoração do status periodontal podem ajudar a elucidar a importância da infecção periodontal por Aa.

CONCLUSÃO

Na população deste estudo não houve diferença estatística nos parâmetros clínicos entre os indivíduos com ou sem a presença de Aa subgingival após tratamento periodontal com antibióticos.

Os resultados deste estudo demonstram que em certas populações é possível a reinfecção por Aa em alguns indivíduos, mesmo após o tratamento periodontal, com a administração de amoxicilina e metronidazol como adjuntos.

RESUMO

O *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Aa) é um bastonete Gram-negativo, anaeróbio facultativo que tem sido considerado agente etiológico primário das periodontites agressivas. A maioria das cepas de Aa produzem leucotoxina, um potente fator de virulência que destrói células de defesa do hospedeiro.

A capacidade do Aa em invadir tecidos epiteliais faz com que ele não seja eliminado eficazmente através do tratamento convencional, que consiste de raspagem supra e subgingival. É necessária a administração adjunta de antimicrobianos sistêmicos para uma eliminação/ supressão efetiva do microorganismo.

Mesmo após o tratamento, a reinfecção ocorre na maioria dos indivíduos num prazo de aproximadamente 6 meses. Tem sido sugerido que a presença de Aa após o tratamento está relacionada com futuros episódios de dano tecidual.

O objetivo deste trabalho é comparar o status periodontal de pacientes com periodontite agressiva infectados por Aa e não infectados após tratamento com raspagem subgingival e antibioticoterapia.

A amostra consiste de 8 pacientes jovens com periodontite agressiva associada ao Aa que receberam tratamento convencional e terapia sistêmica com amoxicilina (1500mg diários) e metronidazol (750mg diários) durante 8 dias. Os parâmetros clínicos foram medidos antes do tratamento e 12 meses após.

Os resultados mostram uma melhora dos parâmetros clínicos em todos os pacientes, apesar de metade deles estarem infectados por Aa após um ano de tratamento.

No entanto, o grupo infectado pelo microorganismo não apresentou resultados significativamente piores que o grupo não infectado, em nenhum dos parâmetros avaliados (índice de placa e gengival, profundidade de bolsa à sondagem e nível de inserção clínica).

Não foram observadas diferenças significantes nos parâmetros clínicos entre os pacientes.

SUMMARY

Actinobacillus actinomycetemcomitans (Aa) is a Gram-negative, facultative anaerobic rod which has been considered a primary etiologic agent of the aggressive periodontitis. Most Aa strains can produce leukotoxin, a potent virulence factor that destroys defense cells of the host.

The ability of Aa to invade epithelial tissues decreases the effectiveness of the conventional treatment (supra and subgingival scaling). Therefore, the systemic antimicrobial therapy is necessary as an adjunct to conventional treatment in order to suppress or eliminate completely the bacterium.

Reinfection occurs in most subjects about 6 months later. It has been suggested that the presence of the Aa after treatment is related with future episodes of tissue damage. Thus, the bacterium can be considered a marker for periodontal attachment loss.

The aim of this study is to compare the periodontal status of aggressive periodontal patients with or without reinfection of Aa after treatment with scaling and antibiotic therapy.

Eight young patients with *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-associated aggressive periodontitis were treated with amoxicillin (1500mg daily) and metronidazole (750 mg daily) for 8 days, as adjunct to supra and subgingival scaling. The clinical parameters were measured before and 12 months after treatment.

The results demonstrated an overall improvement of the clinical conditions in all patients, although half of them were infected with Aa after a year of treatment.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MANDELL, R.; SOCRANSKY, S. A selective medium for AAC and the incidence of the organism in Juvenile periodontitis. *Journal of Periodontology* 1981; 52:593-598.
2. MANDELL, R.L. et al. The effect of treatment on *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in Localized Juvenile Periodontitis. *Journal of Periodontology* 1986; 57:94-99.
3. ZAMBON, J.J. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology* 1985; 12: 1-20.
4. ZAMBON, J.J.; CHRISTERSSON, L.A.; SLOTS, J. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease. Prevalence in patient groups and distribution of biotypes and serotypes within families. *Journal of Periodontology* 1983; 54: 707-711.
5. ZAMBON, J.J. et al. The Microbiology of Early-Onset Periodontitis: Association With Highly Toxic *Actinobacillus actinomycetemcomitans* Strains With Localized Juvenile Periodontitis. *Journal of Periodontology* 1996; 67: 282-290.
6. SLOTS, J. et al. In vitro antimicrobial susceptibility of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Antimicrobial Agents Chemotherapy* 1980; 18: 9.
7. SLOTS, J.; FEIK, D.; RAMS, T.E. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Bacteroides intermedius* in human periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* 1990; 17: 659-662.
8. SLOTS, J. & LISTGARTEN, M.A. *Bacteroides gingivalis*, *Bacteroides intermedius* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal diseases. *Journal of Clinical Periodontology* 1988; 15: 85-93.
9. SLOTS, J.; REYNOLDS, H.S.; GENCO, R.J. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in Human Periodontal Disease: a Cross-Sectional Microbiological Investigation. *Infection and Immunity* 1980; 29:1013-1020.
10. ASIKAINEN, S.; ALALUUSUA, S.; SAXÉN, L. Recovery of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* from teeth, tongue and saliva. *Journal of Periodontology* 1991; 62:203-206.
11. CHRISTERSSON, L.A. et al. Microbiological and clinical effects of surgical treatment of localized juvenile periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* 1985; 12:465-476.
12. CHRISTERSSON, L.A.; SLOTS, J. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontal disease. Prevalence in

