



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

VÍRUS EPSTEIN-BARR NA PERIODONTITE, MUCOSITE E PERI-
IMPLANTITE: REVISÃO SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE

Trabalho submetido por
Nisrine Bouchama
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Outubro de 2019



INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

VÍRUS EPSTEIN-BARR NA PERIODONTITE, MUCOSITE E PERI-
IMPLANTITE: REVISÃO SISTEMÁTICA E META-ANÁLISE

Trabalho submetido por
Nisrine Bouchama

para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof. Doutor José João Mendes

Outubro de 2019

Dedicatória

*A deus e aos meus pais, por todo o apoio e
força que sempre me transmitiram
durante este longo caminho.*

Agradecimentos

Terminada uma grande etapa na minha vida gostaria de deixar aqui o meu sincero agradecimento a algumas pessoas que fizeram parte deste percurso:

Ao meu Orientador de tese, Prof. Doutor José João Mendes pela disponibilidade demonstrada.

Aos Mestre João Botelho e Mestre Vanessa Machado, por todo o incentivo, disponibilidade e ajuda.

Quero agradecer aos professores do Instituto Universitário Egas Moniz especialmente aos Docentes Clínicos.

À minha mãe Nouzha, que sempre encontrou as palavras certas para me ajudar a superar os obstáculos que cruzaram meu caminho. Meu amor por você é ilimitado.

Ao meu pai Fouad, que através de sua sabedoria iluminou meu caminho mais de uma vez.

Eu não estaria aqui hoje sem o seu apoio. Obrigado pela sua gentileza, seu amor incondicional.

À minha irmã mais velha Chaimae, quem sabia como estar lá em tempos difíceis. Obrigada pelo seu apoio. Nossos fins de semana de reunião são sempre um prazer.

Ao meu irmão Mohamed, o melhor irmão que existe neste mundo.

Aos meus avós que sempre rezam por mim, que sempre me apoiaram à sua maneira.

Aos meus amigos, pelo carinho que me deram e tudo o apoio, especialmente uma pessoa que o destino a levou a minha vida; Doria, gosto muito de ti.

A uma pessoa especial que teve sempre aqui a me apoiar nesta tese, Riccardo Cosi.

E aos meus amigos, Andreia, Luisa, Marta, Sarah, Charles, Berta, Robin, Catarina, Gonçalo, Francesco, obrigada pela vossa amizade.

RESUMO

Objetivo: Vários estudos têm investigado a associação entre o vírus Epstein-Barr (EBV) e a periodontite, a mucosite e a peri-implantite. Contudo, os resultados permanecem controversos. Assim, o objectivo desta revisão sistemática avaliar a impacto do EBV na periodontite, mucosite e peri-implantite.

Materiais e métodos: Para agilizar a identificação de estudos potencialmente elegíveis para inclusão nesta revisão sistemática, a pesquisa foi efectuada em PubMed via MEDLINE (Sistema de Análise e Recuperação de Literatura Médica Online), CIHNL, EMBASE, LILACS e CENTRAL (Registro Central de Ensaio Controlados da Cochrane), até julho de 2019 inclusive. Nenhuma limitação foi aplicada em relação ao ano ou idioma da publicação. As listas de referência dos artigos incluídos e as resenhas relevantes foram pesquisadas manualmente. Foi efectuada pesquisa de literatura cinzenta em www.opengrey.eu/. A qualidade metodológica dos estudos foi feita com a escala Newcastle-Ottawa. Foram conduzidas meta-análises de efeitos aleatórios para a prevalência e medidas clínicas periodontais.

Resultados: Por meio de busca eletrónica, foram identificados 37 artigos após avaliação do título e resumo do artigo. A triagem realizada revelou 4 artigos relevantes com objetivo de investigar as associações entre EBV e periodontite. O resultado da meta-análise destes 4 artigos revelou o índice de risco de 2.42 (Intervalo de Confiança 95%: 1.64-3.58) com valor de heterogeneidade baixo ($I^2=18\%$). Para a peri-implantite e mucosite não foi possível efetuar qualquer meta-análise, devido ao risco de duplicação de resultados.

Conclusões: Considerando as limitações desta revisão sistemática, os resultados mostram que o risco de presença de EBV em lesões de periodontite é 134% maior do que em saúde periodontal. Na Profundidade de Sondagem e Perda de Inserção Clínica, o EBV não apresentou impacto. Por outro lado, não foi possível estabelecer uma conclusão definitiva para a mucosite e peri-implantite devido há existência de uma meta-análise recente com risco de duplicação de resultados. No futuro, é necessário realizar ensaios clínicos randomizados de aspectos como a co-infecção com herpesvírus e bactérias, respostas associadas do hospedeiro no desenvolvimento de periodontite e ao tratamento viral concomitante ao tratamento periodontal.

Palavra Chaves: Vírus Epstein-Barr; Periodontite; Peri-implantite; Mucosite.

ABSTRACT

Objective: Several studies have investigated the association between the Epstein-Barr virus (EBV) and periodontitis, mucositis and peri-implantitis. However, the results remain controversial. Thus, the aim of this systematic review is to assess the impact of EBV on periodontitis, mucositis and peri-implantitis.

Materials and methods: To expedite the identification of potentially eligible studies for inclusion in this systematic review, research was conducted in PubMed via MEDLINE (Online Medical Literature Analysis and Recovery System), CIHNL, EMBASE, LILACS and CENTRAL (Central Registry of Controlled Trials of Cochrane), up to and including July 2019. No limitation was applied in relation to the year or language of publication. The reference lists of the included articles and the relevant reviews were searched manually. Grey literature was searched at www.opengrey.eu/. The methodological quality of the studies was done with the Newcastle-Ottawa scale. Meta-analyses of random effects for prevalence and clinical periodontal measurements were conducted.

Results: Through an electronic search, 37 articles were identified after evaluation of the title and abstract of the article. The screening revealed 4 relevant articles aimed at investigating the associations between EBV and periodontitis. The result of the meta-analysis of these 4 articles revealed a risk index of 2.42 (95% confidence interval: 1.64-3.58) with low heterogeneity value ($I^2=18\%$). For peri-implantitis and mucositis it was not possible to perform any meta-analysis.

Conclusions: Considering the limitations of this systematic review, the results show that the risk of EBV in the pockets of periodontitis patients is 134% higher than in periodontal health. For other levels of periodontal destruction, EBV did not have an influence. On the other hand, it was not possible to establish a definitive conclusion for mucositis and peri- implantitis due to the scarcity of studies. In the future, it is necessary to conduct randomized clinical trials on aspects such as co-infection with herpesvirus and bacteria, associated host responses in the development of periodontitis, and viral treatment concomitant with periodontal treatment.

Keywords: Epstein-Barr Virus; Periodontitis; Periimplantitis; Mucositis.

ÍNDICE GERAL

RESUMO.....	1
ABSTRACT	3
ÍNDICE DE TABELAS	7
ÍNDICE DE FIGURAS	9
LISTA DE SIGLAS.....	11
I. Introdução.....	13
1. O vírus Epstein-Barr.....	13
1.1. Contexto histórico	13
1.2. O vírus Epstein-Barr (EBV)	13
1.3. Morfologia do Herpesvírus	15
1.4. Interação do vírus com a célula	18
1.5. Replicação viral.....	19
1.6. Fatores de risco.....	20
1.7. Epidemiologia.....	21
1.8. Vias de transmissão.....	23
1.9. As doenças associadas ao Vírus Epstein-Barr.....	24
2. Doença periodontal.....	24
2.1. Etiologia e fatores de risco da periodontite	26
2.2. Epidemiologia da doença periodontal	27
3. Relação da Periodontite com o vírus Epstein-Barr.....	28
4. Peri-implantite e mucosite	29
4.1. Saúde peri-implantar.....	29
4.2. Mucosite peri-implantar.....	29
4.3. Peri-implantite.....	29
5. A relação da peri-implantite e mucosite com o vírus Epstein-Barr.....	30
6. Objectivo	31
6.1. Pergunta PICO/PECO	31
6.2. Elementos da pergunta PICO/PECO	31
II. Materiais e Métodos	33
2.1 Protocolo e registo	33
2.2 Critério de inclusão	33

2.3 Fontes de informação e pesquisa	33
2.4 Seleção dos estudos	34
2.5 Processo de extração de dados.....	34
2.6 Risco de viés em estudos individuais.....	35
2.7 Medidas de resumo e síntese de resultados	35
III. Resultados.....	37
IV. Discussão	43
V. Conclusão	47
VI. Bibliografia	49
VII. Anexo	

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1: Nomenclatura dos principais herpes vírus humanos (International Committee on Taxonomy of Viruses 2016)	1
Tabela 2: Distribuição geográfica dos genótipos do EBV em diferentes doenças Reprodução traduzida (Gratama e Ernberg 1995).....	22
Tabela 3: Características dos estudos incluídos na meta-análise.....	38
Tabela 4: Avaliação do Risco de Viés nos estudos incluídos – Newcastle-Ottawa Scale.....	39

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: (A) Partícula viral EBV observada em microscopia eletrônica (Young e Rickinson 2004) (B) Representação esquemática do DNA episomal, infecção latente (C) Representação Esquema de DNA linear [infecção lítica] (D) Representação esquemática da nomenclatura ORF.....	15
Figura 2: Estrutura genômica do EBV.....	17
Figura 3: Representação esquemática das glicoproteínas EBV e suas interações ("Vírus Epstein-Barr em Doenças Autoimunes Sistêmicas" 2016).....	19
Figura 4: Diagrama geral da multiplicação viral "Généralités Sur les virus" 2016)....	20
Figura 5: Distribuição etária e sexual das reações positivas de Paul-Bunnell-Davidson (Rosdahl, Larsen, and Thamdrup 1973).....	21
Figura 6: Distribuição específica por idade de anticorpos anti-EBV em quatro áreas geograficamente distintas - Reprodução (de Thé et al. 1975).....	22
Figura 7: Mapa que mostra o agrupamento de países por rendimento avaliado pelo Banco Mundial.....	23
Figura 8: Fluxograma PRISMA.....	37
Figura 9: Gráfico de meta-análise de estudos que calcula o Risco da presença de EBV em pacientes com periodontite (experimental) e sem periodontite (control).....	39
Figura 10: Gráfico de meta-análise de estudos que calcula o a diferença de médias de profundidade de sondagem em pacientes EBV positivo (control) versus EBV negativo (experimental).....	40
Figura 11: Gráfico de meta-análise de estudos que calcula o a diferença de médias de perda de inserção clínica em pacientes EBV positivo (control) versus EBV negativo (experimental).....	41

LISTA DE SIGLAS

EBV: Epstein-Barr vírus
EBV-1: Epstein-Barr vírus tipo 1
EBV-2: Epstein-Barr vírus tipo 2
Fc: Porção constante das imunoglobulinas
gB-I: gene gB- I
gB-IV: gene gB- IV
HHV : Herpesvírus humano
HHV-6: Herpesvírus humano 6
HHV-7: Herpesvírus humano 7
HHV-8: Herpesvírus humano 8
HSV :Vírus herpes simples
HSV-1:Vírus herpes simples tipo 1
HSV-2: Vírus herpes simples tipo 2
IgG: Imunoglobulina G
IgM: Imunoglobulina M
IL-1: Interleucina-1
IL-1 α : Interleucina-1 alfa
IL-1 β : Interleucina-1 beta
IL-2: Interleucina-2
LB: Linfócitos B
LT: Linfócitos T
MHC: Complexo de histocompatibilidade major
MMPs: Metaloproteinases de matriz
PCR: Reação em cadeia de polimerase
P. gingivalis: Porphyromonas gingivalis
P.intermedia:Prevotella intermedia
PMN: Polimorfonucleados
T.forsythia: Tanerella forsythia
TLR-9: Recetor do tipo Toll 9
TNF- α :Fator de necrose tumoral alfa
VIH: Vírus da Imunodeficiência Humana
OriIyt: Origem de replicação viral litica
OriP: Orifem de replicação viral latent
Pb: Par de bases
DL : Duplicated sequence left
DR: Duplicated sequence right
MI: Mononucleose infecciosa
VCA: Viral capsid antigen
BZLF1 ou ZEBRA : BamHi, Z Epstein-Barr vírus replication Activator
PTLD: Doença linfoproliferativa pós-transplanrte
UNPC: Undifferentiated nasopharyngeal non-keratinizing carcinoma
SLPT: Post-transplant lymphoproliferative disorder.

I. Introdução

1. O vírus Epstein-Barr

1.1. Contexto histórico

Na década de 60, Denis Burkitt e O’Conor interessaram pela doença que tinha uma distribuição geográfica e climática limitada, e que afetava as crianças da região da África Equatorial (Burkitt & O’Conor 1961; O’Conor 1961). Caracterizaram esta patologia como um tumor maligno, altamente prevalente em África, com distribuição anatómica característica e incomum, principalmente na mandíbula (Burkitt & O’Conor 1961), e etiologia multifatorial como a desnutrição e a estimulação repetida de um sistema imunitário deficiente (Pagano et al. 2004; Dozzo et al. 2016).

Este tumor viria a designar-se por linfoma de Burkitt (Dozzo et al. 2016) e que se suspeitava ser causado por um agente viral oncogénico, descoberto em análises de microscopia eletrónica (Epstein, Achong e Barr 1964).

Posteriormente, em 1968 Werner e Henle demonstraram que este novo agente tinha características muito diferentes dos vírus herpéticos já conhecidos na época, e acabou por designá-lo por vírus Epstein-Barr (EBV – *Epstein-Barr Vírus*) (Henle, Henle e Diehl 1968).

