

**Marcelo de Paiva Raffaelli**

**ETIOLOGIA DA DOENÇA PERIODONTAL: REVISÃO DE LITERATURA**

**Universidade Fernando Pessoa – Faculdade de Ciências da Saúde**

**Porto, 2016**



**Marcelo de Paiva Raffaelli**

**ETIOLOGIA DA DOENÇA PERIODONTAL: REVISÃO DE LITERATURA**

**Universidade Fernando Pessoa- Faculdade de Ciências da Saúde**

**Porto, 2016**

**Marcelo de Paiva Raffaelli**

**ETIOLOGIA DA DOENÇA PERIODONTAL: REVISÃO DE LITERATURA**

---

**Monografia apresentada à Universidade Fernando Pessoa  
como parte dos requisitos para a obtenção do grau de  
Mestre em Medicina Dentária**

## SUMÁRIO

A doença periodontal é caracterizada como um conjunto de condições inflamatórias, de caráter crônico ou agudo, e de origem bacteriana, que começa por afetar o tecido gengival e pode levar, com o tempo, à perda dos tecidos de suporte dos dentes.

As reações inflamatórias e imunológicas à placa bacteriana representam as características predominantes da gengivite e da periodontite. A reação inflamatória é visível, microscópica e clinicamente, no periodonto afetado e representa a reação do hospedeiro à microbiota da placa e seus produtos. O processo de infecção no sulco periodontal leva, inicialmente, a formação de uma mucosite periodontal, que pode ser definida como uma inflamação dos tecidos moles periodontais, sem ocasionar perda óssea, sendo reversível, se o seu diagnóstico for atempado.

Os processos inflamatórios e imunológicos atuam nos tecidos gengivais para proteger contra as agressões microbianas, impedindo os microrganismos de se disseminarem ou invadirem os tecidos. Em alguns casos, essas reações de defesa do hospedeiro podem ser prejudiciais porque também são passíveis de danificar as células e estruturas vizinhas do tecido conjuntivo. Além disso, as reações inflamatórias e imunológicas cuja extensão alcança níveis mais profundos do tecido conjuntivo, além da base do sulco, podem envolver o osso alveolar nesse processo destrutivo. Assim, tais processos defensivos podem, paradoxalmente, ser os responsáveis pela maior parte da lesão tecidual observada na gengivite e na periodontite.

O objectivo desse trabalho é fazer uma revisão de literatura específica sobre a etiologia da doença periodontal respectivamente. Serão descritos os principais agentes microbianos que estão relacionados com a doença periodontal e a forma como influenciam o desenvolvimento da doença, procurando desta forma contribuir para a procura de tratamentos mais eficientes.

Palavras-Chaves: *doença periodontal, Actinobacillus actinomycetenumcomitans, etiologia periodontal, patogênese da doença periodontal, higiene oral, microbiota da cavidade bucal, biofilme bucal.*

## ABSTRACT

Periodontal disease is characterized as a collection of inflammatory conditions, chronic or acute nature, and of bacterial origin, which starts affecting the gingival tissue and may lead in time to the loss of supporting tissues of the teeth.

Inflammatory and immune responses to plaque represent the predominant characteristics of gingivitis and periodontitis. The inflammatory reaction is visible, microscopic and clinically affected in the periodontium and is the host reaction to the plaque microflora and its products. The process of peri-implant infection groove leads initially to the formation of a peri-implant mucositis, which can be defined as an inflammation of the peri-implant soft tissues without causing bone loss is reversible, if the diagnosis is premature.

Inflammatory and immunological processes act in the gingival tissues to protect against microbial attack and prevent microorganisms to invade tissues or disseminate. In some cases, these host defense reactions can be harmful because they are also liable to damage the cells and surrounding tissue structures. In addition, inflammatory and immunological reactions which extension reaches deeper levels of tissue, beyond the groove base, may involve the alveolar bone in this destructive process. Thus, such defensive processes may paradoxically account for most of the tissue damage observed in gingivitis and periodontitis.

The aim of this study is to review the literature on the etiology of periodontal disease respectively. Are described which are the main antimicrobial agents that are associated with periodontal disease and thus relates them as they act to disease development, thus being able to relate these pathogens with a more efficient treatment possible.

Keywords: *periodontal disease, Actinobacillus actinomycetencomitans, periodontal etiology, pathogenesis of periodontal disease, oral hygiene, microbiota of the oral cavity, oral biofilm.*

## **Dedicatórias**

À Deus, pelo dom da vida, pela graça e saúde.

À minha família e amigos por estarem sempre ao meu lado.

A todos os que participaram de alguma forma em mais essa fase da minha vida.

## **Agradecimentos**

Primeiramente a Deus que sempre se mostrou presente a cada segundo em meus dias.

A minha mulher Renata por se demonstrar mais uma vez ser forte e guerreira. Te amo.

As minhas filhas, Julia e Bruna, pela compreensão por minha ausência por um período tão longo. Faço tudo isso por vocês.

Aos meus pais Bruno, Vânia e a minha tia Vanice pelo amor, apoio, carinho e pelo apoio em cada momento.

A professora Alexandra Martins, pela ajuda, atenção e disposição.

A Vanesca Costa, minha amiga de anos que mais uma vez me apoiou, ajudou e incentivou nesse processo.

Aos amigos Eugênio, Rosa Maria, Paulo, Fernanda e Leticia, pelos momentos de descontração e que neste período me acolheram como membro de sua família.

A todos os colegas, demais professores e funcionários da Universidade Fernando Pessoa que contribuíram para que essa etapa se concluísse com êxito.

## ÍNDICE

I. INTRODUÇÃO .....	1
II. METODOLOGIA .....	6
III. DESENVOLVIMENTO .....	7
1. Patogênese da Doença Periodontal.....	10
2. Análise Microscópica.....	15
3. Checkerboard DNA-DNA Hybridization.....	18
4. Reação em Cadeia de Polimerase (PCR).....	23
IV. CONCLUSÃO .....	29
V. BIBLIOGRAFIA.....	31

## ABREVIATURAS

% - Porcentagem

**A. gerencseriae** - Actinomyces gerencseriae

**A. israelii** - Actinomyces israelii

**A. naeslundii** - Actinomyces naeslundii

**A. odontolyticus** - Actinomyces odontolyticus

**A.actinomycetemcomitans** - Aggregatibacter Actinomycetemcomitans

**C. gingivalis** - Capnocytophaga gingivalis

**C. gracilis** - Campylobacter gracilis

**C. ochracea** - Capnocytophaga ochracea

**C. rectus** - Campylobacter rectus

**C. showae** - Campylobacter showae

**C. sputigena** - Capnocytophaga sputigena

**DNA**– Ácido Desoxiribonucleico

**E. nodatum** - Eubacterium nodatum

**E. coli** - Escherichia coli

**E. corrodens** - Eikenella corrodens

**E. faecalis** - Enterococcus faecalis

**E. saphenum** - Eubacterium saphenum

**F. nucleatum** - Fusobacterium nucleatum

**F. periodonticum** - Fusobacterium periodonticum

**M. timidum** - Mogibacterium timidum

**mm** - Milímetro

**Nm** – Nanômetro

**P. corporis** - Prevotella corporis

**P. disiens** - Prevotella disiens

**P. gingivalis** - Porphyromonas gingivalis

**P. intermedia** - Prevotella intermedia

**P. magnus** - Peptostreptococcus magnus

**P. micra** - Parvimonas micra

**P. nigrescens** - Prevotella nigrescens

**S. constellatus** - Streptococcus constellatus  
**S. epidermidis** - Streptococcus Epidermidis  
**S. exigua** - Slackia exigua  
**S. gordonii** - Streptococcus gordonii  
**S. intermedius** - Streptococcus intermedius  
**S. mitis** - Streptococcus mitis  
**S. noxia** - Selenomonas noxia  
**S. oralis** - Streptococcus oralis  
**S. sanguinis** - Streptococcus sanguinis  
**T. denticola** - Treponema denticola  
**T. forsythia** - Tannerella forsythia  
**V. parvula** - Veillonella parvula

## I INTRODUÇÃO

A doença periodontal é caracterizada como uma doença infecciosa que tem como fator etiológico microrganismos específicos presentes no biofilme bucal, que acometem as estruturas de proteção e sustentação dos dentes, levando à perda de inserção, de tecido ósseo e eventualmente do elemento dentário (LÖE et al., 1965, SOCRANSKY, 1970; LISTGARTEN et al., 1978; LOESCHE et al., 1985; SOCRANSKY & HAFFAJEE, 1994a; HAFFAJEE & SOCRANSKY, 1994; SOCRANSKY et al., 1998; ARMITAGE, 1999). A forma mais comum da doença periodontal é a crônica e apesar de sua etiopatogenia ser conhecida e bem estudada, ainda não existe um padrão ideal de terapia para todos os pacientes dentário (SOCRANSKY et al., 1998; AAP, 1999; SOCRANSKY & HAFFAJEE, 2005). A busca por uma terapêutica periodontal mais eficaz é contínua, já que alguns pacientes ou sítios continuam a apresentar progressão de doença, mesmo após o tratamento convencional de raspagem e alisamento radicular (RAR) subgingival (HAFFAJEE et al., 1997; ROSLING et al., 2001).

A doença periodontal estão entre as doenças infecciosas orais mais comuns associados com a estabelecimento de um biofilme altamente patogênica que provoca uma resposta imune/inflamatória do hospedeiro, levando à destruição de tecidos periodontais de suporte e à eventual perda dos dentes. Além dos problemas provocados pelo impacto negativo desta doença na qualidade de vida oral, bactérias e infecções periodontais têm sido apontadas como fatores de risco potenciais para várias doenças sistêmica (COLOMBO et al. 2015).

