

Enfermedad Periodontal en Portadoras de Valvopatía Durante la Gravidéz - Estudio Clínico y Microbiológico

Walkiria Samuel Ávila¹, Lilia Timerman², Giuseppe Alexandre Romito³, Sílvia Linard Marcelino³, Itamara Lúcia Itagiba Neves¹, Marcelo Zugaib⁴, Max Grinberg¹

Instituto do Coração do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo¹; Instituto Dante Pazzanese de Cardiologia²; Disciplina de Periodontia do Departamento de Estomatologia da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo³; Departamento de Obstetrícia e Ginecologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo⁴ - São Paulo, SP - Brasil

Resumen

Fundamento: La enfermedad periodontal, caracterizada por el estado inflamatorio e infeccioso permanente de la cavidad oral, representa riesgo a la gestante portadora de valvopatía reumática, ya sea para contraer endocarditis infecciosa, el sea por propiciar complicaciones obstétricas, tales como aborto espontáneo y prematuridad.

Objetivo: Estudiar la frecuencia de la enfermedad periodontal en portadoras de valvopatía reumática durante la gravidéz.

Métodos: Fueron estudiadas 140 gestantes, divididas por edad y por nivel socioeconómico, en dos grupos: 70 portadoras de enfermedad valvar reumática y 70 mujeres sanas. Todas se sometieron a: 1) evaluación clínica odontológica que incluyó el análisis de los siguientes parámetros: 1.1) profundidad al sondaje, 1.2) distancia de la línea esmalte-cemento al margen gingival, 1.3) nivel clínico de inserción, 1.4) índice de sangrado, 1.5) índice de placa bacteriana, y, 1.6) compromiso de furca; y, 2) examen microbiológico en las muestras de saliva y del cono que consideró el control positivo para las cepas de las bacterias *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* y *Aggregobacter actinomycetemcomitans*.

Resultados: La edad y la paridad no fueron diferentes entre los grupos; la lesión valvar mitral fue prevalente (65 casos = 92,8%), tanto en la forma aislada (45 casos) cuanto asociada a la lesión valvar aórtica (20 casos). El análisis comparativo mostró que las medidas de la distancia de la línea esmalte-cemento al margen gingival ($p = 0,01$) y el índice de placa ($p = 0,04$) fueron diferentes entre los grupos; y la frecuencia de la enfermedad periodontal identificada en 20 (14,3%) gestantes, de las cuales 7 eran reumáticas (10,0%) y 13 sanas (18,6%), no fue diferente entre los grupos ($p = 0,147$). El examen microbiológico mostró una proporción mayor de la bacteria *P. gingivalis* en la saliva de gestantes sanas ($p = 0,004$).

Conclusión: El estudio clínico y microbiológico periodontal durante la gravidéz demostró igual frecuencia de enfermedad periodontal en portadoras de valvopatía reumática cuando fueron comparadas a las mujeres sanas. (Arq Bras Cardiol 2011;96(4):307-311)

Palabras clave: Periodontitis, gengivitis, enfermedades de las valvas cardíacas, enfermedades reumáticas, gravidéz.

Introducción

La enfermedad periodontal comprende un amplio espectro de alteraciones de los tejidos periodónticos de origen inflamatorio y/o infeccioso que pueden acontecer durante la gravidéz, cuando modificaciones fisiológicas de la cavidad oral, atribuibles a mecanismos hormonales de la gestación, causan lo que se denomina gingivitis gravídica¹, caracterizada por inflamación de encía, cemento y ligamento periodontal, y que predispone a la gestante a la periodontitis.

La periodontitis que ataca cerca de 15,0% de la población brasileña^{2,3} es una situación clínica más grave, porque,

además de comprometer el hueso alveolar, se asocia a microorganismos, en la mayoría bacilos anaeróbicos gram-negativos, destacándose las bacterias *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*), *Tannerella forsythia* (*T. forsythia*), y *Aggregobacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*)⁴.

En el ámbito de la gravidéz, el permanente estado inflamatorio e infeccioso de la cavidad oral⁵ representa riesgos potenciales, sea por favorecer la infección por endocarditis infecciosa, sea por propiciar complicaciones obstétricas, tales como aborto espontáneo y prematuridad⁶.