Nos anos que sucederam, demonstrou-se que a generalidade dos indivíduos, com e sem linfoma, apresentavam anticorpos contra o vírus EBV. Contudo, em 1968, a equipa de Henle comprova a relação entre a mononucleose infecciosa e o EBV, num estudo retrospectivo realizado em estudantes da Universidade de Yale com análises serológicas, confirmando o EBV como o agente causador desta doença (Henle, Henle e Diehl 1968).

1.2. O vírus Epstein-Barr (EBV)

Historicamente, o EBV foi o primeiro vírus humano associado a um tumor maligno com um carácter pandémico, infetando mais de 95% da população mundial. A infeção é assintomática na grande maioria dos casos, tanto no momento da infeção primária ou quando o vírus persiste no organismo (Kukhanova et al. 2014).

Quando existem manifestações clínicas agudas, a infecção primária está associada à tosse, dor abdominal, náuseas, vômitos, hepatoesplenomegália, icterícia, entre outros (Kukhanova et al. 2014). A persistência viral pode estar associada a casos graves em indivíduos saudáveis ou imunocomprometidos. Além disso, o EBV foi também associado a outras doenças autoimunes crônicas ou degenerativas (Young e Murray 2003).

O EBV é um herpes vírus gama humano tipo 4 (HγHV-4). Pertence à ordem *Herpesvirales*, família *Herpesviridae*, subfamília *Gammaherpesvirinae*, gênero *Lymphocryptovirus* (Tabela I) (Grywalska et al. 2015).

Tabela 1: Nomenclatura dos principais herpes vírus humanos (International Committee on Taxonomy of Viruses 2016)

Abreviatura	Nome completo	Subfamília
HHV-1	Herpes Vírus Simplex 1 (HSV-1)	<i>Alphaherpesvirinae</i>
HHV-2	Herpes Vírus Simplex 2 (HSV-2)	
HHV-3	Varicella Zoster Vírus (VZV)	
HHV-4	Epstein Barr Vírus (EBV)	<i>Gammaherpesvirinae</i>
HHV-5	Cytomegalovírus (CMV)	<i>Betaherpesvirinae</i>
HHV-6	Human Herpes Vírus 6 (HHV-6)	
HHV-7	Human Herpes Vírus 7 (HHV-7)	

Muitas tentativas têm sido feitas para classificar o EBV de acordo com informações clínicas ou epidemiológicas. (Grywalska et al. 2015). Inicialmente, o EBV foi classificado em dois tipos: EBV tipo 1 (EBV-1) e EBV tipo 2 (EBV-2) (tipo A e tipo B), baseados em alelos nos genes EBNA2 e EBNA-3A, -3B e -3C14. Uma das diferenças clínicas entre eles é que o tipo 1 pode converter células B em linfócitos linfoblásticos (LCL) de forma mais eficiente do que o tipo 2.

Na generalidade, foram identificadas cerca de 120 formas diferentes de herpes vírus dos quais oito infetam humanos, nomeadamente Vírus herpes simples (HSV) tipo 1 e 2, Vírus *Varicella-Zoster* (VZV), EBV, Citomegalovírus humano (CMV) e Herpesvírus humano (HHV-6, HHV-7 e HHV-8) (Tabela 1) (Slots & Slots 2011).

A classificação dos herpesvírus humanos, *Alphaherpesvirinae*, *Betaherpesvirinae* e *Gammaherpesvirinae*, foi feita de acordo com sua patogenicidade,

tropismo tecidual e o seu comportamento em circunstâncias de cultura em laboratório (Grywalska et al. 2015).

1.3. Morfologia do Herpesvírus

Estruturalmente, as partículas virais são constituídas por nucleóide (formado essencialmente pelo genoma e por proteínas), cápside isosaédrica (formada por capsómeros), tegumento de estrutura fibrilar (liga a cápside ao invólucro) e envelope lipídico (bicamada lipídica de natureza celular e glicoproteínas de origem viral) (Figura 1A) (Prescott et al. 2010).

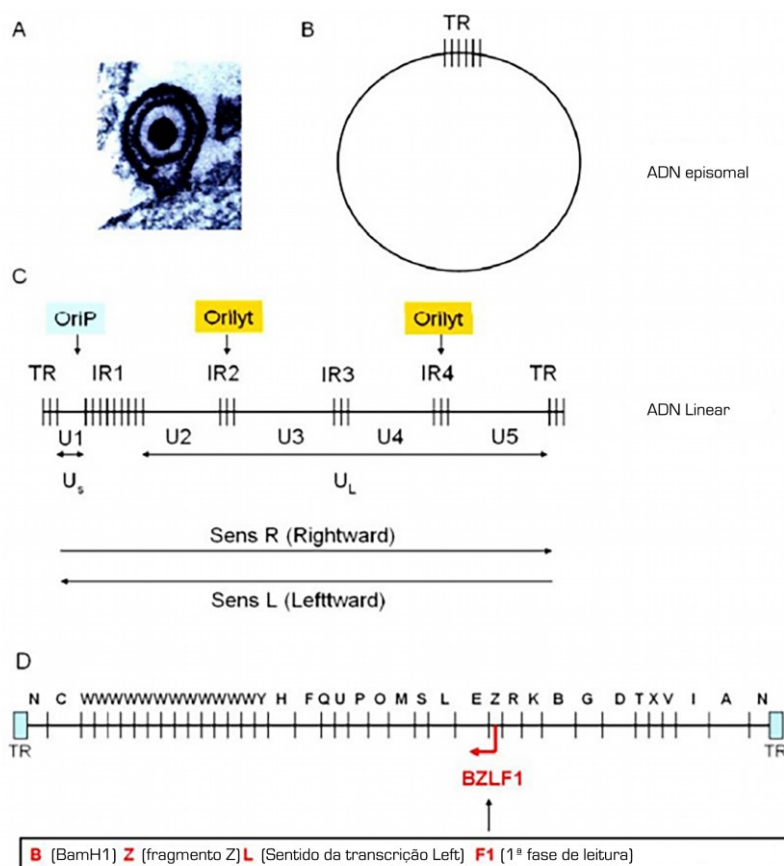


Figura 1: (A) Partícula viral EBV observada em microscópio eletrônico (Young e Rickinson 2004) (B) Representação esquemática do DNA episomal, infecção latente (C) Representação Esquema de DNA linear [infecção lítica] (D) Representação esquemática da nomenclatura ORF.

O genoma do EBV é composto por um par 172 kilo pares de bases (kpb) e codifica cerca de 86 proteínas. Encontram-se 2 domínios únicos: um domínio curto (de 15.000 pares de bases (bp)) e um domínio longo (de 50.000 bp). Estes 2 domínios são separados por sequências repetidas em tandem (de 3071bp) (Damania 2006). Na célula, o vírus é persistente sob a forma de um episódio intimamente ligado à cromatina (Figura 1B) (Damania 2006).

Na partícula viral, o ácido desoxirribonucleico (ADN) apresenta uma forma linear e tem, nas suas 2 extremidades, sequências terminais repetitivas (TR, região terminal) (Figura1C). Para permitir a transição de uma forma linear para uma forma episomal, as TRs fundem-se (Cruchley et al. 1997; Rickinson et al. 2007).

Neste genoma, há também duas origens distintas de replicação, dependendo se é durante a fase de latência ou para realizar um ciclo lítico completo (Cruchley et al. 1997; Rickinson et al. 2007).

A origem da replicação viral lítica (*ori-Lyt*) é composta por 2 regiões homólogas *Duplicated sequence right* (DR) e *Duplicated sequence left* (DL) e permite a replicação viral e lise celular durante fase lítica da infeção (Farina et al. 2000).

Tornou também possível distinguir cerca de cem quadros de leitura abertos (também designado por *Open Reading Frame* - ORFs) listados de acordo com o seu tamanho e capacidade de replicação (Farina et al. 2000). Existe uma nomenclatura que permite que eles sejam nomeados de acordo com o fragmento de restrição BamH1, a orientação da transcrição (para a esquerda ou para a direita) e a fase de leitura (quadro) (Figura 1D) (Farina et al. 2000).

O genoma do vírus é protegido por uma estrutura icosaédrica estreita, formando um complexo designado por nucleocápside (Germi et al. 2011), composta por 6 proteínas reunidas (Germi et al. 2011). As proteínas que constituem o capsídeo são proteínas tardias. Esta estrutura protege o vírus e é fundamental para a sobrevivência em ambiente externo (Farina et al. 2000).

Esta estrutura genómica é comum a todos os vírus herpéticos (Prescott et al. 2010). O genoma está inserido numa estrutura fibrilar assimétrica, o tegumento, que por sua vez é constituído por uma matriz proteica complexa que reveste o espaço entre o capsídeo e o envelope (Figura 2) (Farina et al. 2000).

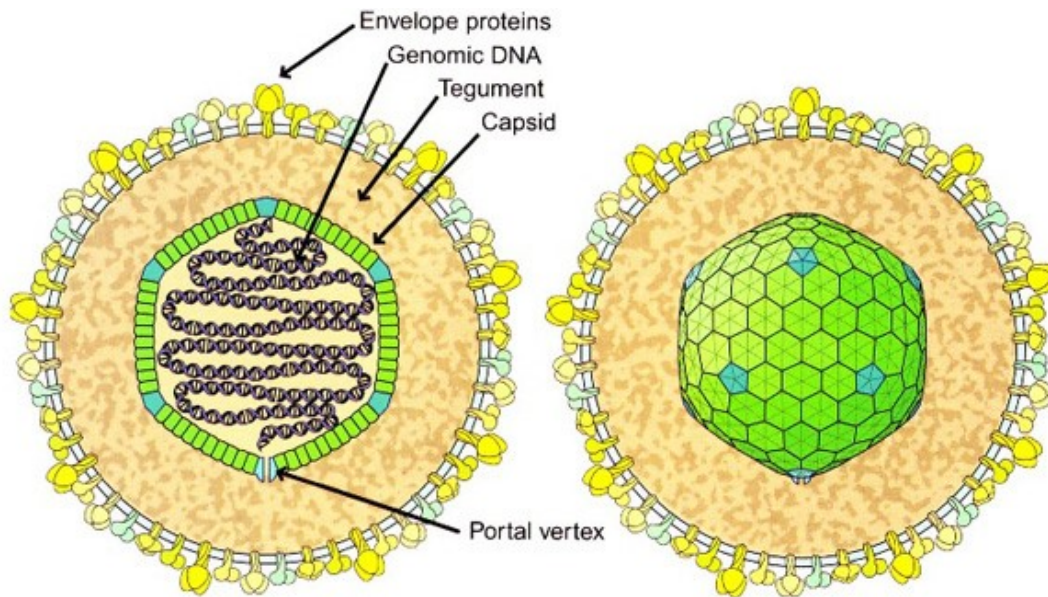


Figura 2 : Estrutura genômica do vírus Epstein-Barr (em <https://utswim.wordpress.com/2015/01/09/the-epstein-barr-virus-a-primer>)

As proteínas facilitam, por um lado a manutenção de estruturas virais e protegem o ácido nucléico, e por outro permitem a penetração na membrana celular e a adaptação ao sistema imunitário do hospedeiro através da modulações de sinalização da resposta imune e ativação de interferões (Prescott et al. 2010).

Por outro lado, o EBV é um vírus que está envolvido numa bicamada lipídica contendo cerca de dez glicoproteínas virais integradas que formam espículas. Estas glicoproteínas virais estão integradas numa bicamada lipídica resultante da migração da estrutura viral para a célula hospedeira (Figura 2) (Prescott et al. 2010). No caso dos *Herpesviridae*, existe uma proliferação ao nível da membrana nuclear que se dirige para o complexo de Golgi. Ao longo de toda esta migração intracelular, a futura partícula viral apropria-se de parte das bicamadas lipídicas (Prescott et al. 2010).

Finalmente, é ao nível da membrana citoplasmática que ocorre o último passo com a integração de glicoproteínas virais. Estas proteínas são sintetizadas na célula hospedeira e são enviadas para o local de montagem final (Prescott et al. 2010).

1.4. Interação do vírus com a célula

O primeiro passo na replicação do vírus é a fixação e penetração do vírus que envolve uma interação entre as proteínas virais na superfície dos viriões e um recetor específico presente na membrana celular. A penetração é possível graças a dois mecanismos que podem, ou não, ser concomitantes: endocitose e/ou fusão (Figura 4- passo 1) (Cruchley et al. 1997; Rickinson et al. 2007).

Por norma, os vírus não-encapsulados sofrem endocitose, e nos vírus encapsulados existe uma fusão o envelope viral e a membrana celular (Cruchley et al. 1997; Rickinson et al. 2007).

No segundo passo, a descapsidação pode ocorrer de imediato ou passado algum tempo, e pode também ser total ou parcial. Esta etapa permite que o ácido nucléico do vírus seja libertado no interior da célula (Figura 4 - passo 2) (Cruchley et al. 1997; Rickinson et al. 2007).

A terceira fase da multiplicação do vírus é a replicação viral que depende do vírus e é diferente conforme o vírus é ácido ribonucleico (RNA) de polaridade positiva (RNA+) ou negativa (RNA-) ou de ADN. Para vírus RNA+, o RNA é imediatamente traduzido em proteína como um RNA mensageiro (mRNA) seria. O vírus em RNA- deve ser transcrito em RNAm pelo ribossoma inicialmente e seguidamente é traduzido. Finalmente, para os vírus de ADN, existem vários processos diferentes baseados em vários níveis de transcrição e tradução. O ADN parental é transcrito em mRNA que por sua vez é traduzido em proteínas que podem ser usadas para a replicação do ADN parental numa nova transcrição. Nesta cascata de transcrição a tradução possibilita a obtenção de proteínas precoces que regulam a expressão proteica posterior (Figura 4 - etapa 3) (Cruchley et al. 1997; Rickinson et al. 2007).