Apesar de muitos microrganismos bucais receberem a definição de periodontopatógenos, apenas um número reduzido de bactérias é responsável pela infecção dos tecidos periodontais. Estes poucos microrganismos pertencem às mais de 400 espécies de bactérias capazes de colonizar a cavidade bucal em seus mais variados locais. E, alguns estudos demonstraram que são estes microrganismos que apresentam capacidade de induzir o desenvolvimento de gengivites e periodontites em humanos (SOCRANSKY & HAFFAJEE, 2002).

A periodontite é a principal causa de perda dentária em todo o mundo. Além disso, tem sido provado ser um fator de risco significativo de doenças sistêmicas, incluindo doença cardíaca coronária, diabetes, acidente vascular cerebral, artrite reumatóide, obesidade, aterosclerose, parto prematuro e baixo peso ao nascer em recém-nascidos. É aceito que a periodontite é iniciada pelas bactérias incorporadas no biofilme subgingival a placa dentária tem envolvimento nas interações complexas das bactérias hospedeiras iniciais (HAFFAJEE & SOCRANSKY, 2005).

As reações inflamatórias e imunológicas à placa bacteriana representam as características predominantes da gengivite e da periodontite. A reação inflamatória é visível, microscópica e clinicamente, no periodonto afetado e representa a reação do hospedeiro à microbiota da placa e seus produtos. Sendo assim esses processos agem nos tecidos gengivais para proteger contra o ataque microbiano e impedem os microrganismos de se disseminarem ou invadirem os tecidos. Em alguns casos, essas reações de defesa do hospedeiro podem ser prejudiciais porque também são passíveis de danificar as células e estruturas vizinhas do tecido conjuntivo. Além disso, as reações inflamatórias e imunológicas cuja extensão alcança níveis mais profundos do tecido conjuntivo, além da base do sulco, podem envolver o osso alveolar nesse processo destrutivo. Assim, tais processos defensivos podem, paradoxalmente, responder pela maior parte da lesão tecidual observada na gengivite e na periodontite (UNICAMP - PATOGÊNESE DA DOENÇA PERIODONTAL).

O controle mecânico tem como objetivo desorganizar o biofilme dental, suprimir os patógenos periodontais da cavidade bucal e impedir a progressão da doença (SOCRANSKY & HAFFAJEE, 2002). Entretanto, o debridamento mecânico sozinho tem sido questionado para a eliminação de espécies periodontopatogênicas como *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e *Porphyromonas gingivalis* dos nichos subgingivais (SHILOAH et al., 1998; MOMBELLI et al., 2000), por essas espécies apresentarem habilidade de atingir locais privilegiados, de difícil acesso, invadindo células epiteliais orais (LAMONT & JENKINSON, 1998; FIVES-TAYLOR et al., 1999; LAMONT & JENKINSON, 2000; RUDNEY et al., 2005).

Alguns microrganismos subgingivais não podem ser removidos porque estão localizados em áreas fora do alcance da instrumentação periodontal, como as lesões de furca profunda e dentina radicular (SLOTS & RAMS, 1991; ADRIAENS & ADRIAENS, 2004). Além disso, a RAR tem um efeito limitado no biofilme extracrevicular, o qual pode representar um importante reservatório para a reinfecção e recolonização dos nichos subgingivais (DANSER et al., 1996; QUIRYNEN et al., 2001; MAGER et al., 2003). Portanto, a permanência ou a rápida recolonização com microrganismos periodontopatogênicos, após o debridamento subgingival, pode ser a razão de resultados clínicos menos favoráveis (RODENBURG et al., 1990; RAMS et al., 1996).

A motivação para a realização da presente revisão sistemática do tema abordado deve-se ao fato de minha experiência clínica adquirida nestes 14 anos que exerci Medicina Dentária no Brasil, impulsionando-me sempre na procura de novos conhecimentos em relação a etiologia da doença periodontal a fim de me possibilitar conhecimentos mais aprofundados em relação a esta temática e desta forma poder disponibilizar as melhores opções de tratamento aos meus pacientes.

O presente trabalho tem como seu objetivo principal entender quais as bactérias ou grupo de bactérias responsáveis pela etiologia do doença periodontal, para que desta forma possamos planejar o tratamento e terapias mais eficazes a fim de obtermos melhores resultados de tratamento nas mais variadas formas da doença periodontal.

O ponto de partida para se definir uma terapia, seja em odontologia ou nas diversas áreas da medicina, é a compreensão da etiologia e progressão das diferentes enfermidades. Neste contexto, é importante ressaltar que as doenças periodontais são um grupo de infecções que possuem como fator etiológico primário as bactérias presentes na cavidade oral, especialmente as que colonizam as superfícies dos dentes, supra e subgingivalmente. Muitos avanços, ocorridos principalmente nas duas últimas décadas, facilitaram o entendimento da etiopatogenia das periodontites, incluindo a microbiota patogênica relacionada a cada tipo de doença e o perfil do hospedeiro. Esses

conhecimentos têm facilitado o direcionamento de terapias mais específicas para cada paciente (HAFFAJEE & SOCRANSKY, 2005).

Em termos da microbiota, já está bem estabelecido na literatura que a gengivite é decorrente do acúmulo indiferenciado de bactérias na margem gengival, enquanto que a destruição periodontal se relaciona não somente à quantidade de biofilme, mas, principalmente, a sua composição. Vários estudos demonstraram que certos microrganismos ou grupos de microrganismos se relacionam com o início e a progressão da perda de inserção periodontal, enquanto que outras espécies, consideradas compatíveis com o hospedeiro, estão mais associadas com saúde periodontal (TELES et al., 2006; CHOI et al., 2000; DAROUT et al., 2003).

A microbioma oral, tem uma enorme diversidade de espécies microbianas que ultrapassa 700 espécies. Apesar desta enorme diversidade, o microbiota oral, apresenta um tropismo forte. Em outros termos, os microorganismos que colonizam a cavidade oral (também caracterizado como "microbiota bucal residente") co-evoluíram com bactérias hospedeiras iniciais, e são altamente especializados e adaptados para sobreviver em um nicho ecológico específico (SILVA-BOGHOSSIAN et al. 2011).

Portanto, devido a esta adaptação ecológica, pode ser difícil para as bactérias que não são colonizadores típicos da cavidade oral para sobreviver e constituem parte da microbiota oral. No entanto, existem poucas evidências experimentais que demonstra se as espécies que não fazem parte da microflora oral normal podem ser incorporados com sucesso em um biofilme oral, sob dadas condições experimentais que favorecem a formação de biofilmes orais (TELES et al., 2006).

Até o momento ainda não é decisivo porque alguns pacientes, sistemicamente saudáveis, com quadros clínicos semelhantes respondem de maneira mais limitada às terapias periodontais do que outros. Dessa forma, um estudo detalhado da composição do

biofilme subgingival em indivíduos com doença periodontal crônica ou agressiva poderá contribuir para o maior entendimento da importância da microbiota na escolha terapêutica (COLOMBO et al. 2015).

O conhecimento das limitações da terapia mecânica para o controle da doença periodontal e o entendimento atual da especificidade do biofilme subgingival e da existência de diferentes patógenos associados às diferentes formas de infecções periodontais, levam à busca por uma terapia fundamentada nos fatores etiológicos da infecção, que parece ser o caminho para melhores resultados clínicos e microbiológicos a longo prazo.

## II METODOLOGIA

O presente estudo pode ser entendido como pesquisa descritiva que pretende apresentar as características da etiologia da doença periodontal, a partir da literatura publicada sobre o tema.

Os critérios para inclusão das publicações presentes na revisão foram: artigos na íntegra em língua inglesa e portuguesa que abordaram o tema, desde os primeiros trabalhos publicados sobre o tema até 2015. Alguns dos trabalhos citados (LOVDAL et al. 1958; LÖE et al. 1965; THELAIDE et al. 1966; RUSSEL 1967; LÖE et al. 1967; LOESCHES 1976; PENNEL & KEAGLE 1977; SLOTS 1977) foram usados pelo fato de serem indispensáveis para uma melhor compreensão e entendimento da evolução da etiologia da doença periodontal e por se tratar de estudos que fazem parte do início de todas as pesquisas no âmbito da etiologia periodontal, fazendo assim que ser imprescindível o relato dos mesmos. Levando em consideração que muitos relatos ainda são aceitos nos dias atuais.

Para a realização deste trabalho foram consultados diversos artigos científicos, cuja pesquisa foi efetuada através das bases de dados *PubMed*, *Bireme*, *PIBIC*. Foram usadas as seguintes palavras: *doença periodontal*, *Actinobacillus actinomycetencomitans*, *etiologia periodontal*, *patogênese da doença periodontal*, *higiene oral*, *microbiota da cavidade bucal*, *biofilme bucal*. Não foi usada restrição de datas nem de idiomas, tendo sido, no entanto, apenas usados artigos em inglês e português.

### III DESENVOLVIMENTO

O clássico estudo de “gingivite experimental” (LÖE et al. 1965) mostrou que retirando a escovação por 28 dias de voluntários adultos saudáveis causou o acúmulo de placa bacteriana, fez com que todos os indivíduos em um período de 10 a 21 dias, tivessem impreterivelmente a instalação de um processo inflamatório gengival. Este mesmo estudo demonstrou que ao se retornar o processo de higienização oral e a remoção da placa são capazes de reverter o processo inflamatório, retonando assim a uma situação associada à saúde periodontal. Os dados encontrados neste estudo estavam de acordo com outros estudos que demonstraram sucessão microbiana no desenvolvimento da placa (RITZ et al., 1967, SOCRANKY et al., 1977, ZEE et al 1996). Os estudos dinamarqueses associado certos tipos morfológicos de bactérias com uma mudança no estado clínico do local, isto é, o desenvolvimento de gingivite.