En ese sentido, el objetivo de este trabajo fue estudiar la frecuencia de la enfermedad periodontal en mujeres portadoras de valvopatía reumática durante la gravidéz.

Métodos

En el período de enero de 2005 a julio de 2008, se realizó un estudio transversal que seleccionó 140 mujeres grávidas

Correspondencia: Walkiria Samuel Ávila •

Rua Apicás, 688/31 - Perdizes - 05017-020 - São Paulo, SP - Brasil

E-mail: wsavila@cardiol.br, walkiria@incor.usp.br

Artículo recibido en 24/02/10; revisado recibido en 26/07/10; aceptado en 28/07/10.

con edades entre 18 y 35 años, atendidas consecutivamente por el Sistema Único de Salud (SUS). El grupo de portadoras de enfermedad valvar reumática fue compuesto por 70 gestantes atendidas en el ambulatorio de Cardiopatía y Gravidéz de la Unidad de Cardiopatías Valvares del Instituto del Corazón (InCor). El grupo de mujeres sanas correspondió a 70 gestantes controladas en el ambulatorio de prenatal del Centro de Salud Geraldo de Paula Souza, de la Facultad de Salud Pública de la Universidad de São Paulo (USP).

Al momento de la inclusión en el estudio, los grupos de gestantes reumáticas y gestantes sanas fueron comparables a través de la edad, de los niveles socioeconómico y cultural, y de la edad gestacional. Todas las pacientes obedecieron a un protocolo que incluyó evaluación clínica periódica y examen clínico odontológico, que buscó la identificación de enfermedad periodontal y el estudio microbiológico de la cavidad oral. En el grupo de las gestantes reumáticas, entre las medicaciones de indicación cardiológica, fue mantenida la aplicación intramuscular de penicilina G benzatina, en la dosis de 1.200.000 UI cada 21 días, para profilaxis secundaria de la enfermedad reumática. No fueron incluidas mujeres con otras morbilidades, tales como hipertensión arterial, diabetes mellitus, enfermedades infecciosas, o aquellas que estuviesen utilizando antibióticos en un período inferior a tres meses.

Entre los datos de la anamnesis, se destacó, para el estudio, el cuestionamiento sobre los hábitos de higiene bucal. Las pacientes fueron sometidas a evaluación clínica periodontal que utilizó el espejo clínico y una sonda milimetrada para registro de los siguientes parámetros: a) profundidad clínica de sondaje (PCS) que corresponde a la distancia (mm) comprendida entre el margen gingival y el fondo del surco gingival o de la bolsa periodontal; b) distancia de la línea esmalte-cemento al margen gingival (LEC/MG); c) nivel clínico de inserción (NCI) que es la diferencia aritmética de los valores de PCS y LEC/MG; d) índice de sangrado (IS) en las 4 caras de cada diente evaluado; e) índice de placa bacteriana (IP); y f) compromiso de furca. El diagnóstico de enfermedad periodontal se basó en los criterios de Tonetti y Claffey⁷.

Para el análisis microbiológico de las muestras de saliva y del cono, fueron aplicadas las técnicas de extracción del ácido desoxirribonucleico (DNA) y de la reacción de polimerasa en cadena. Los controles positivos fueron cepas cultivadas de las bacterias *P. gingivalis*, *T. forsythia* y *A. actinomycetemcomitan*, de acuerdo con la técnica de Ashimoto⁸.

El análisis estadístico de los resultados utilizó las frecuencias absolutas y relativas de los datos, las medidas de tendencia central (media y mediana) y la dispersión de los valores (mínimo, máximo y desvío-estándar). Los tests de asociación (chi-cuadrado de Pearson y exacto de Fisher) fueron calculados para evaluar la relación entre la presencia de enfermedad periodontal y las variables cualitativas. En la evaluación de la condición periodontal, fueron considerados los parámetros clínicos: PCS, NCI, LEC/MG, IS y IP. Los tests no paramétricos de Mann-Whitney y chi-cuadrado de Pearson fueron utilizados para la comparación entre las gestantes reumáticas y las sanas. Se adoptó el nivel de significancia de 5,0% para rechazo de la hipótesis de nulidad.