O quarto passo é o encapsulamento, onde os genomas virais recém sintetizados (neogenomas virais) são cercados por proteínas recém traduzidas (neocápside) e este conjunto forma um *neovirion* (Figura 4 - passo 4) (Cruchley et al. 1997; Rickinson et al. 2007).

Finalmente os vírus são libertados. Esta etapa é, na verdade, a última etapa em maturação dos neoviriões. Pode ser intracelular, e neste caso, sem envelope sofrem maturação que leva à lise celular. Por outro lado, pode também ter lugar ao nível de a

membrana celular da célula infetada e este é o caso dos vírus com envelope que serão submetidos a exocitose (Figura 4 - etapa 5) (Cruchley et al. 1997; Rickinson et al. 2007).

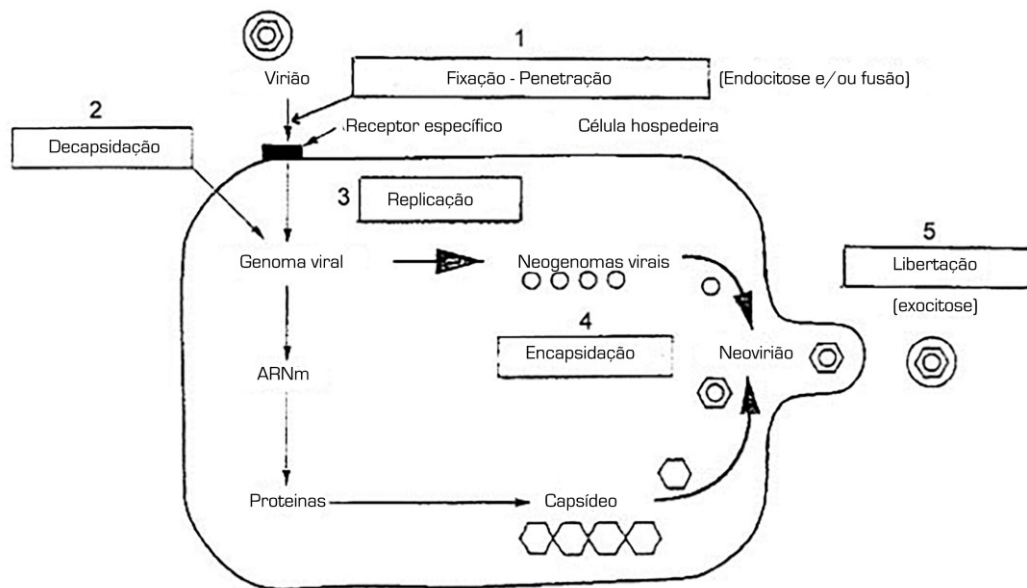


Figura 3: Diagrama geral da multiplicação viral (Adaptado de Généralités Sur les virus" 2016 (<http://www.microbiologie-medicale.fr/virologie/generalitesvirus.htm>))

1.5 Replicação viral

Após a infecção primária, o EBV persiste ao longo de toda a vida em alguns linfócitos B na forma cópias do genoma circular. Esta infecção latente é acompanhada pela expressão de parte do genoma viral na forma de antígenos de latência incluindo o antígeno nuclear para o EBV.

O vírus consegue adaptar-se célula infetada, favorecendo a saída de glicoproteínas virais para superfície celular. Estas partículas virais saem da superfície celular e integram as glicoproteínas virais da superfície, promovendo uma infecção severa (Xiao et al. 2007) (Figura 3).

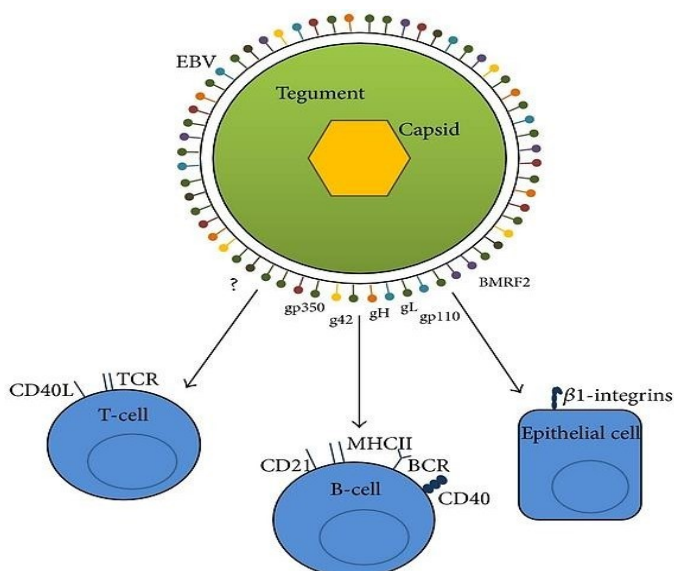


Figura 4 : Representação esquemática das glicoproteínas EBV e suas interações ("Vírus Epstein-Barr em Doenças Autoimunes Sistêmicas" 2016).

1.6. Fatores de risco

Os estudos serológicos demonstraram que 90 a 95% dos adultos são portadores do vírus (Chang et al. 2019), e a seroconversão pode ocorrer muito cedo na vida dos indivíduos. Em alguns países desenvolvidos, uma distribuição bimodal da infecção é descrita com um pico de infecção primária: 1) antes dos 5 anos de idade; e 2) entre os 16 e 20 anos de idade (Edwards e Woodroof 1979). O segundo pico pode ser explicada pela contaminação intra-familiar com crianças pequenas ou com parceiros íntimos durante a adolescência (Edwards e Woodroof 1979).

Não há diferença significativa entre a soro-prevalência do EBV em homens e mulheres, tanto em crianças como em adolescentes (Figura 5). No entanto, as concentrações de anticorpos nas mulheres são geralmente mais altas, mas esta diferença não é significativa (Beagley e Gockel 2003). Esta conclusão está de acordo com a informação de que as mulheres desenvolvem mais anticorpos do que os homens em resposta a infecções e/ou vacinação (Beagley e Gockel 2003).

A distribuição global do EBV destaca a presença de fatores genéticos. Na verdade, algumas populações parecem ser mais "sensíveis" a um genótipo associado a eventos particulares. É o caso, por exemplo, dos Inuit do Alasca e das populações no Sudeste Asiático, onde um alto nível de EBV tipo 2 é observado (Hildesheim et al. 2002).

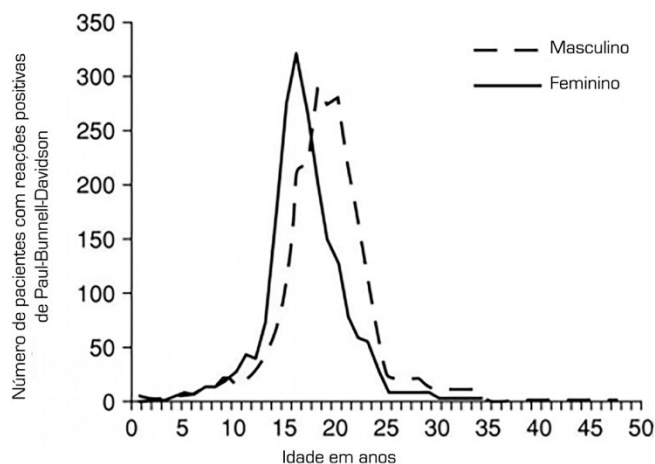


Figura 5: Distribuição etária e sexual das reações positivas de Paul-Bunnell-Davidson (Rosdahl, Larsen, and Thamdrup 1973).

1.7. Epidemiologia

O vírus foi encontrado em diversas populações no mundo (Gratama et al. 1995), no entanto, apresenta uma distribuição geográfica diferente dependendo do genótipo (Gratama et al. 1995). O EBV-1 é o mais prevalente do mundo, contudo existem regiões, como na África Central, Alasca e Papua Nova Guiné, onde o EBV-2 é encontrado com mais frequência (Arvin et al. 2007).

A tabela 2 permite-nos observar que a distribuição geográfica é claramente diferente, mas está intimamente relacionada com a expressão clínica da infecção (Gratama et al. 1995).

Um valor surpreendente de 100% de EBV- 2 no Alasca foi observado numa população esquimó no âmbito da carcinoma nasofaríngeo indiferenciado e não queratinizado (*Undifferentiated nasopharyngeal non-keratinizing carcinoma - UNPC*) (Tabela 2). Assim, a presença do EBV-2 é incomum na maioria das regiões estudadas, exceto em caso de Vírus da Imunodeficiência Humana positivo (VIH-positivo) ou transplante cardíaco (Gratama et al. 1995) (Tabela 2).

Tabela 2: Distribuição geográfica dos genótipos do EBV em diferentes doenças
Reprodução traduzida (Gratama e Ernberg 1995).

País	Pacientes	N	Tipe 1 (%)	Tipe 2 (%)	Tipe 1&2 (%)
China (Hu et al. 1991)	UNPC	37	86	14	0
Taiwan (Shu et al. 1992)	UNPC	53	94	4	2
Coréia do Sul (Kim et al. 2002)	Sãs	26	81	15	4
Japão (Kunimoto et al. 1992)	Sãs	21	95	5	0
EUA (Frank et al. 1995)	SLPT	24	100	0	0
EUA (Goldschmidts et al. 1992)	Sãs	22	55	45	0
Alaska (Abdel-Hamid et al. 1992)	UNPC	3	0	100	0
Argentina (Correa et al. 2004)	Sãs	183	78	15	7
Brasil (Klumb et al. 2004)	LyB	21	86	14	0
África Central (Goldschmidts et al. 1992)	LyB	16	50	50	0
Papua-Nova Guiné (Aitken et al. 1994)	LyB	56	42	53	5
Europa Ocidental (Sandvej et al. 1994)	LH	55	93	5	1
Australia (Kyaw et al. 1992)	Soropositivo VIH	56	27	30	43
Australia (Kyaw et al. 1992)	Transplante cardíaco	18	39	33	28

EUA – Estados Unidos da América; UNPC - *Undifferentiated nasopharyngeal carcinoma*.

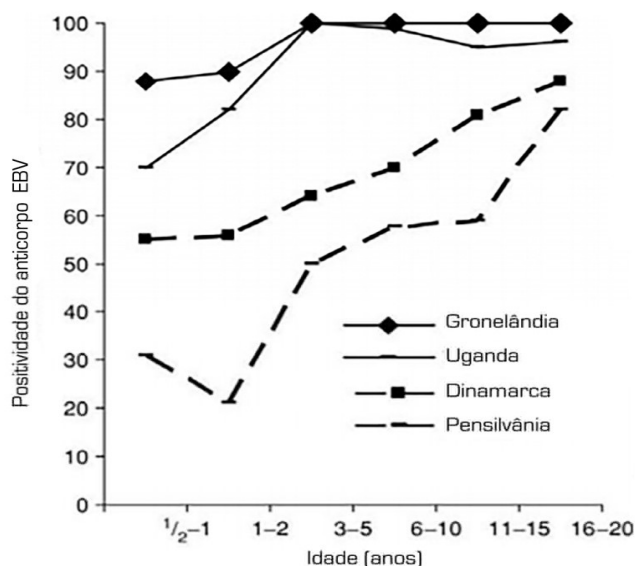


Figura 6: Distribuição específica por idade de anticorpos anti-EBV em quatro áreas geograficamente distintas - Reprodução (de-Thé et al. 1976)

Nos países em desenvolvimento, a mediana da idade das infeções primárias diminuiu significativamente nos últimos 50 anos, observando-se menos de 50% de soroprevalência em crianças de 10 anos (Chang et al. 2019). Em contraste, nos países em desenvolvimento, a sero-prevalência é elevada desde uma idade precoce. Assim, as condições socio-económicas são refletidas na disseminação precoce do EBV na população (Figura 7).

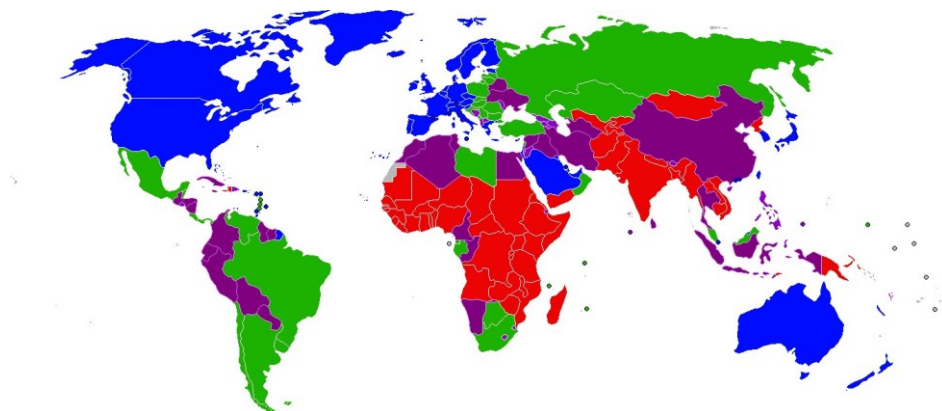


Figura 7: Mapa que mostra o agrupamento de países por rendimento avaliado pelo Banco Mundial. Azul: Países de rendimento elevado; Verde: Países de rendimento médio-alto; Púrpura: Países de rendimento médio-baixo; Vermelho: Países de rendimento baixo. Adaptado de “World Bank Country and Lending Groups – World Bank Data Help Desk” 2016.

1.8. Vias de transmissão

O EBV é transmitido principalmente por secreções orofaríngeas (Idesawa et al. 2004). Em adolescentes, jovens adultos e adultos, a principal via de transmissão é o contato íntimo com ao nível da boca, muitas vezes relatada como "doença do beijo" (Idesawa et al. 2004). Nas crianças a transmissão pode ocorrer através de brinquedos ou através de contato manual (Sawyer et al. 1971).

