

CARACTERÍSTICAS MICROBIANAS NA SAÚDE E DOENÇA PERIODONTAL

MICROBIAL CHARACTERISTICS IN PERIODONTAL HEALTH AND DISEASE

Fábio Shigueo Eto

Suzane A Raslan

José Roberto Cortelli

Departamento de Odontologia da Universidade de Taubaté

RESUMO

A placa bacteriana pode ser definida como uma película não calcificada, fortemente aderida às superfícies dentais, constituindo-se de depósitos bacterianos e componentes salivares, com crescimento contínuo. É considerada a principal causa das doenças cárie e periodontal. O objetivo deste trabalho foi avaliar através da revisão de literatura, a participação bacteriana em diferentes condições periodontais. Na saúde periodontal são encontradas espécies Gram-positivas, do gênero *Streptococcus* e *Actinomyces*, e Gram-negativas como *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Capnocytophaga*, *Neisseria* e *Veillonella spp.* Na gengivite, observa-se a presença de Gram-positivos como *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguis*, *Actinomyces viscosus*, *Actinomyces naeslundii*, *Peptostreptococcus micros* e Gram-negativos como *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Veillonella parvula*, *Haemophilus* e *Campylobacter spp.* Na periodontite destacam-se proporções elevadas de *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus*, *Prevotella intermedia*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Treponema* e *Eubacterium spp.* Após a realização do presente estudo, pode-se concluir que a microbiota presente na cavidade bucal é variável e reflete a condição periodontal.

PALAVRAS-CHAVE: microbiota bucal; saúde periodontal; gengivite; periodontite

INTRODUÇÃO

A placa bacteriana pode ser definida como uma película não calcificada, fortemente aderida às superfícies dentais, resistindo a presença do fluxo salivar. O termo biofilme é usado para denotar uma comunidade microbiana encapsulada em polímero que se acumula em uma superfície, que também protege contra colonização de patógenos exógenos (WILSON, 2001).

O biofilme constitui-se de depósitos bacterianos e constituintes salivares, com um crescimento contínuo, sendo considerado a principal causa das doenças cárie e periodontal, infecções periimplantares e estomatites (ROSAN; LAMONT, 2000).

Numerosos investigadores demonstraram a importância dos microrganismos na instalação e progressão da doença periodontal (SLOTS, 1977, SOCRANSKY *et al.*, 1988, DAHLÉN *et al.*, 1992, XIMENEZ-FYVIE; HAJAJEE; SOCRANSKY, 2000, MOREIRA *et al.*, 2001).

A arquitetura microscópica da placa bacteriana está bem definida, sendo as células bacterianas arranjadas em agrupamento ou colunas de microcolônias. Esta estrutura é permeável devido à sua porosidade, permitindo que a saliva, o fluido gengival e os líquidos da dieta infiltrem-se na placa (GENCO; COHEN; GOLDMAN, 1997). O envolvimento de microrganismos na etiologia da doença periodontal está bem estabelecido, entretanto, uma completa identificação de todos agentes microbianos envolvidos com a doença periodontal, ainda não está totalmente definida. Tem sido estimado que aproximadamente 500 espécies diferentes de bactérias habitam a cavidade bucal (MOORE; MOORE, 1994, SOCRANSKY; HAJAJEE, 1994,

WILSON; WEIGHTMEN; WADE, 1997), sendo a maioria dos microrganismos comensais e uma pequena porção deles, patógenos oportunistas, causadores também de doenças sistêmicas (PASTER *et al.*, 2001).

Segundo Marsh *et al.* (1994), a composição da placa bacteriana pode permanecer estável devido a uma variedade de interações entre as espécies constituintes.

Tem sido sugerido que a placa supragengival pode afetar a composição da placa subgengival pelo fornecimento de nutrientes, mantendo o meio anaeróbico da bolsa e facilitando a união de microrganismos (KORNMAN, 1986).