Naquela época, acreditava-se que a doença periodontal era oriunda de um supercrescimento da placa bacteriana, de forma que qualquer microrganismo presente no ambiente subgengival poderia contribuir ativamente para a destruição dos tecidos; e este conceito ficou conhecido como “Hipótese da Placa Não Específica” (LOVDAL et al., 1958; SCHEI et al., 1959; LÖE et al., 1965; THEILADE et al., 1966; LÖE et al., 1967; RUSSEL, 1967). Estes estudos mostraram uma relação positiva entre o acúmulo de biofilme dental e a patogenia da doença, comprovando sua importância na etiologia das doenças periodontais. Portanto, estabeleceu-se que este conceito, cuja idéia era que qualquer acúmulo de biofilme na margem gengival levaria a produção de fatores irritantes, tinha como consequência a inflamação gengival e a destruição periodontal (THEILADE, 1986).

Estudos experimentais realizados em modelos animais (KEYES & JORDAN, 1964; GIBBONS et al., 1966; GIBBONS & SOCRANSKY, 1966) sugeriram a especificidade microbiana relacionada às doenças periodontais, relatando uma possível transmissibilidade de infecções orais. KEYES & JORDAN (1964) estudaram a

capacidade de transmissão da doença periodontal entre hamsters e observaram que animais saudáveis em gaiolas com animais doentes poderiam ser infectados. Analisando o biofilme em ambos, os autores observaram que somente a espécie conhecida como *Actinomyces viscosus* era capaz de provocar a destruição óssea em animais sadios. GIBBONS et al. (1966) e GIBBONS & SOCRANSKY (1966) constataram que a inoculação de microrganismos provenientes de bolsas periodontais em animais “germe-free”, levava ao aparecimento de perda óssea alveolar nestes animais. Os estudos de LÖE et al. (1978 e 1986) representaram uma grande contribuição científica para o desenvolvimento do conceito da etiologia da doença periodontal. Estes estudos foram realizados com os plantadores de chá do Sri Lanka, na qual 480 plantadores de chá foram observados durante 15 anos, e demonstraram que 11% destes indivíduos, não apresentavam progressão da doença periodontal, independente da grande presença de depósitos de biofilme dental. Todavia, investigações epidemiológicas realizadas na década de 80 vieram a contradizer esta hipótese (LÖE et al., 1986; BAELUM et al., 1988).

Nestes estudos foram observados indivíduos que, mesmo com uma quantidade considerável de placa bacteriana, não desenvolviam doença periodontal, enquanto outros indivíduos com quantidades reduzidas de placa apresentavam uma rápida destruição tecidual. Retomou-se, então, o conceito da especificidade microbiana da doença periodontal, que ficou conhecido como “Hipótese da Placa Específica” (LOESCHE, 1976). Esta hipótese é aceita até os dias atuais e sugere que a placa bacteriana subgingival presente em lesões de periodontite é qualitativa e quantitativamente diferente da placa presente em sítios saudáveis (ROSENBERG et al., 1981; HINRICHS et al., 1985; DZINK et al., 1988; ADRIAENS et al., 1988; ALBANDAR et al., 1990; CHRISTERSSON et al., 1992; LOESCHE, 1992) e que diferentes formas da doença estão associadas às diferentes espécies bacterianas ou grupos de bactérias (LOESCHE et al. 1985; MARSH, 1992; HAFFAJEE & SOCRANSKY, 1994; SOCRANSKY et al., 1998). Sabe-se hoje que apesar de mais de 700 espécies bacterianas terem sido isoladas e identificadas na cavidade bucal (SLOTS, 1977; MOORE et al., 1987; LOESCHE & KAZOR, 2002), nem todas possuem papel determinante na etiologia da doença periodontal.

Na década de 90, começamos a compreender que embora a ação bacteriana seja essencial, ela isoladamente não é suficiente para a ocorrência da doença. Observamos a influência de fatores como: hereditariedade, stress, tabagismo, doenças sistêmicas, que são determinantes na ocorrência, progressão e severidade da periodontite. Estas observações tem conduzido a mudanças nos conceitos de prevenção e tratamento das doenças periodontais. Informações tem sido obtidas a respeito de como as bactérias provocam a formação de bolsas periodontais, transformação do epitélio juncional em epitélio da bolsa, destruição do tecido conjuntivo gengival, ligamento periodontal e reabsorção do osso alveolar. Além da ação direta, as bactérias também promovem destruição tecidual de maneira indireta, ativando componentes do sistema de defesa do hospedeiro. O mesmo sistema de defesa que promove proteção é responsável pela destruição. Atualmente, está evidente que a periodontite não é uma doença isolada, mas uma família de doenças intimamente relacionadas, que podem variar em sua etiologia, história natural e resposta à terapia (ROSA et al., 1999).

O início e a progressão da doença periodontal estão associados à presença de microrganismos específicos no sulco gengival e/ou sítio periodontal. Os subprodutos derivados desse metabolismo microbiano também contribuem para o desenvolvimento da doença periodontal (PENNEL & KEAGLE, 1977; LOESCHE et al., 1985), já que estimulam uma resposta do sistema imunológico do hospedeiro que, por sua vez, pode ser influenciada por fatores de risco e fatores genéticos e, dependendo da intensidade e duração do desafio bacteriano e da suscetibilidade do hospedeiro, pode levar à reabsorção de tecido de suporte periodontal. À medida que se estabelecem alterações inflamatórias no tecido gengival induzidas pelo biofilme, ocorrem alterações quantitativas e qualitativas da microbiota dental (LÖE et al., 1965). Os microrganismos, considerados periodontopatogênicos e associados tanto à gengivite quanto às periodontites são, na maioria das vezes, Gram-negativos, anaeróbios, dotados de motilidade e, menos freqüentemente microaerófilos (SOCRANSKY, 1970; SOCRANSKY, 1977; SLOTS et al., 1978; THEILADE, 1986). Com o desenvolvimento de técnicas imunológicas e de biologia molecular, foi possível a detecção mais precisa das espécies bacterianas que compõem os biofilmes orais e a relação dos diferentes perfis microbianos com as

diferentes formas de periodontite (Christersson et al., 1987; Socransky & Haffajje et al., 1994b; Ávila-Campos et al., 1999; Gomes et al., 2006).

## **1. Patogênese da Doença Periodontal**

A patogênese das doenças periodontais foi descrita racionalmente pela primeira vez por PAGE & SCHROEDER em 1976. Inúmeros estudos a respeito da patogênese tem sido realizados desde então (SCHENKEIN et al., 1995; PREBER et al., 1995; CIANCIOLA et al., 1982; MCMULLEN et al., 1981). Embora os detalhes sejam escassos, os princípios gerais e a maioria das conclusões são aceitas até hoje.

Atualmente, uma visão mais completa e complexa da patogênese das doenças periodontais está surgindo. Existe a possibilidade de abordar a patogênese não somente em nível celular, mas ampliar o espectro de avaliação em nível molecular e genético. Durante as décadas de 70 e 80, grandes progressos foram feitos no esclarecimento da natureza infecciosa das doenças periodontais. Na década de 90, começamos a compreender que embora a ação bacteriana seja essencial, ela isoladamente não é suficiente para a ocorrência da doença. Observamos a influência de fatores de risco tais como: hereditariedade, Síndrome de Down, tabagismo, doenças sistêmicas que são determinantes na ocorrência, progressão e severidade da periodontite. Na busca de tentar encontrar outros fatores de risco para a etiologia da doença periodontal estudos ainda estão sendo encaminhados à fim de provar a relação de doença com fatores como stress e osteoporose, que até o presente momento não apresentam relatos consistentes.

O acúmulo de placa microbiana na superfície dentária adjacente aos tecidos gengivais promove o contato das células do epitélio do sulco e epitélio juncional com produtos residuais, enzimas e componentes da superfície das bactérias em colonização.

Com o crescimento da massa bacteriana, tais substâncias causam uma irritação maior nos tecidos do hospedeiro. As células epiteliais, ativadas pelas substâncias microbianas, produzem citocinas pró-inflamatórias e outros mediadores químicos da inflamação. Estes mediadores iniciam uma resposta inflamatória no interior dos tecidos, que acompanha a resposta inflamatória clássica.

REUDAND-BOSMA & VAN DIJK (1986) em uma revisão da literatura relataram que estudos examinaram 80 crianças com Síndrome de Down institucionalizados na faixa etária 1-39 anos. A presença de doença periodontal foi observada em 90% dos casos. A gravidade da doença aumenta com a idade. Observou-se que a periodontite avançada estava presente em 59% dos casos. Surpreendentemente, 36% das crianças com idade inferior a idade de 6 anos teve formação de bolsa periodontal. Estes resultados estão em acordo com diversos estudos como (JULKA et al. 1962, KISLING & KREBS 1963, SZNAJDER et al. 1968, KEYES et al. 1971).

COHEN et al. (1961), SHAPIRO et al. (1969), CUTRESS (1971) e ORNER (1976) compararam resultados em crianças com Síndrome de Down em relação às pessoas que não possuem a Síndrome e chegou a conclusões semelhantes. O Este último, ORNER (1976), por exemplo, compararam crianças afetadas com Síndrome de Down em relação a seus irmãos que possuíam faixa etária semelhante. O prevalência de doença periodontal avaliada era 89% para as crianças com Síndrome de Down e 58% para o irmãos. O os estudos em crianças com Síndrome de Down em MCMILLAN & KASHGARIAN (1961) e SILITNBANI (1962) com exames menos precisos para os critérios da Síndrome de Down, as crianças que apresentavam a doença periodontal tiveram uma menores prevalências que ficou em cerca de 50-60%.