O EBV foi detetado no muco cervical de adolescentes e jovens adultos, no entanto ainda não é conhecida a forma de transmissão sexual. Além disso, nestes casos específicos, é difícil determinar o modo exato de transmissão entre contactos oro-genital ou beijo (Idesawa et al. 2004).

A transmissão de mãe para filho, seja por via transplacentária ou durante o aleitamento materno, só raramente é relatada. No entanto, durante gravidez, quando existe uma reativação viral, pode ocorrer também parto prematuro (Eskild et al. 2005).

Relativamente à transmissão por transfusão transplante, está descrito na literatura a doença linfoproliferativa pós-transplante (PTLD, *Post-Transplant Lymphoproliferative Disorders*), frequentemente associadas à reativação do vírus de Epstein-Barr nos doentes transplantados. Assim, uma complicação grave da imunossupressão (Vignon 2000).

1.9. As doenças associadas ao Vírus Epstein-Barr

Na literatura estão descritas diversas patologias relacionadas com a infeção pelo EBV, nomeadamente mononucleose infecciosa, leucoplasia oral pilosa em doentes com vírus de imunodeficiência humana (VIH), transplantados imuno-comprometidos e doentes immuno-comprometidos (Shanahan et al. 2018), Linfoma de Burkitt, carcinoma não diferenciado da nasofaringe, PTLD, doença de Hodgkin, linfoma das células T, doença periodontal, entre outros. (Young e Murray 2003)

2. Doença periodontal

A doença periodontal, incluindo a gengivite e a periodontite, é uma condição crónica inflamatória caracterizada pela destruição progressiva dos tecidos que envolvem o dente (gengiva, osso alveolar, ligamento periodontal e cemento radicular) (Darveau 2010, Tonetti et al. 2018, Trombelli et al. 2018). A doença periodontal é considerada um problema de Saúde Pública devido a uma elevada prevalência (Kassebaum et al. 2014).

A gengivite é uma condição patológica reversível do periodonto que ocorre devido à acumulação de placa bacteriana na superfície dentária e gengival (Scannapieco et al. 2010). A inadequada higiene oral, e consequente aumento da agressividade das bactérias que constituem o biofilme, leva um desequilíbrio imune do hospedeiro. Desta forma, as bactérias têm um maior acesso às estruturas periodontais e áreas subjacentes, levando a alterações vasculares e à formação de exsudato inflamatório (Slots 2017). Assim, a gengiva torna-se hiperemiada, edemaciada e hemorrágica (Trombelli, Farina, Silvia e Tatakis 2018). Tendo isto em conta, a gengivite define-se como uma inflamação

superficial da gengiva onde, apesar das alterações patológicas, o epitélio de união se mantém unido ao dente, não havendo perda de inserção. Contudo, tem um papel precursor na perda de inserção ao redor dos dentes se os fatores etiológicos não forem eliminados (Scannapieco et al. 2010).

Na ausência de tratamento, a gengivite pode evoluir para uma inflamação crônica com destruição do periodonto (Soares et al. 2009). A doença periodontal é uma inflamação e infecção crônica produzida por bactérias gram-negativas (Petersen et al. 2005). É a segunda maior causa de patologia oral na população humana de todo o mundo (Petersen et al. 2005). Quando surge, provoca a destruição dos tecidos de suporte periodontal, resultando na formação de bolsas periodontais com perda óssea e uma contínua migração apical do epitélio de união. Este processo, característico da periodontite, resultará na destruição dos componentes do periodonto como o cemento radicular, ligamento periodontal e reabsorção do osso alveolar (Soares et al. 2009; Scannapieco et al. 2010; Papapanou et al. 2018). Macroscopicamente, a gengiva apresenta-se eritematosa com sinais de inflamação. No entanto, esta característica pode não estar presente, como no caso de doentes fumadores nos quais a vasoconstrição provocada pelo tabaco simula ausência de inflamação (Scannapieco et al. 2010).

Os acontecimentos a nível celular baseiam-se na estimulação de mediadores da inflamação como neutrófilos, fibroblastos, células epiteliais e monócitos na presença de toxinas bacterianas (Modéer e Wondimu 2000; Scannapieco et al. 2010). Os neutrófilos libertam as metaloproteinases (MPM) que levam à destruição do colagénio. As restantes células envolvidas promovem a libertação de prostaglandinas, especialmente prostaglandina E, que por sua vez, induzem a libertação de citocinas, entre as quais Interleucina-1 (IL-1) e Interleucina-6 (IL-6) e Fator de Necrose Tumoral (TNF). Estas conduzem à reabsorção óssea através da estimulação dos osteoclastos, conduzindo a longo/médio prazo a perda irreversível de peças dentárias (Scannapieco et al. 2010).

Devido à cronicidade da doença periodontal, a idade é um fator de risco para o aumento da gravidade e extensão. Geralmente, as suas primeiras manifestações ocorrem na infância e tendo em conta que o periodonto do paciente pediátrico está em constante modificação, a prevenção, diagnóstico precoce e tratamento são fundamentais assim como uma avaliação da dinâmica do desenvolvimento de ambas as dentições e do periodonto (Modéer e Wondimu 2000). Estudos epidemiológicos indicam que gengivites simples e reversíveis afetam praticamente todas as crianças (Albandar e

Rams 2002) sendo que o quadro de saúde onde os tecidos gengivais exibem, normalmente, uma coloração rosa pálida, apresentando a sua superfície um aspeto granuloso e consistência firme, pode estar alterado mesmo em pacientes muito jovens (McDonald et al. 1995). Uma grande parte dos casos de periodontite em crianças ocorre como manifestação da alteração de certas condições sistémicas ou genéticas que comprometem a resposta de defesa do hospedeiro à placa bacteriana (Albandar e Rams 2002),

A natureza insidiosa da doença periodontal é indicada pela ocorrência de uma inflamação gengival leve nas crianças, aumentando de gravidade em adolescentes e adultos jovens, podendo mesmo levar à perda parcial ou completa dos dentes na idade adulta (McDonald et al. 1995).

2.1 Etiologia e fatores de risco da periodontite

A placa bacteriana é o fator etiológico principal da doença periodontal. O envolvimento de bactérias na etiologia da doença periodontal está bem definido (Darby e Curtis 2001). No entanto, a evolução da doença, que depende de fatores locais e sistémicos, está diretamente relacionada com a modulação da resposta do hospedeiro à presença dos produtos bacterianos que estimulam o processo inflamatório (Modéer e Wondimu 2000).

Os fatores locais tais como doença periodontal prévia evidenciada por aumento da profundidade de sondagem, presença de cálculo e causas iatrogénicas como as restaurações em excesso ou desadaptadas, favorecem a acumulação de placa bacteriana e dificultam uma boa higiene oral (Genco 1996). Por outro lado, os fatores sistémicos podem modular e diminuir a resposta protetora do hospedeiro (Modéer e Wondimu 2000). A diabetes mellitus não controlada e o tabaco são considerados os verdadeiros fatores de risco para a doença periodontal, influenciando fortemente o início e a progressão da periodontite (Ganesan et al. 2017). Crianças e jovens, condições sistémicas como alterações quantitativas e funcionais dos neutrófilos são também importantes elementos de risco (Genco 1996).

Estudos revelam a existência de outros indicadores de risco importantes para a doença periodontal, nomeadamente a idade, género, higiene oral inadequada, stress e fatores genéticos (Albandar e Rams 2002; Scannapieco et al. 2010).

2.2. Epidemiologia da doença periodontal

A doença periodontal é uma das patologias mais prevalentes do mundo e por isso é um problema de Saúde Pública devido à sua alta prevalência (Kassebaum et al. 2014). Uma revisão sistemática recente mostrou, a partir de 72 estudos envolvendo mais de 290.000 indivíduos com mais de 15 anos de idade, que a doença periodontal foi a sexta doença mais prevalente no mundo. Os autores observaram que 10,8% dos sujeitos incluídos apresentaram periodontite. A prevalência variou muito entre as populações, com 3,6% na ilha Fidji e 18,7% no Chile. A prevalência de periodontite também aumentou com a idade, particularmente entre 30 e 40 anos, até atingir um limiar após 40 anos, com prevalência superior a 25% (Kassebaum et al. 2014).

No entanto, a prevalência desta patologia enfrenta um desafio epidemiológico substancial. Nas últimas décadas, as definições de caso de periodontite sofreram evoluções significativas, passando de um diagnóstico baseado na perda de inserção clínica e profundidade de sondagem, conforme proposto pelo CDC Working Group (Page & Eke 2007; Page & Eke 2012), para um diagnóstico baseado principalmente na perda de inserção clínica e considerando o espaço interproximal como uma zona comum adjacente, proposta pela Associação Americana de Periodontologia (AAP) / Federação Europeia de Periodontologia (EFP) (Tonetti et al. 2018).

Poucos estudos epidemiológicos relativos à doença periodontal fornecem informações abrangentes e comparáveis na Europa (Holde 2017, Aimetti 2015, Holtfreter 2009) e Estados Unidos da América (Eke et al. 2015). Além disso, devido à novidade do consenso *American Association of Periodontology (AAP) / European Federation of Periodontology (EFP) 2017*, o número de estudos utilizando essa definição de caso ainda é escasso.

Escassos são os estudos epidemiológicos que relatam dados do estado periodontal da população portuguesa (Nobre et al. 2017, Machado et al. 2018, DGS et al. 2015, Botelho & Machado et al. 2019). O único estudo epidemiológico nacional, que utiliza o Índice Periodontal Comunitário de Necessidades de Tratamento (CPITN), relatou que a prevalência é de 10,8% e 15,3% em adultos e idosos, respectivamente (DGS 2015). Esses resultados contrastam com os recentes dados do *Study of*

Periodontal Health in Almada-Seixal, onde a doença periodontal teve uma prevalência de 67,9%, utilizando o novo consenso AAP/EFP (Tonetti et al. 2018).

3. Relação da Periodontite com o vírus Epstein-Barr

Desde os anos 90, os herpesvírus, em particular o CMV e o EBV, foram considerados como patógenos importantes na etiologia da doença periodontal (Brogden, 2002).

Na fase latente, o vírus encontra-se presente em mais de 90% da população adulta, tendo como via primária de transmissão a saliva e sendo detetado, principalmente, em linfócitos B e no epitélio de células da orofaringe (Knipe et al. 2001). O resultado direto da infecção viral e da replicação do vírus é a destruição periodontal. As células inflamatórias infetadas pelos herpesvírus liberam citocinas que destroem os tecidos periodontais. É concebível que os herpesvírus dependam da coinfeção com as bactérias periodontais para produzir a periodontite e, dessa forma, as bactérias podem depender da presença viral para inicialização e progressão de alguns tipos de periodontite (Knipe et al. 2001).

O EBV tem sido o mais frequentemente detetado em amostras de bolsas periodontais, enquanto raramente está presente em locais saudáveis. Por outro lado, alta prevalência de HSV-1 e EBV no fluido gengival em pacientes com gengivite e periodontite crónica também tem sido observada (Shah e Mehta 2016). Assim, a literatura sugere participação dos herpesvírus no desenvolvimento e na extensão da periodontite (Slots et al. 2003). Além disso, o tratamento periodontal leva a uma redução desses vírus em locais infetados (Shah e Mehta 2016).

Outros estudos detetaram ADN de herpesvírus como CMV e EBV em altas concentrações em amostras subgengivais de placa bacteriana de pacientes com periodontite (Konstantinidis et al. 2005 ; Saygun et al. 2005)

Em 2015, o estudo de Kazi et al. (2015), demonstrou que a associação entre pacientes com periodontite e HSV-1, HSV-2, EBV e CMV é de 28%; 32%; 30,66% e 37,33%, respetivamente. O EBV foi detetado em todos os tipos de periodontite crónica. Embora este vírus não esteja significativamente associado à periodontite, existe um aumento significativo na periodontite severa. Suspeita-se, portanto, que o EBV desempenhe um papel importante no aumento da gravidade da doença periodontal.

Recentemente, os resultados de uma meta-análise sugeriram que o EBV e o CMV estão significativamente associados com periodontite crônica (Zhu et al. 2015). Contudo, uma das limitações deste estudo foi a inclusão de pacientes sistemicamente comprometidos. Por outro lado, apenas uma revisão sistemática investigou o EBV em mucosite e peri-implantite (Akram et al. 2019), e considerando o elevado número de artigos publicados torna-se importante uma atualização da evidência.

4. Peri-implantite e mucosite

4.1. Saúde peri-implantar

Clinicamente, a saúde peri-implantar é caracterizada pela ausência de sinais visuais de inflamação e sangramento na sondagem. A saúde peri-implantar pode existir ao redor de implantes com suporte ósseo normal ou reduzido, pelo que a literatura não consegue definir uma faixa de profundidades de sondagem compatível com a saúde do peri-implante (Berglundh et al. 2018).

4.3. Peri-implantite

A peri-implantite é definida como uma condição patológica que ocorre no tecido em torno dos implantes dentários. Caracteriza-se por inflamação na mucosa peri-implantar e subsequente perda progressiva do osso de suporte (Araujo et al. 2018).

A peri-implantite está associada ao mau controle da placa bacteriana e a pacientes com história de periodontite grave, podendo ocorrer precocemente após a colocação do implante. Por outro lado, na ausência de tratamento adequado parece progredir através de um padrão não-linear e acelerado (Schwarz et al. 2018).

4.2. Mucosite peri-implantar

A mucosite peri-implantar precede a peri-implantite, e é caracterizada por hemorragia à sondagem e sinais visuais de inflamação. Embora haja forte evidência de que a mucosite peri-implantar é causada por placa bacteriana, há evidências muito limitadas de mucosite peri-implantar não induzida por placa. A mucosite peri-implantar pode ser revertida com medidas destinadas a eliminar a placa bacteriana (Heitz-Mayfield et al. 2018).