EL estudio fue aprobado por las Comisiones de Ética en Investigación del Hospital de las Clínicas de la Facultad de Medicina (CAPPesp - proceso n° 199/05) y del InCor (proceso n° 2557-04/177) de la Universidad de São Paulo, y por el Comité de Ética en Investigación del Instituto Dante Pazzanese de Cardiología. Las pacientes fueron incluidas en el protocolo después de obtención de la firma del Término de Consentimiento Libre y Aclarado, de acuerdo con las normas de la Resolución n° 196, de 10 de octubre de 1996, del Consejo Nacional de Salud.

Resultados

Eran primigestas 61 pacientes (43,6%) y la media de la edad materna no fue diferente ($p < 0,451$) entre los grupos, siendo de $27 \pm 4,6$ años en las reumáticas y de $27 \pm 5,1$ años en las mujeres sanas. El análisis de la distribución de la lesión valvar en el grupo de gestantes reumáticas mostró que 45 (32,1%) de ellas presentaban valvopatía mitral, 5 (3,6%) valvopatía aórtica y 20 (28,5%), lesión combinada mitral y aórtica. Quince de las 70 gestantes reumáticas ya habían sido sometidas a cirugía cardíaca de sustitución valvar por prótesis biológica.

Examen clínico odontológico

El análisis de las informaciones de los hábitos de higiene bucal mostró que el uso de hilo dental fue mayor ($p = 0,02$) en el grupo de las gestantes reumáticas (48 = 68,5%) cuando fue comparado al sano (32 = 45,7%), mientras que el hábito de enjuagar la boca con antiséptico fue 2,3 veces mayor entre las gestantes sanas. Los exámenes odontológico y microbiológico fueron realizados en edad gestacional semejante ($p = 0,801$), siendo en media durante la $27,8^{\text{a}} \pm 6,6$ semana de gestación en el grupo de reumáticas y en la $29,8^{\text{a}} \pm 7,6$ semana en el sano.

La media del número de dientes preservados fue de 24,1 dientes en el grupo de las reumáticas y 24,0 en el grupo sano. La enfermedad periodontal fue identificada en 20 (14,3%) gestantes, siendo que 7 (10%) de ellas eran reumáticas y 13 (18,6%) sanas, no habiendo diferencia estadística ($p = 0,147$) en la comparación entre los grupos. El análisis de los parámetros periodontales demostrados en la Tabla 1 verificó diferencias entre los grupos en cuanto a las medidas LEC/MG ($p = 0,01$) e IP ($p = 0,04$).

Examen microbiológico

El análisis comparativo entre los grupos mostró que la proporción de la *P. gingivalis* fue significativamente mayor en la saliva de gestantes sanas en comparación a las reumáticas ($p = 0,004$), pero no hubo diferencia en cuanto a las bacterias *T. forsythia* y *A. actinomycetemcomitan* tanto en las muestras de saliva como en las del cono (Tabla 2). Análisis de la distribución de los tipos de bacterias entre las 20 gestantes que presentaron enfermedad periodontal mostró que la proporción de *P. gingivalis* y de *A. actinomycetemcomitan* fue significativamente mayor en las muestras de saliva y del cono, respectivamente (Tabla 3).

Datos obstétricos

No hubo complicación obstétrica materna durante la gestación y el parto. La edad gestacional del parto, calculada

Tabla 1 - Frecuencia de la enfermedad periodontal y medidas de los parámetros odontológicos

Grupos	Gestante reumática	Gestante sana	Valor de p
Enfermedad periodontal	7 (10,0%)	13 (18,6%)	0,147
Medidas de los parámetros	Variación (media - de)	Variación (media - de)	Valor de p
PCS	0,94 - 2,67 (1,48 ± 0,33)	1,06 - 3,73 (1,45 ± 0,38)	0,166
NCI	0,17 - 0,97 (0,46 ± 0,5)	0,12 - 2,1 (1,06 ± 0,35)	0,164
LEC/MG	-0,02 - 1,28 (0,5 ± 0,29)	-0,13 - 2,34 (0,36 ± 0,23)	0,01
IS	0,00 - 26,7 (5,73 ± 10,4)	0,00 - 25 (6,23 ± 5,07)	0,99
IP	0,00 - 53,7 (10,4 ± 11,67)	0,00 - 85 (13,48 ± 13,85)	0,048

PCS - profundidad clínica de sondaje; NCI - nivel clínico de inserción; LEC/MG - distancia de la línea esmalte-cemento al margen gingival; IS - índice de sangrado; IP - índice de placa bacteriana.