O consumo de cigarro é considerado atualmente um importante fator de risco para muitas doenças bucais e sistêmicas e possui um importante papel no início e progressão da periodontite. Vários trabalhos têm demonstrado uma alta prevalência e maior gravidade da doença periodontal em indivíduos fumantes. Entretanto ainda não

foram completamente esclarecido os mecanismos etiopatogênico do cigarro na evolução da doença periodontal inflamatório. A doença periodontal em pacientes fumantes pode apresenta-se com sinais clínicos pouco evidentes uma vez que características como eritema e sangramento tecidual muitas vezes não estão presentes devido aos efeitos da nicotina não somente na vascularização tecidual como também pela indução no aumento da estrutura do epitélio gengival (RIVERA, 1986). Essa contribuição da microcirculação dificulta a chegada das células inflamatórias no tecido e sulco gengival, comprometendo o sistema de defesa local. O consumo de tabaco pode promover um aumento do número de leucócitos na circulação sistêmica, podem reduzir o número dessas células no tecido periodontal. Vários trabalhos tem demonstrado que o fumo pode alterar a atividade dos neutrófilos polimorfonucleares, reduzindo assim a quimiotaxia, atividade fagocitária e aderência dessas células no tecido periodontal (LINDHE et al., 1999; MARTINELLI, 1999).

Os dados são fortes de que o tabagismo é um importante fator de risco importante para adultos com doença periodontal agressiva e crônica. A literatura biomédica geral indica que o fumo tem efeitos nos tecidos vasculares, no tecido conjuntivo e nas células do sistema imunológico. Estes efeitos influenciam tanto âmbito imunológico como também nas respostas inflamatórias. Fumar pode alterar a microbiota subgengival e aumentam a prevalência de certos patógenos. Produtos do fumo do cigarro estão presentes em fluido crevicular gengival. A manifestação clínica da doença é alterada em fumantes, incluindo o aumento da formação de cálculos e a recessão da gengiva palatina e diminuição da inflamação gengival (SCHENKEIN et al., 1995, PREBE et al., 1995).

A literatura biomédica apoia a conclusão de que a diabetes está associada a uma reduzida capacidade de reação as infecções e de curar as feridas provocadas pela diabetes. Estas alterações estão associados com fatores genéticos e metabólicos. A literatura da doença periodontal neste âmbito é limitada. Disfunção de algumas células parecem estar relacionadas com a severidade da doença periodontal. A literatura médica indica que a resolução de infecção melhora o controle da diabetes. Alguns dados mostram

que a terapia inicial da doença periodontal pode ter, pelo menos, um efeito benéfico sobre o controle metabólico da diabetes (CIANCIOLA et al., 1982).

Acredita-se que agentes moduladores que bloqueiam ou inibem as matrizes de metaloproteinases ou a síntese das prostaglandinas podem inibir a destruição dos tecidos na doença periodontal. Apesar efeitos benéficos têm sido demonstrados, recentes estudos tem mostrado que o funcionamento correto destes agentes moduladores podem provocar: aumento dos efeitos deletério e incapacidade de resolver a etiologia primária microbiana. Estudos em animais com vacinas periodontais apresentam potencial para protecção contra destruição periodontal. Estudos iniciais em humanos com a melhora da imunização de supressão de recolonização destes patógenos. Barreiras a aplicação clínica desta tecnologia incluem: selecção de antigénios apropriados; complexidade da microbiota; segurança humana; e conhecimento incompleto de adequada estratégias de imunização. Outros agentes de modulação do hospedeiro, tais como bisfosfonatos têm sido estudados em animais e em seres humanos tem-se mostrado uma grande promessa (MCMULLEN et al., 1981).

Segundo CASTRO et al (2000) se fizermos uma comparação entre irmãos que desenvolveram a diabétes e irmão que não são diabéticos, a prevalência de doença periodontal é extremamente superior entre aqueles com o distúrbio metabólico e, da mesma forma, a maior duração da diabetes também é associada com os indivíduos com doença periodontal severa (LAUDA & SILVEIRA & GUIMARÃES, 1998; ORSO & PAGNONCELLI, 2002).

Outro fator que devemos abordar é o fado de a doença periodontal ser um fato de risco para pacientes que se submeteram a colocação de implantes ósseo integrado, pois existem fortes indícios que pacientes que possuem periodontite pode também desencadear um quando de periimplantite. Já que a reabilitação com implantes

osseointegrados é uma modalidade de tratamento tendo um aspecto integrante do plano de tratamento de pacientes com perda de dentes ou mau prognóstico da manutenção dos mesmos em função (IACONO, 2000; GREENSTEIN et al., 2010). Sabe-se que a presença de placa bacteriana é considerada como o autêntico factor de risco local para a ocorrência de peri-implantite e que o biofilme é como na doença periodontal o responsável para a progressão da doença. A doença periodontal e peri-implantite distinguem-se das demais infecções do corpo humano por serem causadas não especificamente por uma bactéria, mas por um biofilme consistente e multibacteriano (FERNANDES et al., 2010). A colonização microbiana em implantes segue o mesmo padrão que sucede nos dentes (KAROUSSIS et al., 2003). Evidências microbiológicas mostram que flora bacteriana responsável pelo desenvolvimento da doença periodontal e periimplantite é homóloga (FERNANDES et al., 2010; ROMEIRO et al., 2010). Foi revelado que a microbiota da cavidade oral anterior à colocação de implantes determina a composição da microflora peri-implantar (KAROUSSIS et al., 2007).

Devemos também levar em consideração que com o avanço da tecnologia e a descoberta de novas substâncias a fim de preparar a superfície do implante com o intuito de acelerar o processo de osteointegração e melhorar a relação de contacto osso-implante e conseqüentemente uma melhor osteointegração (IACONO, 2000; IVANOVSKI, 2010; RENVERT et al., 2011). Por outro lado, na cavidade oral, a rugosidade da superfície tem um impacto dominante sobre a formação do biofilme. Todas as superfícies intra-orais (dentes, próteses, materiais de restauração e superfícies implantares) atraem bactérias (supra e subgingivalmente) na mesma proporção que aumenta a rugosidade. É razoável considerar a superfície implantar como um factor adjuvante na análise da longevidade do implante (QUIRYNEN et al., 2007; ROMEIRO et al., 2010; ZETTERQVIST et al., 2010). Os microorganismos periodontopatogénicos presentes na cavidade oral podem ser idênticos aos patógenos peri-implantares (KAROUSSIS et al., 2007), no entanto, ainda não é possível discernir quais os os microorganismos iniciadores e os promotores das periimplantite (KOCAR et al., 2010). Mas mais preponderante que esta constatação, é a necessidade de iniciar a terapia periodontal em pacientes com periodontite activa antes

da colocação de implantes para diminuir o seu potencial patogénico e inibi-los de colonizar os implantes ósseointegrados (RENVERT et al., 2009; GREENSTEIN et al., 2010; HEITZ-MAYFIELD et al., 2010; GARCÉS et al., 2011).

Um fator relevante que devemos levar em consideração e que não é muito relatado na literatura que é a doença periodontal em pacientes com SIDA (AIDS). Complicações e sintomas periodontais relacionada com infecção em humanos vírus da imunodeficiência (HIV) também foi observado e descrito durante o período de um ano (Kenrad et al., 1987, Reichart et ai. 1987). Gengivite necrosante foi observada em até 9% dos pacientes, e periodontite agressiva progressiva foi outro achado freqüente em indivíduos HIV-positivos (Reichart et ai., 1987, Winkler & Murray, 1987). Diferentes hipóteses foram propostas no que diz respeito ao etiologia da gengivite e periodontite em pacientes HIV-positivos. Assim, uma mudança na microflora e uma mudanças nos mecanismos de defesa do hospedeiro, bem como um efeito directo de HIV foi relatada em (Gornitsky & Pekovic 1987, Winkler e Murray, 1987). Em LUCHT (1991) foi relatado a ocorrência de gengivite e periodontite progressiva em pacientes com diferentes fases de infecção por HIV em relação à dentária placa, e foram achados microrganismos em coletas sanguíneas que foram realizadas nesses pacientes. As células encontradas que podem ter relação com essa resposta são: T4 + e as células T8 + helper / supressores.

## **2. Análise Microscópica**

Os dados são baseados na análise de exames microscópicos e preparações bacterianas convencional (esfregaço). A técnica de análise foi desenvolvida originalmente por GIN & MATTIG (1941) e depois ligeiramente modificado por JENSEN (1958). Um pedaço de filme plástico transparente fino de 0,02/0,05 mm. de espessura é suavemente pressionado contra a área da gengiva marginal a ser examinada. Placa bacteriana, células descamadas epiteliais e uma certa quantidade do contendo de

exsudato de leucócitos vai aderir ao filme quando removido. Este material é pigmentado com violeta genciana por vinte segundos e o filme cuidadosamente lavado em água

corrente e seco com ar. O filme é então incorporado em óleo de rícino, uma lamina é aplicada e a preparação selada com parafina. É colocado sob o microscópio para ser encontrada a curvatura da margem gengival e para localizar os acumulos de bactérias específica encontradas na gengiva.

Mais especificamente ANDRIENS et al, 1988 descreve um estudo de microscopia eletrônica de varredura demonstrando a invasão bacteriana na estrutura do cemento e da dentina radicular em pacientes com doença periodontal e livres de cárie. Os dados encontrados por eles estão de acordo com os resultados obtidos em outros estudos em que as bactérias foram cultivadas a partir da polpa dentária e dentina radicular destes dentes. A terminologia "invasão" é adequada uma vez que as bactérias estão se movendo para dentro dos tecidos e destruindo do tecido de suporte do dente, neste caso, dentruindo as fibras de Sharpey, cemento radicular e células odontoblásticas. Foram encontradas cerca de 13 bactérias a metade do cemento radicular em dentes com doença periodontal.