5. A relação da peri-implantite e mucosite com o vírus Epstein-Barr

Tal como acontece na destruição do tecido periodontal, o papel e influência dos herpesvírus herpesvirus na peri-implantite também foi cuidadosamente avaliado (Dawson et al. 2009). O primeiro estudo piloto realizado pelos autores Jankovic et al. (2011), avaliou a presença de vírus HCMV e EBV em locais com saúde peri-implantar, com peri-implantite e mucosite, com o objetivo de avaliar a correlação da presença de vírus segundo os parâmetros clínicos (Jankovic et al. 2011a; Jankovic et al. 2011b). Este estudo não encontrou uma correlação estatisticamente significativa entre a presença de HCMV-1 ou EBV-2 em locais com saúde peri-implantar, peri-implantite e mucosite. Contudo, o HCMV-2 e EBV-1 foram encontrados em locais de peri-implantite e mucosite, respectivamente (Jankovic et al. 2011-A). Outros autores avaliaram quantitativamente a contagem de EBV e relataram níveis locais e salivares significativamente aumentados de EBV em pacientes com peri-implantite comparados com pacientes com implantes saudáveis (Verdugo et al. 2015, Marques-Filho et al. 2018, Canullo et al. 2018).

O papel exato e o valor diagnóstico do EBV como biomarcador da peri-implantite permanece por definir. Contudo, os resultados de uma meta-análise recente revelaram que casos peri-implantite apresentam 20% maior risco, contudo com elevada heterogeneidade (78,79%). Compreensivamente, as frequências de EBV foram aumentadas em pacientes com peri-implantite em comparação com implantes saudáveis. Porém, como destacado pelos autores, a heterogeneidade elevada e o pequeno número de artigos incluídos são razões para se ponderar repetir este tipo de análises, incluídos artigos recentemente publicados.

6. Objectivo

6.1. Pergunta PICO/PECO

“Em pacientes adultos, está o vírus Epstein-Barr associado a maior risco de periodontite, mucosite ou peri-implantite?”

6.2. Elementos da pergunta PICO/PECO

- População (P): Pacientes adultos
- Exposição (E): Exposição ao EBV
- Comparação (C): Não exposição ao EBV
- Resultado (O): Periodontite, Mucosite ou Peri-implantite.

II. Materais e Métodos

2.1 Protocolo e registo

A presente revisão sistemática foi planeada *a priori*, em total concordância e registrada no National Institute for Health Research PROSPERO, International Prospective Register of Systematic Reviews (<http://www.crd.york.ac.uk/PROSPERO>, Número de Identificação: CRD42018103393). O protocolo da revisão foi estruturado de acordo com *Cochrane Handbook of Systematic Reviews of Interventions* (Higgins & Green, 2011) e relatada de acordo com as diretrizes Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) (Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, *et al.* 2009) (Anexo 1) e sua extensão para resumos (Beller EM, Glasziou PP, Altman DG, *et al* 2013).

2.2 Critério de inclusão

Seriam alvo de inclusão, estudos clínicos randomizados e estudos clínicos observacionais (estudos de caso-controle e estudos coorte), que tenham efectuado análises por PCR (*Polymerase chain reaction*) da presença de DNA de EBV e/ou sem diagnóstico de periodontite.

Foram excluídos os estudos sem análises por PCR de DNA de EBV e/ou sem diagnóstico de periodontite e sem qualidade elevada na análise.

2.3 Fontes de informação e pesquisa

Para agilizar a identificação de estudos potencialmente elegíveis para inclusão nesta revisão sistemática, foram utilizados os motores de pesquisa: PubMed via MEDLINE (Sistema de Análise e Recuperação de Literatura Médica Online), CIHNL, EMBASE, LILACS e CENTRAL (Registro Central de Ensaio Controlados da Cochrane), até julho de 2019, inclusive. Nenhuma limitação foi aplicada em relação ao ano ou idioma da publicação. As listas de referência dos artigos incluídos e as resenhas relevantes foram pesquisadas manualmente. A literatura “grey” foi pesquisada através de bancos de dados e registros apropriados (<http://www.opengrey.eu/>). Os autores foram contactados quando necessário para obter dados ou esclarecimentos adicionais.

Palavras-chave e títulos de assuntos foram combinados de acordo com o dicionário de sinônimos de cada banco de dados e aplicados cabeçalhos de assuntos

explodidos. A estratégia de busca foi baseada no algoritmo desenvolvido para o MEDLINE: (periodontal diseases [MeSH Terms] OR periodontitis [MeSH Terms] OR peri-implantitis OR mucositis) AND (Epstein-Barr Vírus [MeSH Terms] OR Herpes Simplex [MeSH Terms] OR Simplexvírus [MeSH Terms] OR Varicelovírus [MeSH Terms] OR Cytomegalovírus [MeSH Terms] OR Herpesviridae [MeSH Terms] OR Herpesvíruses [MeSH Terms] OR Herpesviridae Infections [MeSH Terms] OR Epstein-Barr Vírus Infections [MeSH Terms] OR Varicella Zoster Vírus Infection [MeSH Terms] OR Cytomegalovírus Infections [MeSH Terms])).

Foram ainda efectuadas pesquisas nos motores de pesquisa de sete revistas de da área de Periodontologia e Implantologia identificadas como importantes para esta revisão (especificamente, *Journal of Clinical Periodontology*, *Journal of Periodontology*, *Journal of Periodontal Research*, *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, *Clinical Oral Implants Research*, *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* e *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*).

2.4 Seleção dos estudos

A seleção dos estudos foi realizada inicialmente por três autores (NB, JB e VM), que examinaram os títulos e/ou resumos dos estudos recuperados. A seleção final dos estudos foi realizada por dois autores de forma independente (NB e JB) e verificada por um terceiro autor (VM), revendo o texto completo com base nos critérios de inclusão acima. Quaisquer divergências foram resolvidas através de discussão.

2.5 Processo de extração de dados

Uma tabela predefinida foi usada para realizar a extração de dados. Os dados extraídos incluíram: nome do primeiro autor, desenho do estudo, ano de publicação, país onde o estudo foi realizado, localização geográfica definida por latitude e longitude, período da pesquisa, critérios de inclusão, critérios de exclusão, idade média na linha de base em anos, número de casos e participantes, sexo, histórico de tabagismo, número de pacientes com periodontite e sem periodontite, número de pacientes com EBV positivo, número de pacientes com EBV negativo, tipo de análise PCR, Profundidade de Sondagem por grupo (média e desvio padrão), Perda Inserção Clínica por grupo (média e desvio padrão). Todos os dados foram extraídos independentemente por dois revisores (JB e VM) com um consenso em todos os aspectos. Para dados /

esclarecimentos adicionais, tentámos entrar em contato com o autor correspondente em dupla tentativa, com um tempo de espera de uma semana.

2.6 Risco de viés em estudos individuais

Como pré-definido, o risco de viés dos ensaios clínicos randomizados seria avaliado com a ferramenta da Cochrane Collaboration (Higgins & Green, 2011). Os estudos de caso-controle e coorte foram avaliados com uma versão adaptada da Newcastle-Ottawa Scale (NOS) (Apêndice 2). Nesta escala, existem oito itens em três dimensões: seleção, comparabilidade, exposição. 'Estrelas' (pontos) foram atribuídas para cada critério metodológico de qualidade, e cada estudo pode atingir um máximo de 9 pontos. Estudos com 7 a 9 pontos foram arbitrariamente considerados de alta qualidade, estudos com 6 a 8 estrelas eram de qualidade média e estudos com menos de 6 estrelas eram de baixa qualidade metodológica. Discordâncias entre os autores da revisão sobre o risco de viés em estudos específicos foram resolvidas por discussão, com o envolvimento de um terceiro autor da revisão, quando necessário.

2.7 Medidas de resumo e síntese de resultados

O modelo de efeitos aleatórios DerSimonian-Laird (Schwarzer, Carpenter & Rücker, 2015) foi realizado como descrito anteriormente (Schwarzer, 2017) usando a versão R 3.4.1 (R Studio Team 2018). Os gráficos *forest plots* foram produzidos para visualizar estimativas e os correspondentes intervalos de confiança (ICs) de 95%. Todas as meta-análises de efeitos aleatórios e gráficos *forest plots* foram realizadas usando o pacote 'meta' (Schwarzer, 2017). A quantidade I^2 avaliou o grau de dispersão das estimativas de tamanhos de efeito e a homogeneidade geral foi calculada pelo teste do qui-quadrado (χ^2) (Higgins, Thompson, Deeks & Altman, 2013). Todos os testes foram bicaudais, com nível alfa definido em 0,05, exceto no teste de homogeneidade, cujo nível de significância foi estabelecido em 0,10 devido à baixa potência do teste χ^2 no contexto de um número limitado de estudos elegíveis. As estimativas de tamanhos de efeito foram relatadas com os ICs de 95% associados. A análise do viés de publicação foi planeada para ser realizada se, pelo menos, 10 ou mais estudos fossem incluídos (Higgins & Green, 2011).

III. Resultados

3.1. Seleção dos estudos

A estratégia de pesquisa identificou 290 publicações potencialmente relevantes, após a exclusão de duplicados. Posteriormente, 17 artigos preencheram os critérios de inclusão (273 artigos foram excluídos). Desses 17 artigos submetidos aos critérios de elegibilidade, 7 foram excluídos por não apresentarem dados de prevalência ou pela presença de apenas grupos de controlo (isto é, pacientes sem doença). Para análise EBV e Periodontite, foram incluídos 4 artigos para análise meta-analítica. Para a análise do EBV na Mucosite e Peri-implantite, não foi possível efectuar análise meta-analítica devido a inexistência de nova bibliografia, sendo que uma possível análise iria repetir os resultados obtidos em Akram et al. 2019.

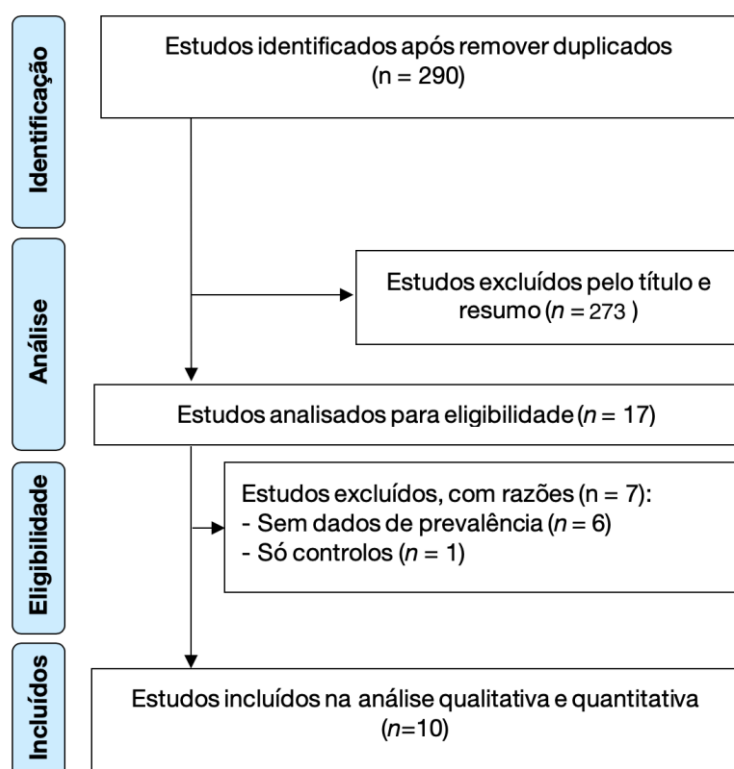


Figura 8: Fluxograma PRISMA.

3.2. Características dos Estudos

As características dos estudos incluídos encontram-se na Tabela 3. Foram identificados 4 estudos de caso-controle de três países diferentes na Europa e na Ásia. Esses estudos foram publicados entre 2002 e 2015. O tamanho da amostra variou de 30 (Saygun et al. 2002) a 143 participantes (Wu et al. 2007) por estudo. Após avaliação da qualidade, um total de 339 participantes foi incluído na meta-análise, compreendendo 161 pacientes com e 178 controlos saudáveis.

Tabela 3: Características dos estudos incluídos na meta-análise.

Autor/Ano	Tipo de Estudo	Continte	País	Idade (média) (DP)	Casos (n)	Periodontite / Saúde Periodontal	Tipo de PCR	Risco de Viés (Resultado)
Saygun et al. (2002)	ECC	Europa	Turquia	42,80	41	30/21	N.PCR	7 (Baixo risco)
Wu et al. (2006)	ECC	Ásia	China	Masculino:43,9 Feminino:45,3	154	65/24	N.PCR	7 (Baixo risco)
Wu et al. (2007)	ECC	Ásia	China	Masculino:41,4; Feminino:42,5	284	143/76	N.PCR RFLP	7 (Baixo risco)
Joshi et al. (2015)	ECC	Ásia	Índia	NR	200	100/100	PCR	7 (Baixo risco)

DP: Desvio-Padrão. ECC: Estudo caso-controle; NR: Não reportado; PCR: Polymerase Chain reaction; N.PCR: Nested Polymerase Chain Reaction ; RFLP: Restriction Fragment Length Polymorphism.