Tabla 2 - Proporción de las bacterias identificadas en las muestras de saliva y cono en los grupos

Bacteria	Muestra	Gestante reumática	Gestante sana	Total	p valor
		n (%)	n (%)	n (%)	
Pg	Saliva	21 (30,0)	38 (54,3)	56 (42,1)	0,004
	Cono	19 (27,1)	26 (37,1)	45 (32,1)	0,205
Tf	Saliva	24 (34,3)	19 (27,1)	43 (30,7)	0,36
	Cono	31 (44,3)	23 (32,9)	54 (38,6)	0,165
Aa	Saliva	8 (11,4)	5 (7,1)	13 (9,3)	0,382
	Cono	4 (5,7)	4 (5,7)	8 (5,7)	1

Pg - *P. gingivalis*; Tf - *T. forsythia*; Aa - *A. actinomycetemcomitan*.

Tabla 3 - Distribución de las bacterias *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Aggregobacter actinomycetemcomitans* en las muestras saliva y cono entre las gestantes con enfermedad periodontal (*p = 0,001)

Bacteria	<i>P. gingivalis</i>	<i>T. forsythia</i>	<i>A. actinomycetemcomitan</i>
Saliva	11 (55,0%)*	4 (20,0%)	1 (5,0%)
Cono	7 (35,0%)	8 (40,0%)*	1 (5,0%)
Ausente	2 (10,0%)	8 (40,0%)	18 (90,0%)

en semanas de gestación, varió entre 36 y 42 años (media = 38,54 ± 6,65) en las gestantes reumáticas y entre 32 y 42 años (media = 39,28 ± 7,65) en las sanas. El peso de los recién nacidos varió entre 3.017 y 4.488 g (media = 3.069 g ± 455) en el grupo de gestantes reumáticas, y entre 3.290 y 4.260 g (media = 3286 g ± 455) en el de las sanas. El análisis comparativa mostró que la edad gestacional del parto y el peso de los recién nacidos fueron menores en el grupo de las gestantes reumáticas, con significancia estadística (respectivamente p = 0,0036 y p = 0,034).

Discusión

El presente estudio provee datos originales a los conocimientos actuales sobre el involucramiento de la enfermedad periodontal en dos situaciones especiales: gravidez y valvopatía reumática.

Modificaciones hormonales de la gestación, cambios en el estilo de alimentación y higiene bucal precaria son factores que favorecen la manifestación de la gingivitis gravídica, habitual en el ciclo gravídico-puerperal^{9,10}. Se agrega que la falta de acceso al tratamiento odontológico y los mitos sobre la seguridad en el tratamiento dentario predisponen a la enfermedad periodontal durante la gestación¹¹.

Aunque la población considerada en este estudio estuviese expuesta a todos esos factores, el registro de 14,0% de enfermedad periodontal no fue diferente del porcentual encontrado en la población geral¹². Entre las explicaciones para tal hallazgo están las características de la casuística: pacientes jóvenes (media de edad de 27 años) que sabidamente¹³ presentan menor riesgo de enfermedad periodontal cuando son comparadas a los añosos; exclusión de tabaquistas y de portadoras de diabetes mellitus, condiciones de reconocido y elevado riesgo para enfermedad periodontal en la población geral^{14,15}. Se debe resaltar, entre tanto, que los conocimientos actuales carecen de más estudios sobre la incidencia de la enfermedad periodontal en cardíacos portadores de valvopatía reumática.

El presente estudio mostró que la proporción de 13 (18,6%) casos de enfermedad periodontal en el grupo sano y 7 (10,0%) en el grupo de reumáticas no resultó en significancia estadística. Entre tanto, se verificó en el examen clínico que parámetros, como la distancia entre la línea esmalte-cemento (LEC) y el margen gingival (MG) y el índice de placa bacteriana (IP), fueron diferentes en la gestante sana.