Usando o método de coloração de bactérias gram, foram encontraram bactérias individuais ou pequenos grupos de bactérias gram-positivas e gram-negativas a uma profundidade de 12 $\mu$  abaixo do cemento coberta de placa. Outras bactérias foram encontradas em todo o cemento, incluindo as camadas mais profundas. Em um período experimental de sete dias, observou-se a penetração bacteriana no cemento inserido das bolsas gengivais de pacientes adulto com periodontite crônica.

FRANK & VOEGEL 1978, relatou uma flora gram-negativas associadas com extensa reabsorção óssea em seis dos 12 pacientes adultos com periodontite, e Manor et al., 1984 demonstraram a penetração bacteriana nos tecidos periodontais de quatro das sete espécies analisadas de quatro pacientes adulto com periodontite avançada.

CHRISTERSSON et al., 1987 realizou um estudo isolando o *A. actinomycetemcomitans* em 12 indivíduos entre jovens e adultos e após a microscopia eletrônica de varredura pode observar que mesmo com a utilização de agentes microbianos não melhorou na resposta do hospedeiro em relação a sua agressividade, e ainda pode se observar que os níveis destes patógenos se encontravam em mais numero nos sítios estudados nos pacientes jovem e em menos quantidade nos pacientes adultos. Desta forma relacionou tais patógenos com mais prevalência na periodontite agressiva.

O desenvolvimento, na década de 90, de técnicas imunológicas e de biologia molecular para a detecção dos microrganismos que compõem os biofilmes orais foi importante para uma descrição mais precisa das espécies bacterianas subgingivais relacionadas com diferentes formas de periodontite (CHRISTERSSON et al., 1987; ÁVILA-CAMPOS et al., 1999; SOCRANSKY et al., 1994; GOMES et al., 2006). A grande vantagem dessas técnicas é a possibilidade de detecção de microrganismos fastidiosos como a *Tannerella forsythia* e as espiroquetas, espécies difíceis de serem detectadas pelos métodos tradicionais de diagnóstico, como a cultura bacteriana.

WYSS et al. (1996, 1997, 1999, 2001, 2004) isolaram cinco espécies de treponemas de lesões periodontais e sugeriram a nova nomenclatura: *Treponema amylovorum* sp. nov., *Treponema parvum* sp. nov., *Treponema lecithinolyticum* sp. nov., *Treponema putidum* sp. nov., *Treponema matophilum* sp. nov. Também tem sido sugerido que a espécie *Exiguobacterium aurantiacum* pode representar um papel potencial na doença periodontal (ZIJNGE et al., 2003). Em 2008, LAGIER & THREADGILL, mais uma vez, destacaram a possível importante participação do *C. rectus* em alguns casos de doença periodontal. Posteriormente, VARTOUKIAN et al. (2009) demonstraram a diversidade e morfologia de membros do filo *Synergistetes* na saúde e doença periodontal. A partir dos resultados obtidos, os autores sugeriram a associação da *Synergistetes* OTU 4.2 com a periodontite e, conseqüentemente, com a patogenia da doença.

Também foram encontradas macromoléculas procariontes sintetizadas do tipo fibras periodontais, hidrolítica e enzimas proteolíticas, a partir de produtos metabólicos finais (contendo compostos de enxofre, amônia, ácidos graxos de cadeia curta entre outros) que desempenham um papel importante na destruição de tecidos de suporte dos dentes (SOCRANSKY & HAFFAJEE, 1992). Estas moléculas, por um lado, são extremamente tóxicas mesmo em concentração moderada e pode causar danos diretamente nos tecidos. Por outro lado, através da estimulação da cascata inflamatória do hospedeiro que envolve quimiocinas, citocinas e matriz de metaloproteínases, que poderiam promover a destruição do tecido conjuntivo indirectamente (GRAVES et al., 2000).

Desde 1996 a literatura (AAP, 1996) confirmou o papel do *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia* e *P. gingivalis* sendo os verdadeiros patógenos periodontais. A partir daí, novas investigações sugeriram uma extensa lista com outros microrganismos. Entretanto, muitas das pesquisas que indicaram novos patógenos são estudos de associação que examinaram um número limitado de indivíduos, amostras e/ou espécies. Nestas pesquisas verificou-se que existiam muitos indivíduos com doença apresentam baixos níveis e proporções dos patógenos considerados verdadeiros (*A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia* e *P. gingivalis*) sendo que nestes casos outras espécies poderão estar associadas com a doença.

### **3. Checkerboard DNA-DNA Hybridization**

SOCRANSKY et al. (1994) descreveram a técnica de diagnóstico microbiológico do *Checkerboard DNA-DNA Hybridization* que utiliza sondas de DNA para o diagnóstico microbiológico, e analisaram as associações entre 40 espécies bacterianas presentes na microbiota subgingival de indivíduos com periodontite crônica (SOCRANSKY et al.,1998).

O isolamento do DNA nas sondas preparadas foi realizado segundo relatos (SMITH *et al.*, 1989). Os autores observaram a presença de cinco complexos bacterianos principais neste ambiente subgingival, de acordo com a relação entre as diferentes espécies. Um dos complexos, composto pelas espécies *T. forsythia*, *Porphyromonas gingivalis* e *Treponema denticola*, chamado de complexo vermelho, foi fortemente relacionado com profundidade de sondagem e sangramento à sondagem. Outro complexo, o laranja, que parece preceder a colonização do complexo vermelho foi dividido em dois grupos, um central, composto por *Fusobacterium nucleatum* (*Fusobacterium nucleatum ss. nucleatum*, *Fusobacterium nucleatum ss. polymorphum*, *Fusobacterium nucleatum ss. vincentii*), *Fusobacterium periodonticum*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens* e *Parvimonas micra*; e outro grupo periférico, formado por *Eubacterium nodatum*, *Campylobacter rectus*, *Campylobacter showae*, *Campylobacter gracilis* e *Streptococcus constellatus*.

Os outros três complexos, o amarelo, o verde e o roxo, demonstraram grande associação entre si e menor associação com os dois primeiros, e são compostos por diversas espécies consideradas compatíveis com o hospedeiro. O complexo verde é formado por *Capnocytophaga sputigena*, *Capnocytophaga gingivalis*, *Capnocytophaga ochracea*, *Eikenella corrodens* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* sorotipo a; o complexo amarelo é composto por um grupo de estreptococos: *Streptococcus mitis*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus gordonii* e *Streptococcus intermedius*; e o complexo roxo inclui *Actinomyces odontolyticus* e *Veillonella parvula*. As espécies de *Selenomonas noxia* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* sorotipo b não se correlacionaram com outras espécies. Posteriormente, algumas espécies de actinomicetos (*Actinomyces gerencseriae*, *Actinomyces israelii*, *Actinomyces naeslundii* genoespécies I e II) foram agrupadas no complexo azul (SOCRANSKY & HAFFAJEE, 2002).

As bactérias gram-negativas, *Capnophilic cocobacilo*, *A. actinomycetemcomitans*, tem sido considerada, há mais de 30 anos, como fator etiológico mais provável na periodontite agressiva. Dos três sorotipos (a, b e c) de A.

*actinomycetemcomitans* conhecido na década de 1980, o sorotipo b foi mais fortemente associadas com a doença. Subseqüentes estudos, utilizando metodologias baseadas em DNA, relataram resultados um tanto contraditórios sobre a papel específico da *A. actinomycetemcomitans* na patogênese da periodontite em adolescentes. Actualmente, esta espécie bacteriana é principalmente vista como um patógeno oportunista residente na microbiota bucal, dados disponíveis sugerem um papel importante no desenvolvimento de periodontite agressiva em determinadas populações. No entanto, o valor geral de métodos de diagnóstico em testes microbiológicos para certas formas de periodontite tem sido questionada em corte transversal em estudos recente (KÖNÖNEN & MÜLLER 2014).

Outras espécies bacterianas também encontradas em grandes quantidades e proporções foram *F. nucleatum ss. nucleatum*, *F. nucleatum ss. polymorphum*, *F. nucleatum ss. vincentii*, *F. periodonticum*, *P. micra*, *P. intermedia*, *P. nigrescens*. Essas espécies podem ser consideradas como possíveis patógenos periodontais e têm sido previamente associadas com a etiologia da doença periodontal (HAFFAJEE et al., 2004; VAN WINKELHOFF et al., 2005). *P. micra* foi encontrada em altas proporções em suecos (HAFFAJEE et al., 2004) e a *P. nigrescens*, em chilenos (LOPEZ et al., 2004), com periodontite crônica. Também é importante enfatizar que, de maneira geral, as contagens e proporções das espécies consideradas benéficas (complexos azul, roxo, amarelo e verde) encontraram-se reduzidas em comparação aos patógenos (complexos laranja e vermelho). Esse perfil de colonização foi descrito também para outras populações (COLOMBO et al., 2002; HAFFAJEE et al., 2006; LOPEZ et al., 2004; SOCRANSKY et al., 1998; XIMENEZ-FYVIE et al., 2000).

HAFFAJEE et al. (2006) apresentaram a resposta a diferentes terapias do mesmo grupo de indivíduo que tiveram o perfil microbiológico analisado anteriormente por TELES et al. (2006). Como esperado, as respostas terapêuticas foram diferentes e dependentes da composição da microbiota subgengival. Por exemplo, o grupo de indivíduos que mostraram as maiores perdas de inserção pós-terapia possuía a microbiota dominada por *A. naeslundii* I e II. Os indivíduos com altos níveis de *E. nodatum* também

apresentaram respostas clínicas insatisfatórias. Por outro lado, esses dois grupos demonstraram baixos níveis de complexo vermelho.