3.3. Avaliação do Risco de Viés nos estudos incluídos

A avaliação do risco de viés dos 4 estudos incluídos encontram-se na Tabela 4. Globalmente, todos os estudos apresentam baixo risco de viés. Para a definição adequada do caso, representatividade dos casos, definição do controlo, avaliação da exposição e método de avaliação dos casos e controlos, 100% dos estudos apresentaram alta qualidade metodológica. Um estudo (Saygun et al. 2002) apresentou uma seleção do controlo não adequada, um estudo não controlou fatores importantes (Joshi et al. 2015) e dois estudos não relataram taxa de não resposta (Wu et al. 2006, Wu et al. 2007).

Tabela 4: Avaliação do Risco de Viés nos estudos incluídos – Newcastle-Ottawa Scale.

Autor/Ano	Seleção		Comparabilidade			Exposição			Resultado
	Definição adequada do caso	Representatividade dos casos	Seleção do controlo	Definição do controlo	Controlo do factor importante ou factor adicional	Avaliação da exposição	O mesmo método de apuração para casos e controles	Taxa de não resposta	
Saygun et al. (2002)	*	*		*	*	*	*	*	7 (Baixo risco)
Wu et al. (2006)	*	*	*	*	*	*	*		7 (Baixo risco)
Wu et al. (2007)	*	*	*	*	*	*	*		7 (Baixo risco)
Joshi et al. (2015)	*	*	*	*		*	*	*	7 (Baixo risco)

* 'Estrelas' (pontos) foram atribuídas para cada critério metodológico de qualidade, e cada estudo pode atingir um máximo de 9 pontos.

3.4. Síntese de Resultados

3.4.1. EBV e Periodontite – Análise de Risco

Para avaliar o risco de associação do EBV com a periodontite, quatro estudos caso-controlo foram incluídos (Saygun et al. 2002, Wu et al. 2006, Wu et al. 2007, Joshi et al. 2015). No geral os pacientes com periodontite apresentam 142% maior proporção de risco (ou Risk Ratio – RR) de presença de EBV do que pacientes sem periodontite (RR = 2,42, para um Intervalo de Confiança [IC] de 95%: 1,64-3,58). O valor obtido apresentou o grau de heterogeneidade baixo ($I^2 = 18\%$), sendo o valor bastante aceitável.

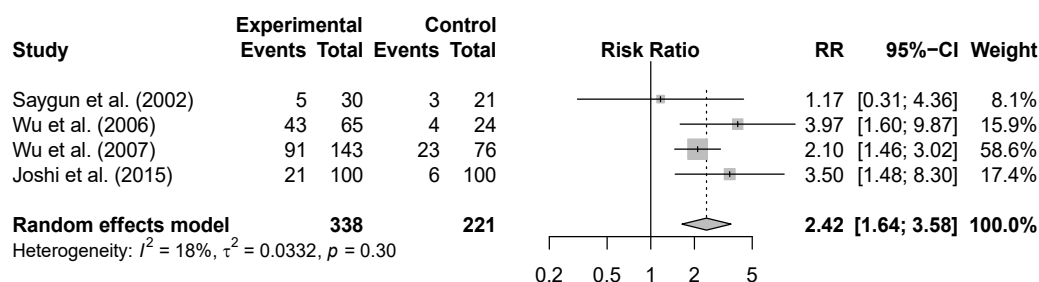


Figura 9: Gráfico de meta-análise de estudos que calcula o Risco da presença de EBV em pacientes com periodontite (experimental) e sem periodontite (control). As estimativas médias do tamanho do efeito foram calculadas com ICs de 95% e são mostradas na figura. A área dos quadrados representa o tamanho da amostra, as linhas horizontais contínuas e a largura dos diamantes representam um IC de 95%. O centro do losango na parte inferior e a linha pontilhada vertical representam a estimativa global combinada.

3.4.2. EBV na Periodontite – Profundidade de Sondagem

Para avaliar o risco de associação do EBV com a periodontite, quatro estudos caso-controlo foram incluídos (Saygun et al. 2002, Wu et al. 2006, Wu et al. 2007, Joshi et al. 2015). O resultado obtido não foi significativo, evidenciando ausência de impacto do EBV na profundidade de sondagem. O valor obtido apresentou o grau de heterogeneidade muito elevado ($I^2 = 83\%$).

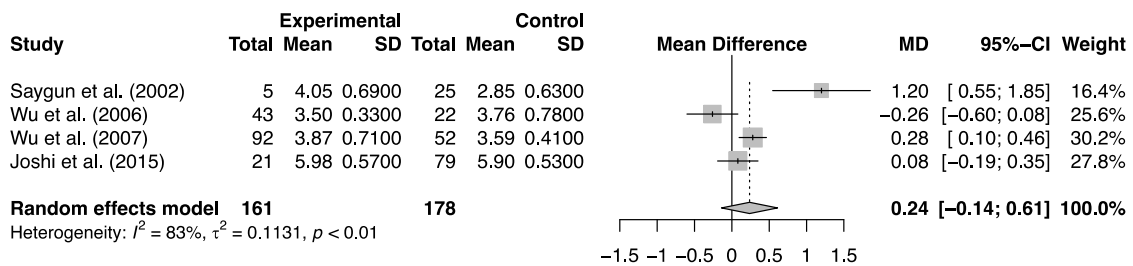


Figura 10: Gráfico de meta-análise de estudos que calcula a diferença de médias de profundidade de sondagem em pacientes EBV positivo (control) versus EBV negativo (experimental). As estimativas médias do tamanho do efeito foram calculadas com ICs de 95% e são mostradas na figura. A área dos quadrados representa o tamanho da amostra, as linhas horizontais contínuas e a largura dos diamantes representam um IC de 95%. O centro do losango na parte inferior e a linha pontilhada vertical representam a estimativa global combinada.

3.4.2. EBV na Periodontite – Perda de Inserção Clínica

Para avaliar o risco de associação do EBV com a periodontite, quatro estudos caso-controlo foram incluídos (Saygun et al. 2002, Wu et al. 2006, Wu et al. 2007, Joshi et al. 2015). O resultado obtido não foi significativo, evidenciando ausência de impacto do EBV na perda de inserção clínica. O valor obtido apresentou o grau de heterogeneidade muito elevado ($I^2 = 87\%$).

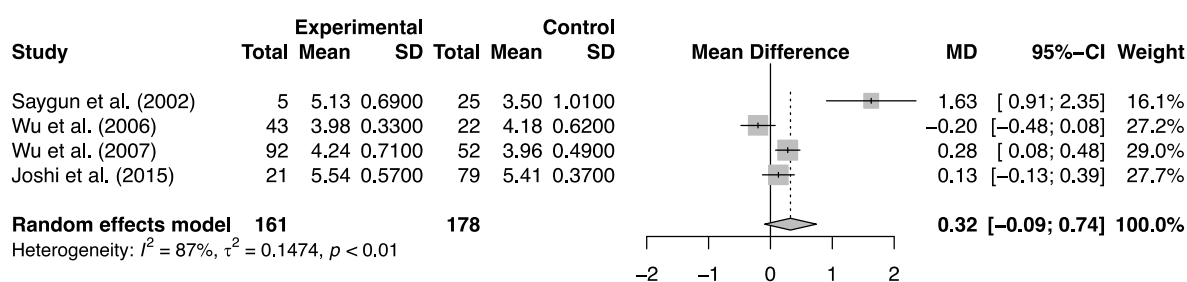


Figura 11: Gráfico de meta-análise de estudos que calcula o a diferença de médias de perda de inserção clínica em pacientes EBV positivo (control) versus EBV negativo (experimental). As estimativas médias do tamanho do efeito foram calculadas com ICs de 95% e são mostradas na figura. A área dos quadrados representa o tamanho da amostra, as linhas horizontais contínuas e a largura dos diamantes representam um IC de 95%. O centro do losango na parte inferior e a linha pontilhada vertical representam a estimativa global combinada.

3.4.4. EBV na Mucosite e Peri-Implantite

Para a peri-implantite e mucosite, não se verificou a existência de novos artigos comparando com a revisão sistemática de Akram et al. (2019). Assim, no sentido de evitar duplicações optou-se por não efectuar meta-análise. Assim, os resultados foram obtidos de Akram et al. (2019), onde existe efeito do EBV em peri-implantite e mucosite, sendo que a frequência do vírus EBV está aumentada em pacientes com peri-implantite em comparação com implantes saudáveis.

IV. Discussão

O objectivo desta revisão sistemática foi avaliar o impacto do EBV na periodontite, mucosite e peri-implantite. O resultado da meta-análise destes 4 artigos revelou o índice de risco de 2.42 (Intervalo de Confiança 95%: 1.64-3.58) com valor de heterogeneidade baixo ($I^2= 18\%$). Para a peri-implantite e mucosite, considerando a inexistência de novos artigos comparando com a revisão sistemática de Akram et al. (2019), não foi efectuada qualquer meta-análise. Assim, existe efeito do EBV em peri-implantite e mucosite de acordo com os resultados obtidos por Akram et al. (2019), sendo que a frequência do vírus EBV está aumentada em pacientes com peri-implantite em comparação com implantes saudáveis.

Devido à variabilidade de microorganismos já descritos na periodontite e peri-implantite, alguns estudos têm dado atenção á relação entre os vírus herpéticos e diferentes tipos de periodontite (Slots et al. 2000 ; Slots et al. 2003 ; Ding et al. 2008 ; Slots & Slots 2011 ; Slots et al. 2017 & Kato et al. 2015).

Vários estudos têm relatado que os vírus herpéticos, em particular o EBV e o cytomegalovírus humano, têm associações significativas com o aumento dos riscos de aparecimento de periodontite, em particular periodontite crónica (PC) e periodontite agressiva (PAg) (Contreras, Nowzari e slots 2000 ; Saygun et al. 2004 ; Wu et al. 2006 ; Grenier et al. 2009 ; Sharma et al. 2012 ; Das et al. 2012 ; Kato et al. 2015 & Sharma et al. 2015). Assim, os resultados do nosso estudo vão ao encontro da literatura e de outras meta-análises recentes (Zhu et al. 2015 ; Gao et al. 2017 & Li et al. 2017).

Dois estudos demonstraram que o EBV pode ser considerado como um fator de risco e um realçador de peri-implantite baseado em suas correlações positivas com patógenos associados à peri-implantite. A presença de herpesvírus em pacientes com peri-implantite sugere o desenvolvimento de um ambiente pró-inflamatório, que é caracterizado pelo aumento da expressão dos marcadores salivares (Canullo et al. 2018 ; Marques Filho et al. 2018).

Uma meta-análise resumiu as relações entre os riscos do vírus da PC e do EBV. (Zhu et al. 2015), onde as frequências de detecção de EBV estavam associadas a maiores riscos de PC. Igualmente, o estudo realizado por Gao et al. (2017) demonstrou que o EBV está associado ao aumento do risco de PAg, contudo o mesmo incluiu na análise pacientes saudáveis e sistemicamente comprometidos.

Paralelamente, alguns estudos analisaram a correlação entre EBV e profundidade de sondagem (PS), perda de inserção clínica (IC) e sangramento na sondagem (SS). Os resultados apenas comprovaram uma associação dos níveis de EBV com o SS (Wu et al. 2006 & Wu et al. 2007). Não obstante, a análise de SS não foi possível de introduzir nesta revisão sistemática, sendo um aspecto a projectar no futuro.

Num estudo recente, o EBV foi detectado em células epiteliais periodontais, previamente ao início do desenvolvimento de periodontite (Vincent et al. 2013) e a extensão do EBV em células epiteliais periodontais aumenta com a gravidade da periodontite. Por outro lado, resultados semelhantes foram descritos por Kato et al. (2015). Compreensivamente, os resultados destes estudos explicam a presença de EBV em situações de saúde periodontal contudo, permanece por explicar os mecanismos patofisiológicos pelos quais o EBV atua na iniciação e progressão da periodontite.

Os *Odds Ratios* de co-infecção entre EBV e *Porphyromonas gingivalis* também foram maiores em pacientes com PC do que com saúde periodontal. (Kato et al. 2015 & Vincent et al. 2013). Contudo, não foi possível analisar esta associação com os artigos incluídos. Saygun et al encontraram que o EBV tem uma correlação com *P. gingivalis* mas não *A. actinomycetemcomitans* em AgP (Saygun et al. 2004).

Qualidade da evidência, limitações e vieses potenciais no processo de revisão

Independentemente das limitações dos estudos incluídos, é importante salientar alguns pontos fortes dessa revisão sistemática. Esta revisão sistemática foi apoiada por uma pesquisa minuciosa na literatura, num rigoroso protocolo definido *a priori* e seguiu estritamente as diretrizes para a comunicação de dados. As estimativas obtidas para o probabilidade de risco de EBV em periodontite obteve um resultado de heterogeneidade muito baixo, conferindo homogeneidade entre os artigos incluídos e solidez nos resultados obtidos.

Além disso, todos os estudos incluídos apresentaram alta qualidade metodológica e baixo risco de viés de acordo com o risco de análise de viés.

No entanto, existem limitações importantes a serem destacadas. Nenhum dos estudos incluídos teve uma metodologia de ensaio clínico randomizado, o que pode explicar o nível de heterogeneidade obtida para as medições clínicas, profundidade de sondagem e perda de inserção clínica. Por outro lado, não foi possível estabelecer uma

relação com outros microorganismos periodontopatogénicos, em particular do complexo vermelho: *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, e *Tannerella forsythia*. Também não foi possível estabelecer análises de co-infecção o que permitiria uma análise muito mais completa da interação entre os tecidos periodontais e peri-implantares com a flora. Por último, não foi possível conduzir uma nova meta-análise para peri-implantite e mucosite pelo risco de duplicação de resultados obtidos por Akram et al. (2019).