A placa supragengival apresenta um arranjo colunar de espécies bacterianas morfológicamente distintas da superfície dental e a placa subgengival freqüentemente caracterizada por uma zona de Gram-negativos e/ou espécies móveis localizadas adjacentes ao revestimento epitelial da bolsa, enquanto bastonetes e cocos Gram-positivos parecem formar uma camada de organismos firmemente aderidos sobre o esmalte e superfície radicular (LISTGARTEN, 1994).

As bactérias que colonizam inicialmente a superfície do dente são predominantemente microrganismos facultativos Gram-positivos, tais como *Actinomyces viscosus* e *Streptococcus sanguis*. Estes se aderem à película através de adesinas, que interagem com receptores específicos na película dental. Outros mecanismos determinantes da seletividade na colonização da película são estruturas na superfície de certas bactérias, como o *Actinobacillus viscosus*, denominadas fímbrias, que auxiliam na aderência inicial (CARDOSO; GONÇALVES, 2002). Na sucessão ecológica da placa bacteriana ocorre uma transição do meio ambiente aeróbico, inicialmente caracterizado por espécies Gram-positivas facultativas, para um meio altamente privado de oxigênio, com a predominância de microrganismos Gram-negativos anaeróbicos. Na colonização secundária, as diferentes espécies de microrganismos (*Prevotella intermedia*, *Prevotella loescheii*, espécies de *Capnocytophaga*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*), se aderem às bactérias pré-existentes na placa bacteriana. Os fatores de virulência da placa bacteriana dependem da presença ou aumento de microrganismos específicos, que produzem substâncias que medeiam a destruição dos tecidos do hospedeiro (LOESCHE; SYED, 1978).

Em 1988, Socransky *et al.*, relataram que as interações microbianas são importantes nas diferentes condições periodontais, assim, podem resultar em saúde ou doença periodontal. Parece provável que certas associações podem favorecer a colonização de espécies potencialmente virulentas (associação positiva), ou ainda, serem antagonistas a esta colonização (associação negativa).

Em 1996, Zambon descreveu sobre fatores microbianos nas doenças periodontais, considerando os fatores de proteção do hospedeiro, como epitélio e fluxo do fluido gengival, imunidade celular e rápida reposição dos tecidos, meios que dificultam a fixação dos possíveis periodontopatógenos.

A prevalência e severidade da doença aumentam com a idade, por volta dos 45 anos, 97-100% dos indivíduos apresentam alguma forma de doença periodontal. O aumento da severidade associado à idade é refletido pela perda do osso alveolar (NEWMAN *et al.*, 1978).

Diversos exames microbiológicos podem ser aplicados no reconhecimento da placa bacteriana, entre eles destacam-se os meios de cultura, as microscopias ópticas e eletrônicas, testes imunológicos e sondas de DNA (PASTER *et al.*, 2001).

O objetivo deste trabalho foi avaliar através da revista de literatura, a participação bacteriana em diferentes condições periodontais.

REVISÃO DE LITERATURA

A gengiva saudável é representada por características clínicas específicas como cor rosa-pálida, superfície fosca e pontilhada, consistência firme e resiliente, forma dependente do volume e contorno gengival sendo a margem fina e terminando contra o dente como lâmina de faca. Quando submetida à sondagem periodontal, sua profundidade poderá variar de 1-3mm, não devendo apresentar sangramento a este exame (GENCO; COHEN; GOLDMAN, 1997).

Segundo Tanner, Kent e Maiden (1996), as espécies Gram-positivas facultativas relacionadas com a saúde periodontal eram principalmente dos gêneros *Streptococcus* e *Actinomyces* (*Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus gordonii* e *Actinomyces naeslundii*). Algumas espécies bacterianas encontradas na saúde como o *Streptococcus sanguis*, *Veillonella parvula* e *Capnocytophaga ochracea* foram propostas como sendo protetoras ou benéficas ao hospedeiro, por inibir o crescimento de

bactérias periodontopatogênicas como o *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 1992).