Em relação ao perfil de similaridade dos indivíduos é possível sugerir que existem variações quantitativas e qualitativas no perfil de colonização bacteriana do ambiente subgingival entre diferentes indivíduos. Esta variação foi descrita por TELES et al. (2006) utilizando a técnica *Checkerboard DNA-DNA Hybridization* e por outros autores que usaram cultura ou métodos moleculares (KAMMA et al., 1995; MOORE et al., 2000). O único artigo publicado em periódico que usou uma metodologia semelhante à aplicada nesta investigação foi o estudo de TELES et al. (2006). Dados microbiológicos de 461 indivíduos com doença periodontal obtidos pela técnica do *Checkerboard DNA-DNA Hybridization* foram analisados por meio de um dendograma, resultando na formação de dez *clusters* a partir da aplicação do percentual de similaridade de 43%. Os autores sugeriram que os indivíduos podem possuir perfis de colonização microbiana diferenciados, indicando que diversos patógenos podem ser responsáveis pela etiologia da doença periodontal. Também é importante ressaltar a comparação dos resultados obtidos nos dois estudos (TELES et al., 2006 MOORE et al., 2000). Considerando um percentual de similaridade de 45%, nove *clusters* foram formados após a análise dos dados desta investigação. Além disso, ambos os estudos encontraram alguns *clusters* com baixos níveis e proporções do complexo vermelho, o que não é compatível com a doença periodontal.

É relevante a discussão do perfil clínico e microbiológico dos indivíduos selecionados. Os resultados desta investigação demonstraram que as médias de PS e NCI dos indivíduos participantes dos estudos mencionados são compatíveis com a condição clínica de doença periodontal moderada-severa (FAVERI et al., 2006; MATARAZZO et al., 2008). Além disso, em relação aos achados microbiológicos, *T. forsythia*, *P. gingivalis* e *T. denticola* estavam em níveis e proporções elevados. Dados similares foram reportados por LOPEZ et al. (2004) e COLOMBO et al. (2002), que também utilizaram a técnica *Checkerboard DNA-DNA Hybridization* para avaliar 40 espécies subgingivais em 26 chilenos e 25 brasileiros com periodontite crônica, respectivamente. O fato

interessante é que essa população, de brasileiros (COLOMBO et al., 2002) e de chilenos (LOPEZ et al., 2004), apresentaram proporções e níveis mais elevados destes patógenos em comparação com indivíduos norte-americanos (HAFFAJEE et al., 2004), mexicanos (XIMENEZ-FYVIE et al., 2006 a, b) e suecos (HAFFAJEE et al., 2004). Essas divergências podem ser devidas a diferenças na microbiota específica de cada uma das populações destas regiões geográficas, ou podem estar relacionadas ao nível de infecção dos indivíduos incluídos nos vários estudos.

Alguns estudos em microbiologia oral, realizados nas últimas décadas, têm proporcionado evidências adicionais do papel de outros patógenos da etiologia da doença periodontal e, assim, novos candidatos estão sendo sugeridos. Neste contexto, o foco dos pesquisadores está voltado para outros microrganismos diferentes daqueles usualmente considerados periodontopatógenos (*A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia*, *P. gingivalis*). Na maioria dos casos, estudos de associação confirmaram a relação entre espécies já consideradas possíveis patógenos e a etiologia das doenças periodontais, incluindo *P. intermedia*, *Prevotella melaninogenica*, *F. nucleatum*, *P. micra*, *E. corrodens*, *P. nigrescens*, *C. gingivalis*, *T. denticola*, *Treponema socranskii*, *V. parvula* e *C. rectus* (CHOI et al., 2000; PAPAPANOU et al., 2000; SANZ et al., 2000; XIMENEZ-FYVIE et al., 2000; VAN WINKELHOFF et al., 2002; DAROUT et al., 2003; HAFFAJEE et al., 2004; LOPEZ et al., 2004; GAJARDO et al., 2005; VAN WINKELHOFF et al., 2005). Outras espécies também têm sido associadas com a doença periodontal, porém com menor frequência: *Eubacterium saphenum* e *Mogibacterium timidum* (MAYANAGI et al., 2004), *Prevotella corporis*, *Prevotella disiens* e *Peptostreptococcus magnus* (SALARI et al., 2004), *E. nodatum* e *Slackia exigua* (Booth et al., 2004), e *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* e *Bartonella sp* (COLOMBO et al., 2002).

DEWHIRST et al. (2000) encontraram uma forte associação de uma população de *Treponema* em sítios periodontais, envolvendo espécies cultiváveis e não-cultiváveis: *T. denticola*, *Treponema maltophilum* e *Treponema sp. Smibert3*.

A compreensão mais detalhada sobre a composição do biofilme supra e subgingivais associados ao periodonto saudável ou doente permitiu que se traçassem metas microbiológicas para as terapias periodontais. Esse foi um dos passos mais importantes no sentido de aperfeiçoar e, conseqüentemente, personalizar as diversas formas de tratamento em periodontia. Apesar de todo o conhecimento científico dos dias atuais ainda não é sabido o motivo que leva alguns pacientes sistemicamente saudáveis a responderem de maneira tão limitada às diversas formas de terapia periodontal (HAFFAJEE et al., 1997; ROSLING et al., 2001).

#### **4. Reação em Cadeia da Polimerase (PCR)**

KUMAR et al. (2003), por meio da técnica PCR (Reação em Cadeia da Polimerase), observaram associações com periodontite crônica para algumas novas espécies ou filotipos, incluindo clones não-cultiváveis: *Deferribacteres* e *Bacteroides*, bem como as espécies denominadas *E. saphenum*, *Porphyromonas endodontalis*, *Prevotella denticola* e *Cryptobacterium curtum*.

Certos microrganismos presentes nos biofilmes orais têm sido relacionados com o início e a progressão da periodontite (SOCRANSKY & HAFFAJEE, 2005). Porém, a simples presença dessas bactérias na cavidade bucal não determina que o indivíduo desenvolva a doença. O equilíbrio entre o hospedeiro e a microbiota bucal é uma situação benigna e não oferece riscos para as estruturas de suporte dos dentes. Ocasionalmente, um grupo de bactérias pode proliferar ou exibir novas propriedades que levem a destruição do periodonto. Pode-se assim considerar que a doença periodontal se desenvolve a partir de um desequilíbrio na interação entre o hospedeiro e os microrganismos (SOCRANSKY & HAFFAJEE, 2005). O percentual de sítios colonizados por esses patógenos e a capacidade do organismo em combater os

microrganismos agressores são condições fundamentais para o aparecimento de sinais clínicos da doença periodontal.

Os principais objetivos da terapia periodontal são redução da profundidade de sondagem, do sangramento à sondagem e da supuração e aumento do nível de inserção. Os estudos científicos demonstram que esses resultados clínicos são atingidos quando os níveis, proporções e percentual de sítios colonizados por diferentes periodontopatógenos são efetivamente reduzidos. Adicionalmente, deve-se estabelecer uma nova comunidade microbiana no biofilme subgengival com níveis e proporções mais elevadas de microrganismos compatíveis com saúde periodontal (SOCRANSKY & HAFFAJEE, 1994; TELES et al., 2006). Aparentemente, esse perfil microbiano compatível com saúde é mais facilmente instalado na cavidade oral quando a terapia empregada permite uma rápida e drástica redução dos patógenos, não somente nos sítios profundos, mas em toda a cavidade oral, incluindo sítios rasos e mucosas.

Neste contexto, a partir da terapia comumente empregada - raspagem e alisamento radicular (RAR) - alguns patógenos subgengivais não são removidos por estarem localizados em regiões fora do alcance da RAR, como algumas lesões de furca e dentina radicular (ADRIAENS & ADRIANES, 2004). Dessa forma, a busca de uma terapia periodontal mais eficaz é contínua, já que alguns pacientes ou sítios continuam a apresentar progressão de doença, mesmo após o tratamento convencional de RAR (HAFFAJEE et al., 1997; ROSLING et al., 2001, XIMÉNEZ-FYVIE et al., 2000a; PETERSILKA et al., 2002).

SILVA-BOGHOSSIAN et al. 2011 e COLOMBO et al. 2015 relataram a possível relação de outras espécies bacterianas não orais como *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Acinetobacter baumannii* e *Pseudomonas aeruginosa* presentes em diferentes camadas do biofilme bucal. É evidente que a frequência de detecção da maioria destes microorganismos na cavidade oral varia amplamente entre estudos, principalmente devido a diferenças metodológicas, tais como o tipo de amostra oral,

avaliada (saliva ou biofilme dental), o método de identificação microbiana (cultura contra métodos independentes de cultivo), a análise de dados, a população em estudo, e as condições clínicas orais / gerais dos sujeitos. Além disso, a capacidade de *E. faecalis* para formar o biofilme, aderir e invadir tecidos moles permite-lhe sobreviver em diversos ambientes hostis tais como a bolsa periodontal.

Contudo, os mecanismos destas interações permanecem desconhecidos. Portanto, os resultados observados no estudo devem ser interpretados com cautela, uma vez que foi realizado numa amostra da população específica por métodos de amostragem e de identificação específicos. A estudos in vitro mostraram que a presença de agentes patogénicos periodontais aumenta invasão de *P. aeruginosa*, ao passo que as espécies de *S. aureus* foram capazes de interagir com *Streptococcus spp.*, *Actinomyces naeslundii*, *Actinomyces viscosus* e quando foram tratados com *Porphyromonas gingivalis* (COLOMBO et al., 2015).