V. Conclusão

Considerando as limitações desta revisão sistemática, os resultados mostram que o risco de presença de EBV em lesões de periodontite é 134% maior do que em saúde periodontal. Embora não significativo, o EBV parece ter associação com os níveis de destruição periodontal, através da Profundidade de Sondagem e Perda de Inserção Clínica. Por outro lado, não foi possível estabelecer uma conclusão definitiva para a mucosite e peri-implantite devido à escassez de estudos. No futuro, é necessário realizar ensaios clínicos randomizados de aspectos como a co-infecção com herpesvírus e bactérias, respostas associadas do hospedeiro no desenvolvimento de periodontite e ao tratamento viral concomitante ao tratamento periodontal.

VI. Bibliografia

Akram Z, Al-Aali KA, Alrabiah M, Alonaizan FA, Abduljabbar T, AlAhmari F, Javed F, Vohra F. Rev Med Virol. 2019 May;29(3):e2042. doi: 10.1002/rmv.2042. Epub 2019 Mar 22.

Aimetti, M., Ferrarotti, F., Mariani, G., Ghelardoni, C., & Romano, F. (2015). Soft Tissue and Crestal Bone Changes Around Implants with Platform-Switched Abutments Placed Nonsubmerged at Subcrestal Position: A 2-Year Clinical and Radiographic Evaluation. *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants*, 30(6), 1369-1377. <https://doi.org/10.11607/jomi.4017>

Albandar JM, Rams TE. Risk factors for periodontitis in children and young persons. *Periodontol 2000* 2002; 29:207-222.

Araujo, Mauricio G., e Jan Lindhe. 2018. «Peri-Implant Health». *Journal of Clinical Periodontology* 45: S230–36.

Arvin, A., Campadelli-Fiume, G., Mocarski, E., Moore, P. S., Roizman, B., Whitley, R., & Yamanishi, K. (2007). *Human Herpesviruses: Biology, Therapy, and Immunoprophylaxis*. Obtido de <https://books.google.pt/books?id=skkJwyI0gt0C>

Beagley, K. W., & Gockel, C. M. (2003). Regulation of innate and adaptive immunity by the female sex hormones oestradiol and progesterone. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 38(1), 13–22. [https://doi.org/10.1016/S0928-8244\(03\)00202-5](https://doi.org/10.1016/S0928-8244(03)00202-5)

Beller EM, Glasziou PP, Altman DG, et al. PRISMA for Abstracts: reporting systematic reviews in journal and conference abstracts. *PLoS Med*. 2013;10(4):e1001419. doi:10.1371/journal.pmed.1001419

Berglundh, Tord et al. 2018. «Peri-Implant Diseases and Conditions: Consensus Report of Workgroup 4 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions». *Journal of Periodontology* 89: S313–18.

Botelho, João et al. 2019. «Fine-Tuning Multilevel Modeling of Risk Factors Associated with Nonsurgical Periodontal Treatment Outcome». *Brazilian Oral Research* 33: e081.

Brogden, KA, Guthmiller, JM, editors. Polymicrobial diseases. Washington: ASM Press; 2002.

Canullo, Luigi et al. 2018. «What Is the Impact of Epstein-Barr Virus in Peri-Implant Infection?» *The International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* 33(1): 58–63.

Chang, A. Y., Cowling, K., Micah, A. E., Chapin, A., Chen, C. S., Ikilezi, G., Dieleman, J. L. (2019). Past, present, and future of global health financing: A review of development assistance, government, out-of-pocket, and other private spending on health for 195 countries, 1995–2050. *The Lancet*, 393(10187), 2233–2260. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(19\)30841-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(19)30841-4)

Contreras A, Nowzari H, Slots J. Herpesviruses in periodontal pocket and gingival tissue specimens. *Oral Microbiol Immunol*. 2000; 15:15–8.

CRUCHLEY, A.T., MURRAY, P.G., NIEDOBITEK, G., REYNOLDS, G.M., YOUNG, L.S. The expression of the Epstein Barr virus nuclear antigen (*EBNA-1*) in oral hairy leukoplakia. *Oral Disease*, (Suppl 1): 177-179, 1997.

Damania, B. (2006). DNA tumor viruses and human cancer. *Trends in Microbiology*, 15(1), 38–44.

Darby I, Curtis M. Microbiology of periodontal disease in children and young adults. *Periodontol 2000* 2001; 26:33-53.

Darveau, Richard P. 2010. “Periodontitis: A Polymicrobial Disruption of Host Homeostasis.” *Nature Reviews. Microbiology* 8 (7): 481–90.

Dawson DR, Wang C, Danaher RJ, et al. Real-time polymerase chain reaction to determine the prevalence and copy number of Epstein-Barr virus and cytomegalovirus DNA in subgingival plaque at individual healthy and periodontal disease sites. *J Periodontol* 2009;80:1133–40

De Araújo Nobre, M., & Maló, P. (2017). Prevalence of periodontitis, dental caries, and peri-implant pathology and their relation with systemic status and smoking habits: Results of an open-cohort study with 22009 patients in a private

rehabilitation center. *Journal of Dentistry*, 67, 36–42.
doi:10.1016/j.jdent.2017.07.013

Ding F, Feng XH, Meng HX, et al. [Relationship between herpesviruses and periodontal pathogenic bacteria in subgingival plaque]. *Beijing Da Xue Xue Bao* 2008;40:318–22.

Dozzo, Massimo et al. 2016. «Burkitt Lymphoma in Adolescents and Young Adults: Management Challenges». *Adolescent Health, Medicine and Therapeutics* Volume 8: 11–29.

Edwards, J. M., and M. Woodroof. 1979. “EB Virus-Specific IgA in Serum of Patients with Infectious Mononucleosis and of Healthy People of Different Ages.” *Journal of Clinical Pathology* 32 (10): 1036–40.

Eke PI, Page RC, Wei L, Thornton-Evans G, Genco RJ. Update of the case definitions for population-based surveillance of periodontitis. *J Periodontol*. 2012;83(12):1449–1454. doi:10.1902/jop.2012.110664

Eskild, Anne, Anne-Lise Bruu, Babill Stray-Pedersen, and Pål Jenum. 2005. “Epstein-Barr Virus Infection during Pregnancy and the Risk of Adverse Pregnancy Outcome.” *BJOG: An International Journal of Obstetrics and Gynaecology* 112 (12): 1620–24. doi:10.1111/j.1471-0528.2005.00764.

Farina, A., Santarelli, R., Gonnella, R., Bei, R., Muraro, R., et al. (2000). The *BFRF1* gene of Epstein-Barr virus encodes a novel protein. *J Virol*. 74: 3235-3244.

G. de-Thé *Cancer Res*. 1976 Feb; 36(2 Pt 2): 692–695.

Ganesan, Sukirth M et al. 2017. «A Tale of Two Risks: Smoking, Diabetes and the Subgingival Microbiome». *The ISME Journal* 11(9): 2075–89.

Gao, Z., Lv, J., & Wang, M. (2017). Epstein-Barr virus is associated with periodontal diseases. *Medicine*, 96(6), e5980, doi:10.1097/md.0000000000005980

Genco RJ. Current view of risk factors for periodontal diseases. *J Periodontol* 1996; 67:1041-1049.

Germi, R., M. Baccard, J.-M. Seigneurin, and P. Morand. 2011. “Infections à virus Epstein- Barr.” *EMC - Maladies infectieuses* 8 (4): 1–14. doi:10.1016/S1166-8598(11)50125-5.

Gratama, J. W., and I. Ernberg. 1995. “Molecular Epidemiology of Epstein-Barr Virus Infection.” *Advances in Cancer Research* 67: 197–255.

Grenier, G., G. Gagnon, e D. Grenier. 2009. «Detection of Herpetic Viruses in Gingival Crevicular Fluid of Patients Suffering from Periodontal Diseases: Prevalence and Effect of Treatment». *Oral Microbiology and Immunology* 24(6): 506–9.

Grywalska, E., & Rolinski, J. (2015). Epstein-Barr virus-associated lymphomas. *Seminars in Oncology*, 42(2), 291–303. <https://doi.org/10.1053/j.seminoncol.2014.12.030>

Heitz-Mayfield, Lisa J.A., e Giovanni E. Salvi. 2018. «Peri-Implant Mucositis». *Journal of Clinical Periodontology* 45: S237–45.

Henle, G, W Henle, and V Diehl. 1968. “Relation of Burkitt’s Tumor-Associated Herpes- Ytpe Virus to Infectious Mononucleosis.” *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 59 (1): 94–101.

Higgins J, Green S (2011) *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions*. 5.1.0 (updated March 2011). The Cochrane Collaboration. (<https://www.cochrane-handbook.org>).

Higgins JPT, Thompson SG, Deeks JJ, Altman DG (2003) Measuring inconsistency in meta-analyses. *BMJ Br Med J* 327:557–560. doi: 10.1136/bmj.327.7414.557

Hildesheim, Allan et al. 2002. «Association of HLA Class I and II Alleles and Extended Haplotypes With Nasopharyngeal Carcinoma in Taiwan». *Journal of the National Cancer Institute* 94(23): 10.

Holde, G. E., Oscarson, N., Trovik, T. A., Tillberg, A., & Jönsson, B. (2017). Periodontitis Prevalence and Severity in Adults: A Cross-Sectional Study in Norwegian Circumpolar Communities. *Journal of Periodontology*, 88(10), 1012-1022. <https://doi.org/10.1902/jop.2017.170164>

Idesawa, M. et al. 2004. «Detection of Epstein-Barr Virus in Saliva by Real-Time

PCR». *Oral Microbiology and Immunology* 19(4): 230–32.

Jankovic S, Aleksic Z, Dimitrijevic B, Lekovic V, Camargo P, Kenney^[1]_[SEP]B. Prevalence of human cytomegalovirus and Epstein-Barr virus in subgingival plaque at peri-implantitis, mucositis and healthy sites. A pilot study. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2011;40:271–276.

Jankovic S, Aleksic Z, Dimitrijevic B, Lekovic V, Milinkovic I, Kenney B. Correlation between different genotypes of human cytomegalovirus and Epstein-Barr virus and peri-implant tissue status. *Aust Dent J* 2011;56:382–388.

Joshi, Vinayak Mahableshwar et al. 2015. «Prevalence of Herpesvirus and Correlation Clinical Parameters in Indian Subjects with Chronic Periodontitis». *The Journal of Contemporary Dental Practice* 16(11): 915–20.

Kassebaum, N. J., E. Bernabé, M. Dahiya, B. Bhandari, C. J. L. Murray, and W. Marcenes. 2014. “Global Burden of Severe Tooth Loss: A Systematic Review and Meta-Analysis.” *Journal of Dental Research* 93 (7 Suppl): 20S – 28S.

Kassebaum, N.J., et al., *Global burden of severe periodontitis in 1990-2010: a systematic review and meta-regression*. *Journal of dental research*, 2014. 93(11): p. 1045-53. ^[1]_[SEP]

Kato, Ayako, Kenichi Imai, Kuniyasu Ochiai, e Yorimasa Ogata. 2015. «Prevalence and Quantitative Analysis of Epstein–Barr Virus DNA and Porphyromonas Gingivalis Associated with Japanese Chronic Periodontitis Patients». *Clinical Oral Investigations* 19(7): 1605–10.

Kazi MM, Bharadwaj R, Bhat K, Happy D. Association of Herpes Viruses with Mild, Moderate and Severe Chronic Periodontitis. *J Clin Diagn Res*. 2015;9(7):DC05–DC8. doi:10.7860/JCDR/2015/13781.6187

Knipe D.M, Howley P.M. *Fields virology*. 4^a ed. Philadelphia: Lippencott, Williams & Wilkins; 2001

Konstantinidis A, Sakellari D, Papa A, Antoniadis A. Real-time polymerase chain reaction quantification of Epstein-Barr virus in chronic periodontitis patients. *J Periodontal Res* 2005;40:294–298.

Kukhanova, M. K., Korovina, a N., & Kochetkov, S. N. (2014). Human Herpes Simplex Virus: Life Cycle and Development of Inhibitors. *Biochemistry-Moscow*, 79(13), 1635–1652. <https://doi.org/10.1134/s0006297914130124>

Lefkowitz, E. J., Dempsey, D. M., Hendrickson, R. C., Orton, R. J., Siddell, S. G., & Smith, D. B. (2018). Virus taxonomy: the database of the International Committee on Taxonomy of Viruses (ICTV). *Nucleic acids research*, 46(D1), D708–D717. doi:10.1093/nar/gkx932

Leonhardt A, Dahlen G, Renvertm S. Five-year clinical, microbiological, and radiological outcome following treatment of periimplantitis in man. *J Periodontol* 2003;10:1415–1422.

Li F, Zhu C, Deng F-Y, Wong MCM, Lu H-X, Feng X-P (2017) Herpesviruses in etiopathogenesis of aggressive periodontitis: A meta-analysis based on case-control studies. *PLoS ONE* 12(10): e0186373. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0186373>

Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, et al. The PRISMA Statement for Reporting Systematic Reviews and Meta-Analyses of Studies That Evaluate Health Care Interventions: Explanation and Elaboration. *Ann Intern Med*. 2009;151:W–65–W–94. doi: 10.7326/0003-4819-151-4-200908180-00136

«Malignant Lymphoma in African Children. I. A Clinical Syndrome». 1961. 14(2): 12.

«Malignant Lymphoma in African Children. II. A Pathological Entity». 1961. 14(2): 14.

Machado, Vanessa et al. 2018. «Prevalence and Extent of Chronic Periodontitis and Its Risk Factors in a Portuguese Subpopulation: A Retrospective Cross-Sectional Study and Analysis of Clinical Attachment Loss». *PeerJ* 6: e5258.

Marques Filho, Jaime S. et al. 2018. «Cytokine Levels and Human Herpesviruses in Saliva from Clinical Periodontal Healthy Subjects with Peri-Implantitis: A Case-Control Study». *Mediators of Inflammation* 2018: 1–7.