A gengivite, inflamação resultante da presença de bactérias localizadas na margem gengival, pode difundir-se por toda a unidade gengival remanescente. As intensidades dos sinais e sintomas clínicos vão variar entre indivíduos e entre sítios numa mesma denteição. As características clínicas comuns incluem presença de placa bacteriana, eritema, edema, sangramento, sensibilidade, aumento do exsudato gengival, ausência de perda de inserção, ausência de perda óssea, mudanças histológicas e reversibilidade após a remoção da placa bacteriana (AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY, 1999).

A microbiota encontrada na gengivite, tradicionalmente conhecida como crônica, difere daquela da gengivite experimental. A placa possui proporções semelhantes de espécies Gram-positivas e Gram-negativas, bem como microrganismos facultativos e anaeróbios. As espécies Gram-positivas são principalmente *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis*, *Actinomyces viscosus*, *Actinomyces naeslundii* e *Peptostreptococcus micros* e os microrganismos Gram-negativos são predominantemente *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Veillonella parvula*, *Haemophilus* e *Campylobacter spp.* (SOCRANSKY; HAFFAJEE, 1992).

Foram encontrados, em indivíduos com gengivite, níveis reduzidos de *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, presença de *Capnocytophaga gingivalis* e *Eikenella corrodens* e aumento expressivo de *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, e *Wolinella recta*. Foram observadas ainda nos quadros de gengivite as presenças de *Streptococcus anginosus*, *Campylobacter concisus*, *Treponema socranskii subsp. paretis*, *Actinobacillus naeslundii III*, e *Streptococcus sanguis I* (MOORE *et al.*, 1987). Segundo Tanner, Kent e Maiden (1996), espécies associadas com gengivite são *Actinomyces georgiae*, *Actinomyces naeslundii*, *Actinomyces israelii*, *Actinomyces IG*, *Veillonella parvula*, *Capnocytophaga ochracea*, *Selenomonas noxia* e *Prevotella nigrescens*.

A periodontite, lesão inflamatória de caráter infeccioso que envolve os tecidos de suporte dos dentes, leva à perda de inserção conjuntiva, osso alveolar e de cimento radicular. Apresenta as mesmas características clínicas da gengivite, acrescentando perda de inserção conjuntiva, presença de bolsa periodontal e perda óssea alveolar (AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY, 1999).

Foi observada na periodontite uma presença comum de espécies como *Porphyromonas gingivalis*, *Eubacterium nodatum*, *Eubacterium timidum*, *Eubacterium brachy* e *Peptostreptococcus anaerobius* (MOORE *et al.*, 1987).

Nas bolsas periodontais, a localização ou distribuição dos patógenos pode relacionar-se à destruição periodontal. Noiri *et al.* (2001) relataram a presença de espécies bacterianas do tipo *Prevotella nigrescens* na porção média das bolsas periodontais (tecido epitelial), presença de *Fusobacterium nucleatum* e *Treponema denticola* (em áreas de placa não aderida), *Eikenella corrodens* (relacionadas a áreas de placa aderida) e *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, na porção apical da bolsa.

A microbiota predominante na porção apical da bolsa periodontal diferiu marcadamente da microbiota do sulco gengival saudável, podendo-se observar que bactérias Gram-positivas correspondiam a 25,1% e 85,0%, respectivamente. Quanto à presença de bactérias anaeróbias observou-se respectivamente 89,5% e 24,3% das bactérias isoladas. De todos os bacilos Gram-positivos, 78,4% (bolsas profundas) e 19,9% (sulco saudável) foram anaeróbios. Pode-se ter como hipótese que a inflamação gengival iniciada pela placa supragengival pode produzir condições de meio ambiente favorável para a colonização de bactérias Gram-negativas (SLOTS, 1977).