No entanto, estudos têm mostrado que, em vez de um único agente patogénico, a periodontite pode ser uma doença microbiana infecciosa causada por micróbios potencialmente povoadas por comunidades patogénicas, em que microorganismos interagem de forma sinérgica ou cooperativa, levando a patogênese (DARVEAU, 2010; HAJISHENGALLIS & LAMONT, 2012; GRIFFEN et al., 2012). Os recentes avanços em pesquisa no campo da doença periodontal são consistentes com um novo modelo de patogênese de acordo com o que a periodontite é iniciada por um microbiana sinérgica e não por escolha da periodonto-patogenicidade do "complexo vermelho". Nesta polimicrobiota sinérgica, diferentes membros ou combinações de genes específicos dentro da comunidade cumprem distintos papéis que convergem para formar e estabilizar uma microbiota compatível com a doença periodontal (HAJISHENGALLIS & LAMONT, 2012).

*Porphyromonas gingivalis*, uma entre mais de 600 espécies bacterianas encontradas na cavidade oral, está entre os mais influentes como agente patogénicos

periodontais; *P. gingivalis* é mais provável de ser encontrado em pacientes com periodontite e menos susceptíveis de estar presentes nos indivíduos saudáveis. Além disso, *P. gingivalis* mostra uma forte relação positiva com dois parâmetros importantes no diagnóstico de periodontite: aumento da profundidade da bolsa e sangramento à sondagem. Esta bactéria é reconhecida como um colonizador tardio no desenvolvimento do biofilme oral, onde contribui para a multiplicidade de fatores de virulência produzidos por *P. gingivalis*. Além disso, *P. gingivalis* produz muitas proteínas, enzimas e produtos metabólicos finais que são importantes para a sua sobrevivência e o crescimento no hospedeiro.

Tradicionalmente, os estudos sobre a patogênese da microbiota periodontal envolvem uma abordagem reducionista para estudar complexos de comunidades microbianas subgingivais através da análise de espécies individuais de bactérias. Como resultado, um pequeno grupo de organismos Gram-negativos predominantemente bactérias anaeróbias e espiroquetas, nomeadas *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis* e *Treponema denticola*, ter sido considerado como os principais agentes patogênicos da periodontite (HOLT & EBERSOLE, 2005; ERTUGRUL et al, 2013; FISCHER et al., 2013).

Em estudo realizado por DIAS (2002) relatou que dados epidemiológicos, experimentais e clínicos sugerem que infecções, incluindo as associadas às doenças periodontais, podem constituir um fator de risco para aterosclerose e para doenças cardiovasculares. Este estudo avaliou em pacientes com doença aterosclerótica coronariana obstrutiva, por meio de métodos moleculares, a presença de patógenos periodontais tanto nos “cateteres-balões” utilizados nas angioplastias quanto nas amostras de placa bacteriana intra-oral, e por técnicas laboratoriais, os níveis plasmáticos da interleucina-6 (IL-6) e da proteína C-reativa (CRP), e suas possíveis correlações com doenças periodontais. Foram examinados 61 pacientes com doença periodontal em idade entre 31 a 82 anos. Durante a angioplastia foram coletadas amostras de sangue intracoronariano e periférico para análise da IL-6 e CRP. Entre os balões examinados, 37,7% foram positivos para pelo menos 1 patógeno periodontal. O *Porphyromonas*

*gingivalis* foi mais frequentemente detectado (29%), seguido pelo *Campylobacter rectus* (25%), *Prevotella intermedia* (22%), *Bacteroides forsythus* (20%) e o *A. actinomycetemcomitans* (8%). Nas amostras de placa intra-orais, 95% foram positivos para pelo menos 1 dos patógenos periodontais. Após associar a presença desses patógenos em ambas as amostras dos mesmos pacientes, encontrou-se associação estatisticamente significativa. Também se detectou associação positiva entre a IL-6 e a CRP periférica com a IL-6 e a CRP intra-coronariana, respectivamente.

Mais recentemente, outros estudos (THURNHEER & BELIBASAKIS, 2015) demonstraram que os agentes patogênicos oportunistas *E. faecalis*, *E. coli* e *S. aureus* foram incorporados com sucesso no biofilme supragengival maduro. Além disso, *E. faecalis* causou uma diminuição significativa nos níveis de *Actinomyces oris* e *S. mutans*, enquanto que *E. coli* mostrou um crescimento e um domínio exacerbado sobre espécies orais no biofilme. Assim as evidências parecem indicar que os microrganismos orais e espécies patogênicas de importância médica interagem dentro da microbiota periodontal de muitas maneiras distintas que podem levar a uma condição de saúde periodontal ou doença. Se esses patógenos oportunistas desempenharem um papel em doenças periodontais ou são simplesmente quadjuvantes, a sua capacidade de colonizar via microbiota oral fornece um forte potencial de disseminação para locais do corpo distantes e de risco para o desenvolvimento de infecções sistêmicas, principalmente em pessoas imunodeficientes. Resalta também que a biofilme tem uma enorme diversidade de comunidades bacterianas que podem ultrapassar o valor de 700 comunidades e pode ser responsável por mais de 10.000 filotipos.

Apesar dessa enorme diversidade, a microbiota oral, apresenta um tropismo forte. Em outros termos, os microrganismos que colonizam a cavidade oral (também caracterizado como "microbiota bucal residente") co-evoluíram com o hospedeiros, e são altamente especializados e adaptados para sobreviver em um nicho ecológico específico, devido à esta adaptação ecológica, pode ser difícil para as bactérias que não são colonizadores típicos da cavidade oral para sobreviver e constituem parte da microbiota oral. No entanto, existe poucas evidências experimentais que demonstram se as espécies

que não fazem parte da microflora oral normal podem ser incorporadas com sucesso num biofilme oral, sob dadas condições experimentais que favorecem a formação de biofilmes orais. A hipótese de estudos experimental in vitro é de que os microrganismos que não são normalmente encontrados fazendo parte da microbiota oral normal podem não ser capazes de colonizar e crescer dentro de um biofilme oral (THURNHEER & BELIBASAKIS 2015).

### 3 CONCLUSÃO

É importante salientar que os estudos de associação de espécies microbianas com a doença periodontal representam apenas o primeiro passo no desenvolvimento de uma seqüência de evidências necessárias para definir os patógenos periodontais. Os resultados destes estudos sugerem à importância de investigações adicionais com foco na virulência dos microrganismos, resposta do hospedeiro, fatores de risco, efeito da supressão/eliminação das espécies na progressão da doença. Além disso, estudos longitudinais sobre terapia periodontal, poderão fornecer informações valiosas em relação à resposta do hospedeiro frente às diversas combinações terapêuticas considerando à especificidade de seu perfil microbiológico.

Existem diferenças entre etiologia da microbiota subgengival de indivíduos com diagnóstico clínico de doença periodontal crônica, aguda e em pacientes saudáveis.

Estudos devem continuar a serem realizados a fim de encontrar uma microbiota definida para doença periodontal e assim poder contribuir para o avanço no tratamento da doença.

Devido aos resultados encontrados em recentes estudos novos agentes microbianos não oriundos da cavidade oral terem sido encontrados como parte integrante do biofilme oral, sugerimos que estudos mais aprofundados sobre tal fato possam ser realizados no âmbito de determinar tal importância destes patógenos na doença periodontal. Mesmo levando em conta da dificuldade que esses microorganismos tem que se agregarem no biofilme oral normal.

Sendo a microbiota subgengival colonizada por uma variedade significativa de agentes micobianos com características tão distintas não se pode determinar uma conduta

terapêutica mais eficaz para o melhor controle do biofilme em pacientes que apresentam doença periodontal seja ela na forma crônica ou agressiva.

Novas tecnologias baseadas em sequenciamento de DNA e bioinformática avançada podem revelar a complexidade de uma microbiota subgingival.

## 5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Adriaens P, Edwards C, De Boever J, Loesche WJ (1988). Ultrastructural observations on bacterial invasion in cementum and radicular dentine of periodontally diseased human teeth. *J Periodontol*; 59:493-503.

Adriaens PA, Adriaens LM (2004). Effects of nonsurgical periodontal therapy on hard and soft tissues. *Periodontol 2000*; 36:121-145.

Albandar JM, Olsen I, Gjermo P (1990). Associations between six DNA probe-detected periodontal bacterial and alveolar bone loss and other clinical signs periodontitis. *Acta Odontol Scand*; 48:415-423.

American Academy of Periodontology, The. 1999 International Workshop for a Classification of Periodontal Disease and Conditions. *Ann of Periodontol*; 4(1):38.

Araujo MBW, Hovey KM, Benedek JR, Grossi SG, Dorn J, Wactawski-Wende J, Genco RJ, Trevisan M (2003). Reproducibility of probing depth measurements using a constant-force electronic probe: Analysis of inter-and intraexaminer variability. *J Periodontol*. Dec; 74(12):1736-1740.

Armitage GC (1999). Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann of Periodontol*. Dec;4(1):1-6.

Ávila-Campos MJ, Sacchi CT, Whitney AM, Steigerwalt AG, Mayer LW (1999). Specific primer for AP-PCR identification of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Clin Periodontol*. Nov; 26(11):699-704.

Baelun V, Fejerskov O, Manji F (1998). Periodontal diseases in adult Kenyans. *J Clin Periodontol*; 15:445-452.

Birkedal-Hansen H. (1993). Role of cytokines and inflammatory mediators in tissue destruction. *J Periodont Res.* 28: 500-510.

Booth V, Downes J, Van den Berg J, Wade WG (2004). Gram-positive anaerobic bacilli in human periodontal disease. *J Periodontal Res*; 39:213-220.

Cianciola LJ, Park BH, Bruck E, Mosovlch L, Genco RJ. (1982) Prevalence of periodontal disease in Insulin-dependent diabetes mellitus (juvenile diabetes). *J Am Dent Assoc.* 104:653-660.