McDonald RE, Avery DR, Weddell JA. Gengivite e doença periodontal. Em: McDonald RE, Avery DR. *Odontopediatria*. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1995: 310-341.

- Modéer T, Wondimu B. Periodontal diseases in children and adolescents. *Dent Clin North Am* 2000; 44(3):633-658.
- Pagano, Joseph S. et al. 2004. «Infectious Agents and Cancer: Criteria for a Causal Relation». *Seminars in Cancer Biology* 14(6): 453–71.
- Page, R. C., & Eke, P. I. (2007). Case Definitions for Use in Population-Based Surveillance of Periodontitis. *Journal of Periodontology*, 78(7s), 1387–1399. doi:10.1902/jop.2007.060264
- Papapanou, Panos N. et al. 2018. «Periodontitis: Consensus Report of Workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions: Classification and Case Definitions for Periodontitis». *Journal of Clinical Periodontology* 45: S162–70.
- Petersen,P.E., Ogava,H.2005 Stengthening the Prevention of Periodontal Desease. *Journal Pertodontal*; 76: 2187-2193.
- Prescott, Lansing M., Linda M. Sherwood, and Christopher J. Woolverton. 2010. *Microbiologia*.
- Rakic M, Struillou X, Petkovic-Curcin A, et al. Estimation of bone loss biomarkers as a diagnostic tool for peri-implantitis. *J Periodontol* 2014;85:1566 –1574. [1] [SEP]
- RICKINSON, A.B., KIEFF, E.D. Epstein Barr viela In: *Fields Virology*. 5th. Knipe, D, M., Hozley .P.M, Griffin, D.E., Lamb, R.A., Martin, M.A., Roizman, B., Strus, S.S. (eds). Philadelphia, Lippincott Williams & Wilkins, 2007, p. 2656-2660.
- Rosdahl, Nils, Severin Olesen Larsen, e Anna Birgitte Thamdrup. 1973. «Infectious Mononucleosis in Denmark: Epidemiological Observations based on Positive Paul-Bunnell Reactions from 1940 to 1969». *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 5(3): 163–70.
- Sawyer, R. N., A. S. Evans, J. C. Niederman, and R. W. McCollum. 1971. “Prospective Studies of a Group of Yale University Freshmen. I. Occurrence of Infectious Mononucleosis.” *The Journal of Infectious Diseases* 123 (3): 263–70.
- Saygun I, Kubar A, Ozdemir A, Slots J. Periodontitis lesions are a source of salivary cytomegalovirus and Epstein-Barr virus. *J Periodontal Res* 2005;40:187–191

- Saygun, Işil et al. 2002. «Detection of Human Viruses in Patients With Chronic Periodontitis and the Relationship Between Viruses and Clinical Parameters». *Journal of Periodontology* 73(12): 1437–43.
- Saygun, Isil et al. 2004. «Herpesviral-Bacterial Interrelationships in Aggressive Periodontitis». *Journal of Periodontal Research* 39(4): 207–12.
- Scannapieco, F., Dasanayake, A., 2010. Does Periodontal Therapy Reduce the Risk for Systemic Disease? *Dental Clinics N Am*; 54: 163-181.
- Schwarz, Frank, Jan Derks, Alberto Monje, e Hom-Lay Wang. 2018. «Peri-Implantitis». *Journal of Periodontology* 89: S267–90.
- Schwarzer G (2007) meta: An R Package for Meta-Analysis. *R News* 7:40–45.
- Schwarzer G, Carpenter JR, Rücker G (2015) *Meta-Analysis with R*. Springer
- Shah R, Mehta DS. Prevalence of herpesviruses in gingivitis and chronic periodontitis: relationship to clinical parameters and effect of treatment. *J Indian Soc Periodontol*. 2016;20(3):279–285. doi:10.4103/0972-124X.179896
- Shanahan, Daire, Rachel Cowie, Helen Rogers, e Konrad Staines. 2018. «Oral Hairy Leukoplakia in Healthy Immunocompetent Patients: A Small Case Series». *Oral and Maxillofacial Surgery* 22(3): 335–39.
- Sharma R, Padmalatha O, Kaarthikeyan G, et al. Comparative analysis of presence of Cytomegalovirus (CMV) and Epsteinbarr virus -1 (EBV-1) in cases of chronic periodontitis and aggressive periodontitis with controls. *Indian Journal of dental research: official publication of Indian Society for Dental Research* 2012;23:454–8.
- Sharma S, Tapashetti RP, Patil SR, et al. Revelation of viral-bacterial interrelationship in aggressive periodontitis via polymerase chain reaction: a microbiological study. *J Int Oral Health* 2015;7:101-7.
- Shibli JA, Melo L, Sanchez F, Figueiredo LC, Faveri M, Feres M. Composition of supra- and subgingival biofilm of subjects with healthy and diseased implants. *Clin Oral Implants Res* 2008;19:975–982.
- Slots J, Sabeti M, Simon JH. Herpesviruses in periapical pathosis: an etiopathogenic relationship? *Oral Surg*. 2003; 96: 27–31.

- Slots J. Herpesviral – bacterial interactions in periodontal diseases. *Periodontology* 2000. 2010;52(123):117–40.
- Slots, Jørgen, e Henrik Slots. 2011. «Bacterial and Viral Pathogens in Saliva: Disease Relationship and Infectious Risk: Bacterial and Viral Pathogens in Saliva». *Periodontology 2000* 55(1): 48–69.
- Slots, Jørgen. «*Periodontitis: Facts, Fallacies and the Future*». : 17.
- Soares D, Andrade C, Pinto AR, Seabra M, Macho V. Doenças da gengiva e periodonto em crianças e adolescentes. *Acta Pediatr Port* 2009; 40(1):23-29.
- Tonetti, M. S. (2018). Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Periobasic. Dental implants: biological aspect. 2013 . Disponível no site: periodontitis. *Oral Dis.* 2009;15(8):554–9.
- Trombelli, L., Farina, R., Silva, C. O., & Tatakis, D. N. (2018). Plaque-induced gingivitis: Case definition and diagnostic considerations. *Journal of Periodontology*, 89 Suppl 1, S46–S73.
- Turri A, RossettiPH, CanulloL, GrusovinMG, DahlinC. Prevalence of peri-implantitis in medically compromised patients and smokers: A systematic review. *Int J Oral Maxillofac Implants* 2016;31:111–118.
- Verdugo F, Castillo A, Castillo F, Uribarri A. Epstein-Barr virus associated peri-implantitis: A split-mouth study. *Clin Oral Investig* 2015;19:535–543.
- Vignon, Dominique. 2000. Transfusion sanguine: une approche sécuritaire. John Libbey Eurotext.
- Vincent-Bugnas S, Vitale S, Mouline CC, et al. EBV infection is common in gingival epithelial cells of the periodontium and worsens during chronic periodontitis. *PLoS One* 2013;8: e8033
- Wu YM, Yan J, Ojcius DM, et al. Correlation between infections with different genotypes of human cytomegalovirus and Epstein-Barr virus in subgingival samples and periodontal status of patients. *Microbiol* 2007;45:3665-70.
- Wu, Yan-min et al. 2006. «Infection Frequency of Epstein-Barr Virus in Subgingival Samples from Patients with Different Periodontal Status and Its

Correlation with Clinical Parameters». *Journal of Zhejiang University SCIENCE B* 7(11): 876–83.

Xiao, Jianqiao, Joel M. Palefsky, Rossana Herrera, and Sharof M. Tugizov. 2007. “Characterization of the Epstein-Barr Virus Glycoprotein BMRF-2.” *Virology* 359 (2): 382–96. doi:10.1016/j.virol.2006.09.047.

Yildirim S, Yapar M, Kubar A, Slots J. Human cytomegalovirus, Epstein-Barr virus and bone resorption-inducing cytokines in periapical lesions of deciduous teeth. *Oral Microbiol Immunol* 2006;21:107–111.

Young, L. S. e Murray, P. G. (2003). Epstein–Barr virus and oncogenesis: from latent genes to tumours. *Oncogene*. 22: 5108-5121.

Young, L. S., & Rickinson, A. B. (2004). Epstein-Barr vírus: 40 years on. *Nature Reviews Cancer*, 4(10), 757-768. doi:10.1038/nrc1452

Zhu, Ce et al. 2015. «Association between Herpesviruses and Chronic Periodontitis: A Meta-Analysis Based on Case-Control Studies» ed. Luwen Zhang. *PLOS ONE* 10(12): e0144319.

VII. ANEXO

Anexo 1. Itens da *checklist* a serem incluídos no relato de revisão sistemática ou meta-análise

Seção/tópico	N.	Item da <i>checklist</i>	Relato na página nº
TÍTULO			
Título	1	Identifique o artigo como uma revisão sistemática, meta-análise, ou ambos.	Na capa da dissertação
RESUMO			
Resumo estruturado	2	Apresente um resumo estruturado incluindo, se aplicável: referencial teórico; objetivos; fonte de dados; critérios de elegibilidade; participantes e intervenções; avaliação do estudo e síntese dos métodos; resultados; limitações; conclusões e implicações dos achados principais; número de registro da revisão sistemática.	1
INTRODUÇÃO			
Racional	3	Descreva a justificativa da revisão no contexto do que já é conhecido.	13
Objetivos	4	Apresente uma afirmação explícita sobre as questões abordadas com referência a participantes, intervenções, comparações, resultados e desenho de estudo (PICOS).	31
MÉTODOS			
Protocolo e registro	5	Indique se existe um protocolo de revisão, se e onde pode ser acessado (ex. endereço eletrônico), e, se disponível, forneça informações sobre o registro da revisão, incluindo o número de registro.	33
Critérios de elegibilidade	6	Especifique características do estudo (ex. PICOS, extensão do seguimento) e características dos relatos (ex. anos considerados, idioma, se é publicado) usadas como critérios de elegibilidade, apresentando justificativa.	33
Fontes de informação	7	Descreva todas as fontes de informação na busca (ex. base de dados com datas de cobertura, contato com autores para identificação de estudos adicionais) e data da última busca.	33
Busca	8	Apresente a estratégia completa de busca eletrônica para pelo menos uma base de dados, incluindo os limites utilizados, de forma que possa ser repetida.	34
Seleção dos estudos	9	Apresente o processo de seleção dos estudos (isto é, busca, elegibilidade, os incluídos na revisão sistemática, e, se aplicável, os incluídos na meta-análise).	34
Processo de recolha de dados	10	Descreva o método de extração de dados dos artigos (ex. formas para piloto, independente, em duplicata) e todos os processos para obtenção e confirmação de dados dos pesquisadores.	34
Lista dos dados	11	Liste e defina todas as variáveis obtidas dos dados (ex. PICOS, fontes de financiamento) e quaisquer referências ou simplificações realizadas.	35
Risco de viés em cada estudo	12	Descreva os métodos usados para avaliar o risco de viés em cada estudo (incluindo a especificação se foi feito durante o estudo ou no nível de resultados), e como esta informação foi usada na análise de dados.	35
Medidas de sumarização	13	Defina as principais medidas de sumarização dos resultados (ex. risco relativo, diferença média).	35
Síntese dos resultados	14	Descreva os métodos de análise dos dados e combinação de resultados dos estudos, se realizados, incluindo medidas de consistência (por exemplo, I^2) para cada meta-análise.	35
Risco de viés entre estudos	15	Especifique qualquer avaliação do risco de viés que possa influenciar a evidência cumulativa (ex. viés de publicação, relato seletivo nos estudos).	35
Análises adicionais	16	Descreva métodos de análise adicional (ex. análise de sensibilidade ou análise de subgrupos, metarregressão), se realizados, indicando quais foram pré-especificados.	Não aplicável
RESULTADOS			
Seleção de estudos	17	Apresente números dos estudos rastreados, avaliados para elegibilidade e incluídos na revisão, razões para exclusão em cada estágio, preferencialmente por meio de gráfico de fluxo.	37
Características dos estudos	18	Para cada estudo, apresente características para extração dos dados (ex. tamanho do estudo, PICOS, período de acompanhamento) e apresente as citações.	38
Risco de viés em cada estudo	19	Apresente dados sobre o risco de viés em cada estudo e, se disponível, alguma avaliação em resultados (ver item 12).	38
Resultados de estudos individuais	20	Para todos os resultados considerados (benéficos ou riscos), apresente para cada estudo: (a) sumário simples de dados para cada grupo de intervenção e (b) efeitos estimados e intervalos de confiança, preferencialmente por meio de gráficos de floresta.	38
Síntese dos resultados	21	Apresente resultados para cada meta-análise feita, incluindo intervalos de confiança e medidas de consistência.	39
Risco de viés entre estudos	22	Apresente resultados da avaliação de risco de viés entre os estudos (ver item 15).	35
Análises adicionais	23	Apresente resultados de análises adicionais, se realizadas (ex. análise de sensibilidade ou subgrupos, metarregressão [ver item 16]).	Não aplicável
DISCUSSÃO			
Sumário da evidência	24	Sumarize os resultados principais, incluindo a força de evidência para cada resultado; considere sua relevância para grupos-chave (ex. profissionais da saúde, usuários e formuladores de políticas).	43
Limitações	25	Discuta limitações no nível dos estudos e dos desfechos (ex. risco de viés) e no nível da revisão (ex. obtenção incompleta de pesquisas identificadas, viés de relato).	44
Conclusões	26	Apresente a interpretação geral dos resultados no contexto de outras evidências e implicações para futuras pesquisas.	47
FINANCIAMENTO			
Financiamento	27	Descreva fontes de financiamento para a revisão sistemática e outros suportes (ex.: suprimento de dados), papel dos financiadores na revisão sistemática.	Não aplicável