Bolsas periodontais profundas não são pré-requisitos de meio ambiente ecológico para o estabelecimento de *Porphyromonas gingivalis*, uma vez que é alta a sua ocorrência em sujeitos sem doença periodontal (DAHLÉN *et al.*, 1992).

Proporções aumentadas de *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus* e espécies de *Prevotella*, *Fusobacterium*, *Campylobacter* e *Treponema* são mais prevalentes em ambas as amostras supra e subgengival de indivíduos com periodontite (XIMENES-FYVIE; HAFAJEE; SOCRANSKY, 2000).

A porcentagem de indivíduos com sítios positivos para as bactérias, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Bacteroides forsythus* e *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, em pacientes com periodontite foi avaliada e os resultados foram respectivamente, em *Porphyromonas gingivalis* (93,5%), *Prevotella intermedia* (91,6%), *Bacteroides forsythus* (98,0%), e *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (81,4%) (RUBIRA *et al.*, 1996). Foi sugerido que a *Prevotella intermedia* é o principal patógeno para o desenvolvimento de doenças periodontais (RABER *et al.*, 1994).

Em 1988, Socransky *et al.* relataram que a doença periodontal destrutiva depende da natureza compatível do hospedeiro ou espécies benéficas colonizando a margem gengival que favoreçam a colonização de outras espécies. *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus uberis* e *Actinomyces viscosus* inibem o crescimento *in vitro* do *Actinobacillus actinomycetemcomitans* e que o mecanismo para esta inibição, pelo menos para *Streptococcus sanguis*, parece ser a formação de peróxido de hidrogênio.

Schlegel-Bregenzler *et al.* (1998) estudando a microbiota supra e subgengival por métodos de cultura e sonda de DNA, em 20 indivíduos idosos entre 62 e 93 anos de idade, 10 com gengivite e 10 com periodontite, verificaram que a placa supragengival de indivíduos com gengivite e periodontite incluía *Prevotella nigrescens*, *Bacteroides forsythus* e *Porphyromonas gingivalis*, especialmente quando estudados pelo método da sonda de DNA. Pelo método de cultura na placa subgengival, *Prevotella intermedia* foi encontrada raramente e *Prevotella nigrescens* foi encontrada em 70% de indivíduos com gengivite e 10% de indivíduos com periodontite. Pelo método da sonda de DNA foram evidenciados altas proporções de *Bacteroides forsythus*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* e *Treponema denticola*, tanto na placa supragengival quanto na placa subgengival, de indivíduos com gengivite e periodontite.

Comparando a microbiota subgengival de indivíduos saudáveis, com gengivite e com periodontite inicial usando para diagnóstico, cultura e sondas de DNA, método de hibridização, observou-se que pelo método de cultura *Bacteroides forsythus*, *Campylobacter rectus*, *Selenomonas noxia*, *Actinomyces naeslundii* e *Streptococcus oralis* foram espécies predominantes associadas à periodontite. *Actinomyces naeslundii*, *Campylobacter gracilis* e *Bacteroides forsythus* (em menores níveis que na periodontite) foram predominantes na gengivite. Espécies associadas com saúde, *Streptococcus oralis* e *Actinomyces naeslundii* e *Actinomyces gerencseriae*. A sonda de DNA identificou médias mais altas de *Bacteroides forsythus* e *Campylobacter rectus* na periodontite. *Porphyromonas gingivalis* e *Actinobacillus actinomycetemcomitans* foram detectados menos freqüentemente, nos indivíduos estudados (TANER *et al.*, 1998).