Tales hallazgos tal vez puedan ser explicados por la mejor higiene bucal efectuada por las gestantes reumáticas, las cuales utilizaban hilo dental con mayor frecuencia. Aunque de nivel socioeconómico semejante, las mujeres con valvopatía son, probablemente, mejor informadas sobre los potenciales riesgos cardíacos asociados a la mala salud bucal, fruto de la educación continuada recibida a lo largo del seguimiento cardiológico.

En ese sentido, ha sido reforzado en la práctica diaria que el estado inflamatorio e infeccioso crónico de la boca contribuye a la bacteriemia intermitente y al riesgo de endocarditis infecciosa en portadores de valvopatías. De hecho, Hull¹⁶ y Holmstrup¹⁷ demostraron que la cavidad bucal es la principal puerta de entrada para agentes etiológicos de la endocarditis infecciosa.

En lo que dice respecto a los tipos de agentes microbianos en la enfermedad periodontal, las dificultades en el reconocimiento de su especificidad se fundamenta en el significativo número de especies, observándose que cerca de 300 a 400 de ellas son encontradas en el biofilm bacteriano¹⁸. De ese espectro, posiblemente, algo entre 10 a 20 especies participan de la patogenicidad y de la destrucción periodóntica en la enfermedad periodontal¹⁹, prevaleciendo bacilos anaeróbicos gram-negativos, entre ellos el *A. actinomycetemcomitans* (grupo Hacek), la *P. gingivalis* y la *P. intermedia*, con predominio en las muestras de encía²⁰.

La identificación de mayor proporción de *P. gingivalis* en la saliva de gestantes sanas en comparación a las reumáticas (54,3% vs 29,20%; $p = 0,004$) refuerza la explicación sobre la mejor condición bucal de las pacientes cardíacas comparada a la de las gestantes sanas.

Considérese, entre tanto, la posible influencia positiva de la penicilina benzatina en el grupo de las gestantes reumáticas. Así, la recomendación de mantener la administración de ese antibiótico cada 21 días, durante la gravidez, con el propósito de prevenir nuevos surtos reumáticos, puede representar un beneficio adicional en la mejora de la salud oral y en la prevención de la enfermedad periodontal durante la gravidez.

En el presente estudio, la prevalencia de la *P. gingivalis* en las muestras de saliva en las pacientes que tuvieron enfermedad periodontal corrobora los relatos de Dietrich y Takeuchi¹⁹, que demostraron que la *P. gingivalis* es un agente patógeno de fuerte virulencia y que su detección debe ser utilizada como indicador clínico para enfermedad periodontal.

En cuanto a la evolución obstétrica, nuestros resultados no permitieron correlacionar la enfermedad periodontal con

los efectos adversos para la gravidez. Aunque la literatura haya llamado la atención para la asociación de enfermedad periodontal con el bajo peso al nacer y la prematuridad, a consecuencia del estado sistémico inflamatorio, aun no hay evidencias suficientes para permitir la correlación de efectos de la enfermedad periodontal con desenlaces obstétricos adversos²¹.

Por otro lado, la significativa proporción de recién nacidos de bajo peso y la menor edad gestacional en el parto, verificadas en el grupo de gestantes reumáticas, son explicadas por las restricciones al débito cardíaco materno y al flujo placentario, además de la acción de la eventual terapéutica con diuréticos y betabloqueantes utilizados en las gestantes reumáticas.

En el ámbito materno, la ausencia de complicaciones en el ciclo gravídico puerperal es atribuible a la no inclusión de pacientes portadoras de hipertensión arterial, diabetes mellitus y otras morbilidades, aliada al rigor de la asistencia prenatal multidisciplinaria.

Conclusión

El estudio clínico-microbiológico de la cavidad oral durante la gravidez demostró que la frecuencia de la enfermedad periodontal en mujeres portadoras de valvopatía reumática no fue diferente cuando comparada a las gestantes sanas.

Agradecimientos

La investigación tuvo apoyo financiero de la Fundação de Amparo à Pesquisa del Estado de São Paulo (processo 57931-2).

Al equipo de atención prenatal del Centro de Salud Geraldo de Paula Souza de la Facultad de Salud Pública de la Universidad de São Paulo por el apoyo a la formación de la casuística que incluyó a las gestantes sanas.

Potencial Conflicto de Intereses

Declaro no haber conflicto de intereses pertinentes.