patient groups and distribution of biotypes and serotypes. *Journal of Periodontology* 1983; 54: 707-711.

13. ALBANDAR, J.M.; OLSEN, I.; GERMO, P. Associations between six DNA probe-detected periodontal bacteria and alveolar bone loss and other clinical signs of periodontitis. *Acta Odontologica Scandinavica* 1990; 48: 415-423.
14. KORNMAN, K.S. & ROBERTSON, P.B. Clinical and microbiological evaluation of therapy for Juvenile Periodontitis. *Journal of Periodontology* 1985; 56: 443-446.
15. WENNSTRÖM, J.L. et al. *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteroides gingivalis* e *Bacteroides intermedius*: predictors of attachment loss? *Oral Microbiology Immunology* 1987; 2: 158-163.
16. RENVEERT, S.; DAHLÉN, G.; WIKSTRÖM, M. Diagnosis. Relation between microbiological and clinical parameters during 5 years. *Journal of Periodontology* 1996; 67: 562-571.
17. RENVERT, S.; WIKSTRÖM, M.; DAHLÉN, G.; SLOTS, J.; EGELBERG, J. Effect of root debridement on the elimination of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Bacteroides gingivalis* from periodontal pockets. *Journal of Clinical Periodontology* 1990; 17: 345-350.
18. FLEMMIG, T.F. et al. Differential effects of systemic metronidazole and amoxicillin on *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis* in intraoral habitats. *Journal of Clinical Periodontology* 1998; 25: 1-10.
19. FLEMMIG, T.F. et al. Differential clinical treatment outcome after systemic metronidazole and amoxicillin in patients harboring *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and/or *Porphyromonas gingivalis*. *Journal of Clinical Periodontology* 1998; 25: 380-387.
20. LISTGARTEN, M.A.; LAI, C.H.; YOUNG, V. Microbial composition and pattern of antibiotic resistance in subgingival microbiol samples from patients with refractory periodontitis. *Journal of Periodontology* 1993;64: 155-161.
21. VAN WINKELHOFF, A.J. et al. Metronidazole plus amoxicillin in the treatment of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* associated periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology* 1989; 16: 128-131.
22. VAN WINKELHOFF, A.J.; TIJHOF, C.J.; DE GRAAFF, J. Microbiological and clinical results of metronidazole plus amoxicillin therapy in *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-associated periodontitis. *Journal of Periodontology* 1992; 63: 52-57.
23. TINOCO, E.M.B. et al. Localized juvenile periodontitis and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in a Brazilian population. *European Journal of Oral Sciences* 1997; 105: 9-14.
24. TINOCO, E.M.B. et al. Clinical and microbiologic effects of adjunctive antibiotics in treatment of localized juvenile periodontitis. A controlled clinical trial. *Journal of Periodontology* 1998; 69: 1355-1363.
25. RENVERT, S.; WIKSTRÖM, M.; DAHLÉN, G.; SLOTS, J.; EGELBERG, J. On the inability of root debridement and periodontal surgery to eliminate *Actinobacillus actinomycetemcomitans* from periodontal pockets. *Journal of Clinical Periodontology* 1990; 17:351-355.
26. BAEHNI, P. et al. Interaction of Inflammatory Cells and Oral Microorganisms VIII. Detection of Leucotoxic Activity of a Plaque-Derived Gram-Negative Microorganism. *Infection and Immunity* 1979; 24: 233-243.
27. SAARELA, M. et al. Frequency and stability of mono and poli-infection by *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotypes a, b, c, d or e. *Oral Microbiology Immunology* 1992; 7: 277-279.
28. SAARELA, M. et al. Transmission of oral bacterial species between spouses. *Oral Microbiology Immunology* 1993; 8: 349-354.
29. DAHLÉN, G.; WIKSTRÖM, M.; RENVERT, S. Treatment of periodontal disease based on microbiological diagnosis. A 5-year follow-up on individual patterns. *Journal of Periodontology* 1996; 67: 879-887.
30. AASS, A.M. et al. Incidence of Early Periodontitis in a Group of Young Individuals During 8 Years: Association with selected potential predictors. *Journal of Periodontology* 1994; 65: 814-819.
31. BUCHMANN, R. et al. *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in destructive periodontal disease. Three-year follow-up results. *Journal of Periodontology* 2000; 71: 444-453.