DISCUSSÃO

Muitos estudos têm demonstrado uma relação entre a colonização de microrganismos bucais específicos na placa bacteriana e a presença e/ou severidade da doença periodontal, através de técnicas diagnósticas como a cultura seletiva e não seletiva, associada ou não à microscopia em campo escuro e óptico, teste de imunofluorescência indireta e sonda de DNA. Portanto, a variância de resultados encontrados nos estudos revisados deve-se à utilização de diferentes metodologias, pois cada teste apresenta uma limitação na sua eficácia. A discordância dos dados obtidos na cultura e os outros testes é atribuída à presença de microrganismos não cultiváveis na amostra colhida (microrganismos não viáveis, armazenamento incorreto, erros no processamento) além da especificidade de alguns testes (PASTER *et al.*, 2001, RUBIRA *et al.*, 1996).

A presença de espécies consideradas patógenos periodontais, em sítios sem evidências de destruição periodontal torna claro que, para a ocorrência da doença periodontal, os patógenos são necessários, mas não suficientes, dependendo também dos fatores de risco, fatores genéticos e resposta imunológica do hospedeiro.

Slots (1977) registrou que o sulco gengival saudável continha pequeno número de microrganismos, predominantemente bastonetes Gram-positivos facultativos. A saúde periodontal resulta de um equilíbrio parasita-hospedeiro, alterações desse equilíbrio podem provocar mudanças locais ou sistêmicas que diminuam a resistência do hospedeiro ou alterações quantitativas e/ou qualitativas da microbiota periodontal, resultando em aumento de virulência.

A superfície dentária normalmente é coberta pela película adquirida, composta de glicoproteínas salivares e anticorpos que alteram a carga e energia livre da superfície, aumentando a adesão bacteriana, que é o mecanismo inicial para causar uma infecção (WILSON, 2001). Apêndices da superfície bacteriana (fímbria ou pili) funcionam como adesinas e facilitam a transferência de DNA de uma célula para outra. Cápsulas extracelulares e camada limosa funcionam como adesinas e têm propriedades antifagocíticas (CARDOSO; GONÇALVES, 2002).

Com a disposição de nutrientes, há o crescimento celular das bactérias aderidas às superfícies dentárias, adesão de novas bactérias e síntese de polímeros extracelulares aumentando a massa bacteriana (fase de acumulação). O aumento de espessura da placa bacteriana promove nas camadas mais profundas condições de anaerobiose, o crescimento e multiplicação das bactérias variam de acordo com os níveis de oxigênio. As fontes

de nutrientes para as bactérias supragengivais são os produtos da dieta dissolvidos na saliva, enquanto, para as bactérias subgengivais estes nutrientes provêm dos tecidos periodontais e sanguíneo. A colonização primária inicia-se por bactérias Gram-positivas facultativas seguidas de bactérias Gram-negativas e à medida que a placa bacteriana envelhece e se torna madura, ocorrem mudanças ecológicas ocorrendo colonização secundária por bactérias Gram-negativas anaeróbias estritas.

As espécies microbianas interagem e, embora algumas possam não ser patógenos periodontais, ainda influenciam o processo da doença, favorecendo o seu crescimento ou aumentando o potencial de virulência de outros microrganismos (LINDHE, 1999).

As primeiras reações do periodonto, frente à presença da placa bacteriana, são inflamatórias e imunológicas com o intuito de proteger dada a invasão microbiana nos tecidos gengivais. Dependendo da lesão tecidual causada pelas reações de defesa do hospedeiro, podemos observar a gengivite (restrito ao tecido gengival) e a periodontite (quando atinge os tecidos de suporte). Bolsas periodontais profundas alocam número expressivo de microrganismos, a maioria Gram-negativos anaeróbios. Três espécies se destacam, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* e *Prevotella intermedia*, devido a sua alta frequência em lesões periodontais e do seu potencial patogênico.

A destruição periodontal é causada por fatores de virulência das bactérias como alguns constituintes microbianos que danificam diretamente os tecidos através da produção de toxinas ou indiretamente através da indução de uma resposta imunopatológica. Lipopolissacarídeos (LPS) contribuem para danos teciduais, principalmente reabsorções ósseas. Componentes da parede celular servem como barreira protetora às bactérias, ativam o sistema complemento e interferem na fagocitose. De uma maneira geral, os fatores de virulência das bactérias induzem à reação inflamatória, que é uma resposta imunológica inespecífica (PASTER *et al.*, 2001).