Fuentes de Financiación

FAPESP financió el presente estudio.

Vinculación Académica

Est artículo forma parte de tesis de Doctorado de Lilia Timerman, por Incor.

Referencias

1. Raber-Durlacher JE, van Steengergen TJ, Van Der Velden U, de Graaff J, Abracham-Inpijn L. Experimental gingivitis during pregnancy and postpartum: clinical, endocrinological and microbiological aspects. *J Clin Periodontol*. 1994;21(8):549-58.
2. Abegg C. Oral hygiene habits among Brazilian adults in an urban area of southern Brazil. *Rev Saúde Pública*. 1997;31(6):586-93.
3. Gjermo P, Rosing CK, Susin C, Oppermann R. Periodontal diseases in Central and South America. *Periodontol* 2000;2002;29:70-8.
4. Sanz M, Lau L, Herrera D, Morillo JM, Silva A. Methods of detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Tannerella forsythensis* in periodontal microbiology, with special emphasis on advanced molecular techniques: a review. *J Clin Periodontol*. 2004;31(12):1034-47.
5. Mombelli A. Periodontitis as an infectious disease: specific features and their implications. *Oral Dis*. 2003;9(Suppl. 1):6-10.
6. Agueda A, Ramon JM, Manau C, Guerrero A, Echeverria JJ. Periodontal

Artículo Original

- disease as a risk factor for adverse pregnancy outcomes: a prospective cohort study. *J Clin Periodontol.* 2008;35(1):16-22.
7. Tonetti MS, Claffey N. Advances in the progression of periodontitis and proposal of definitions of a periodontitis case and disease progression for use in risk factor research. In: 5th European Workshop in Periodontology. *J Clin Periodontol.* 2005;32(Suppl. 6):210-3.
 8. 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.
 9. Kinane DF, Peterson M, Stathopoulou PG. Environment and other modifying factors of the periodontal disease. *J Periodontol.* 2006;40:107-19.
 10. Yalcin FEE, Soyduinc M, Basegmez C, Issever H, Isik G, Berber L, et al. The effect of sociocultural status on periodontal conditions in pregnancy. *J Periodontol.* 2002;73(2):178-82.
 11. Boggess, KA. Maternal oral healthy in pregnancy. *Obstetric Gynecol.* 2008;111(4):976-86.
 12. Oliver RC, Brown LJ, Loe H. Periodontal diseases in the United States population. *J Periodontol.* 1998;69(2):269-78.
 13. Dietrich T, Jimenez M, Krall Kaye EA, Vokonas PS, Garcia RI. Age-dependent associations between chronic periodontitis/edentulism and risk of coronary heart disease. *Circulation.* 2008;117(13):1668-74.
 14. Haber J, Kent RL. Cigarette smoking in a periodontal practice. *J Periodontol.* 1992;63(2):100-6.
 15. Kinane DF, Chestnutt IG. Relationship of diabetes to periodontitis. *Curr Opin Periodontol.* 1997;4:29-34.
 16. Hull MW, Chow AW. An approach to oral infections and their management. *Curr Infect Dis Rep.* 2005;7(1):17-27.
 17. Holmstrup P, Poulsen AH, Andersen L, Skuldbol T, Fiehn NE. Oral infections and systemic diseases. *Dent Clin North Am.* 2003;47(3):575-98.
 18. Darveau RJP, Tanner A, Page RC. The microbial challenge in periodontitis. *Periodontol 2000;1997;14:12-32.*
 19. Takeuchi Y, Umeda M, Sakamoto M, Benno Y, Huang Y, Ishikawa I. *Treponema socranskii*, *Treponema denticola*, and *Porphyromonas gingivalis* are associated with severity of periodontal tissue destruction. *J Periodontol.* 2001;72(10):1354-63.
 20. Yano-Higuchi K, Takamatsu N, He T, Umeda M, Ishikawa I. Prevalence of *Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in subgingival microflora of Japanese patients with adult and rapidly progressive periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2000;27(8):597-602.
 21. Xiong X, Buekens P, Fraser WD, Beck J, Offenbacher J. Periodontal disease and adverse pregnancy outcomes: a systematic review. *BJOG.* 2006;113(2):135-43.