A base da terapia periodontal consiste na remoção da placa bacteriana sobre a superfície dentária, pois é através dela, que as células do epitélio do sulco e epitélio juncional tomam contato com os produtos residuais, enzimas e componentes da superfície das bactérias causando a reação inflamatória e imunológica específica. Existe uma correlação positiva entre a quantidade e qualidade da placa bacteriana com a gravidade da doença periodontal. Muitos autores relatam que o simples cuidado de remoção da placa bacteriana através de um controle mecânico rigoroso pode reduzir ou eliminar a gengivite. Por outro lado, a periodontite necessita de maiores cuidados, pois a placa bacteriana invade o sulco gengival e o epitélio juncional, permitindo que microrganismos penetrem no interior dos tecidos e túbulos dentinários. O debridamento mecânico muitas vezes não é suficiente na remoção dos microrganismos do interior dos canalículos dentinários e tecidos, sendo necessário a utilização de agentes quimioterápicos específicos para sua eliminação.

CONCLUSÃO

Após a realização da revisão da literatura nos é lícito concluir que a presença de espécies bacterianas reflete diretamente a condição periodontal e a participação destes microrganismos favorece a instalação e progressão da doença.

ABSTRACT

The bacterial plaque is a non-calcificated biofilm, strictly attached to the tooth surface. It is comprised by bacterial collection and salivary components, with continuous growth, considered the major etiological agent in the caries and periodontal disease. The objective of this review was to assess the specific bacterial participation in different periodontal conditions. Subjects periodontally healthy are associated with Gram positive species included, *Streptococcus* and *Actinomyces*, and Gram negative species, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Capnocytophaga*, *Neisseria* and *Veillonella spp.* In gingivitis, there are regular occurrences with Gram positive species, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguis*, *Actinomyces viscosus*, *Actinomyces naeslundii* and *Peptostreptococcus micros* and Gram negative species, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Veillonella parvula*, *Haemophilus* and *Campylobacter spp.* Finally, subjects diagnosed of periodontitis are related with *Porphyromonas gingivalis*, *Bacteroides forsythus*, *Prevotella intermedia*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, *Fusobacterium nucleatum*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*,

Treponema and *Eubacterium spp.* The authors of this present study concluded that microflora in the oral cavity is variable and reflects the periodontal condition.

KEY-WORDS: microflora; periodontal health; gingivitis; periodontitis.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY. International Workshop for a Classification of Periodontal Diseases and Conditions. *Annals of Periodontol.* v. 4, n. 1, p. 8-38, 1999.

CARDOSO, R. J. A.; GONÇALVES, E. A. N. *Periodontia-Cirurgia para Implantes-Cirurgia-Anestesiologia*. São Paulo: Artes Médicas, 2002. v. 5, cap. 1.

DAHLÉN, G. et al. Putative periodontopathogens in “diseased” and “non-diseased” persons exhibiting poor buccal hygiene. *J. Clin. Periodontol.*, n. 19, p. 35-42, 1992.

GENCO, R. J.; COHEN, D. W.; GOLDMAN, H. M. *Periodontia Contemporânea*. 2 ed. São Paulo: Santos, 1997. cap. 8 e 9, p. 117-134

KORNMAN, K. S. The role of supragingival plaque in the prevention and treatment of periodontal diseases. *J. Periodontol. Res.*, v. 21, p. 5-22, 1986.

LINDHE, J. *Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral*. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. cap. 4, p. 92-126

LISTGARTEN, M. A. The structure of dental plaque. *Periodontol. 2000*, n. 5, p. 52-65, 1994.

LOESCHE, W. J., E SYED, S.A. Bacteriology of human experimental gingivitis: effect of plaque and gingivitis score. *Infect. Immun.*, n. 21, p. 830-839, 1978.

MARSH, P. D. et al. Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Adv. Dent. Res.*, n. 8, p. 263-271, 1994.

MOORE, L. V. H. et al. Bacteriology of human gingivitis. *J. Dent. Res.*, v. 66, n. 5, p. 989-995, 1987.

MOORE, W. E. C. E MOORE, L. V. H. The bacteria of periodontal diseases. *Periodontol. 2000*, n. 5, p. 66-77, 1994.

NEWMAN, M. G. et al. Predominant microbiota associated with periodontal health in the aged. *J. Periodontol.*, v. 49, p. 553-559, 1978.

NOIRI, Y.; et al. The localization of periodontal-disease-associated bacteria in human periodontal pockets. *J. Dent. Res.*, v. 80, n. 10, p. 1930-1934, 2001.

PASTER, B. J. et al. Bacterial diversity in human subgingival plaque. *Journal of Bacteriology*, n. 12, p. 3770-3783, 2001.

RABER, D. J. E. et al. Experimental gingivitis during pregnancy and post-partum: clinical, endocrinological, and microbiological aspects. *J. Clin. Periodontol.*, n. 212, p. 549-558, 1994.

ROSAN, B.; LAMONT, R. J. Dental plaque formation. *Microbes and infection*, n. 2, p. 1599-1607, 2000.

RUBIRA, I. R. F. et al. Pesquisa de bactérias bucais em amostras de placa subgingival de indivíduos com o periodonto normal e de portadores de periodontite através da técnica do “SLOT IMMUNOBLOT”. *Rev. Odontol. Univ. São Paulo*, v. 10, n. 3, p. 181-187, 1996.

SCHLEGEL-BRENGENZER, B. et al. Clinical and microbiological findings in elderly subjects with gingivitis or periodontitis. *J. Clin. Periodontol.*, n. 25, p. 897-907, 1998.

SLOTS, J. Microflora in the healthy gingival sulcus in man. *Scand. J. Dent. Res.*, n. 85, p. 247-254, 1977.

SOCRANSKY, S. S.; HAFFAJEE, A. D. Evidence of bacterial etiology: a historical perspective. *Periodontol. 2000*, n. 5, p. 7-25, 1994.

SOCRANSKY, S. S.; HAFFAJEE, A. D. The bacterial etiology of destructive periodontal disease: Current concepts. *J. Periodontol.*, v. 63, p. 322-327, 1992

SOCRANSKY, S. S. et al. Associations between microbial species in subgingival plaque samples. *Oral Microbiol. Immunol.*, n. 3, p. 1-7, 1988.

TANNER, A.; KENT, R.; MAIDEN, M. A. Clinical, microbiological and immunological profile of healthy, gingivitis and putative active periodontal subjects. *J. Periodont. Res.*, n. 31, p. 195-204, 1996.

TANNER, A. et al. Microbiota of health, gingivitis, and initial periodontitis. *J. Clin. Periodontol.*, n. 25, p. 85-98, 1998.

WILSON, M. Bacterial biofilms and human disease. *Science Progress*, v. 84, n. 3, p. 235-254, 2001.

WILSON, M. J.; WEIGHTMEN, A. J.; WADE, W. G. Applications of molecular ecology in the characterisation of uncultured microorganisms associated with human disease. *Rev. Med. Microbiol.*, n. 8, p. 91-101, 1997.

XIMÉNES-FYVIE, L. A.; HAFAJEE, A. D.; SOCRANSKY, S. S. Comparison of the microbiota of supra- and subgingival plaque in health and periodontitis. *J. Clin. Periodontol.*, n. 27, p. 648-657, 2000.

ZAMBON, J. J. Periodontal Diseases: Microbial Factors. *Annals of Periodontology*, vol. 1, p. 879-925, 1996.