Christersson L, Wikesjö U, Albini B, Zambon J, Genco R (1987). Tissue localization of *Actinobacillus actinomycetencomitans* in human periodontitis. *J Periodontol*; 58:540-545.

Christersson LA, Christer LF, Dunford RG, Zambon JJ (2004). Subgingival distribution of periodontal pathogenic microorganisms in adult periodontitis. *J Periodontol.* 1992; 63:418-25. *Clinical results. J Clin Periodontol*; doc 10.1111/j. 1600-05IX.2004.00605x.

Choi BK, Park SH, Yoo YJ et al (2000). Detection of major putative periodontopathogens in Korean advanced adult periodontitis patients using a nucleic acid-based approach. *J Periodontol*; 71:1387-1394.

Colombo A, Teles RP, Torres MC et al (2002). Subgingival microbiota of Brazilian subjects with untreated chronic periodontitis. *J Periodontol*; 73:360-369.

Colombo A, Magalhães C, Hartenbach F, Souto R, Silva-Boghossian C (2015). Periodontal-disease-associated biofilm: A reservoir for pathogens of medical importance *Microbial Pathogenesis*; doc 10.1016/j.micpath.2015.09.009

Consensus report (1996). Periodontal diseases: pathogenesis and microbial factors. *Ann Periodontol*; 1:926-932.

Danser MM, Timmerman MF, Van Winkelhoff AJ, Van der Velden U (1996). The effect of periodontal treatment on periodontal bacteria on the oral mucous membranes. *J Periodontol*. May;67(5):478-85.

Darout IA, Skaug N, Albandar JM (2003). Subgingival microbiota levels and their associations with periodontal status at the sampled sites in an adult Sudanese population using miswak or toothbrush regularly. *Acta Odontol Scand*; 61: 115-122.

Darveau RP. (2010). Periodontitis: a polymicrobial disruption of host homeostasis. *Nat Rev Micro* 8: 481–490.

Dewhirst FE, Tamer MA, Ericson RE et al (2000). The diversity of periodontal spirochetes by 16S rRNA analysis. *Oral Microbiol Immunol*; 15:196-202.

Dias, LZS (2002) Doença periodontal como fator de risco para a doença cardiovascular Rio de Janeiro; s.n; 163p. ilus, lab, graf. (BR).

Dzink JL, Socransky SS, Haffajee AD (1998). The predominant cultivable microbiota of active and inactive lesions of destructive periodontal diseases. *J Clin Periodontol*; 15:316-323.

Ertugrul AS, Arslan U, Dursun R, Hakki SS (2013). Periodontopathogen profile of healthy and oral lichen planus patients with gingivitis or periodontitis. *Int J Oral Sci* 5: 92–97.

Faveri M, Gursky LC, Feres M, Shibli JA, Salvador SL, de Figueiredo LC (2006). Scaling and root planing and chlorhexidine mouthrinses in the treatment of chronic periodontitis: a randomized, placebo-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol*; 33:819-828.

Fernandes CB, Aquino DR, Franco GSN, Cortelli SC, Costa FO, Cortelli JR (2010). Do elderly edentulous patients with a history of periodontitis harbor periodontal pathogens? *Clin Oral Impl. Res* ;21:618-623.

Fischer CL, Walters KS, Drake DR, Dawson DV, Blanchette DR, Brogden KA et al (2013). Oral mucosal lipids are antibacterial against *Porphyromonas gingivalis*, induce ultrastructural damage, and alter bacterial lipid and protein compositions. *Int J Oral Sci* 5:130–140.

Fives-Taylor PM, Meyer DH, Mintz KP, Brissette C (1999). Virulence factors of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Periodontol* 2000. Jun;20:136-67.

Frank, R. M., and Voegel, J. G. (1978). Bacterial bone resorption in advanced cases of human Periodontitis. *J Periodont Res* 13: 251.

Gajardo M, Silva N, Gomez L et al (2005). Prevalence of periodontopathic bacteria in aggressive periodontitis patients in a Chilean population. *J Periodontol*; 76:289-294.

Genco RJ. (1992). Host responses in periodontal diseases: current concepts. *J Periodontol*. 53: 338-355.

Gomes SG, Piccinin FB, Oppermann RV, Susin C, Nonnenmacher CI, Mutters R (2006). Periodontal status in smokers and never-smokers: Clinical findings and real-time polymerase chain reaction quantification of putative periodontal pathogens. *J Periodontol* ; 77(9):1483-1490.

Graves DT, Jiang Y, Genco C. (2000). Periodontal disease: bacterial virulence factors, host response and impact on systemic health. *Curr Opin Infect Dis* 13: 227–232.

Gibbons RJ, Socransky SS (1966). Enhancement of alveolar bone loss in gnotobiotic mice harbouring human gingival bacteria. *Arch Oral Biol*. Aug;11(8):847-8.

Gibbons RJ, Berman KS, Knoettner P, Kapsimalis B (1966). Dental caries and alveolar bone loss in gnotobiotic rats infected with capsule forming streptococci of human origin. *Arch Oral Biol*. Jun;11(6):549-60.

Greenstein G, Cavallero Jr J, Tranow D (2010). Dental Implants in the periodontal patient. *Dent Clin N Am* ;54:113-128.

Griffen AL, Beall CJ, Campbell JH, Firestone ND, Kumar PS, Yang ZK et al (2012a). Distinct and complex bacterial profiles in human periodontitis and health revealed by 16S pyrosequencing. *ISME J* 6: 1176–1185.

Haffajee AD, Cugini MA, Dibart S, Smith C, Kent Jr RL, Socransky SS (1997). Clinical and microbiological features of subjects with adult periodontitis who responded poorly to scaling and root planning. *J Clin Periodontol*; 24:767-776. (b)

Haffajee AD, Cugini MA, Dibart S, Smith C, Kent Jr RL, Socransky SS (1997). The effect of SRP on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases. *J Clin Periodontol*; 24:324-334. (a)

Haffajee AD, Teles RP, Socransky SS (2006). The effects of periodontal therapy on the composition of the subgingival microbiota. *Periodontol 2000*; 42:219-258.

Haffajee AD, Bogren A, Hasturk H, Feres M, Lopez NJ, Socransky SS (2004). Subgingival microbiota of chronic periodontitis subjects from different geographic locations. *J Clin Periodontol*; 31(11):996-1002.

Haffajee AD, Cugini MA, Dibart S, Smith C, Kent RL Jr, Socransky, SS (1997). The effect of SRP on the clinical and microbiological parameters of periodontal diseases. *J Clin Periodontol*; 24:324-34.

Haffajee AD, Socransky SS (2006). Introduction to microbial aspects of periodontal biofilm communities, development and treatment. *Periodontol 2000*; 42: 7-12.

Haffajee AD, Bogren A, Hasturk H, Feres M, Lopez NJ, Socransky SS (2004). Subgingival microbiota of chronic periodontitis subjects from different geographic locations. *J Clin Periodontol*; 31:996-1002.

Haffajee AD, Socransky SS (1994). Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontology 2000*; 5:78-111.

Hajishengallis G, Lamont RJ (2012). Beyond the red complex and into more complexity: the polymicrobial synergy and dysbiosis (PSD) model of periodontal disease etiology. *Mol Oral Microbiol* 27: 409–419.

Hinrichs JE, Wolff Lf, Pihlstrom BL, Schaffer EM, Liljemark WF, Bandt CL (1985). Effects of scaling and root planning on subgingival microbial proportions standardized in terms of their naturally occurring distribution. *J Periodontol*; 56(4):187-94.

Holt SC, Ebersole JL (2005). Porphyromonas gingivalis, Treponema denticola, and Tannerella forsythia: the ‘red complex’, a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. *Periodontol 2000* 38: 72–122.

Hoon MJL, Imoto S, Nolan J, Miyano S (2004). Open source clustering software. *Bioinformatics* 20: 1453–1454.

Iacono VJ (2000). Dental Implants in Periodontal Therapy. *J Periodontol* ;71:1934-1942.

Ivanovski OCTT (2010). Osseointegration – The influence of dental surface. *Ann Roy Australas Coll Dent Surg* ;20:82-85.

Kamma JJ, Nakou M, Manti FA (1995). Predominant microbiota of severe, moderate and minimal periodontal lesions in young adults with rapidly progressive periodontitis. *J Periodontal. Res*; 30(1):66-72.

Karoussis IK, Salvi GE, Heitz-Mayfield LJA, Bragger U, Hammerle CHF, Lang NP (2003). Long-term implant prognosis in patients with and without a history of chronic periodontitis: a 10-year prospective cohort study of the ITI Dental Implant System. *Clin Oral Impl Res* ;14:329-339.

Karoussis IK, Kotsovilis S, Fourmoussis I (2007). A comprehensive and critical review of dental implant prognosis in periodontally compromised partially edentulous patients. *Clin Oral Impl Res* ;18:669-679.

Keyes PH, Jordan HV (1964). Periodontal lesions in the Syrian hamsters. III. Findings related to an infectious and transmissible component. *Arch Oral Biol*. Jul-Aug;32:377-400.

Kocar M, Seme K, Hren NI (2010). Characterization of the normal bacterial flora in periimplant sulci of partially and completely edentulous patients. *Int J Oral Maxillofac Implants* ;25:690-698.

Könönen E, Müller HP (2014). Microbiology of aggressive periodontitis. *Periodontology 2000*, Vol. 65, 46–78

Kumar PS, Griffen AL, Barton JA, Paster BJ, Moeschberger ML, Leys EJ (2003). New bacterial species associated with chronic periodontitis. *J Dent Res*; 82:38-344.

LaGier MJ, Threadgill DS (2008). Identification of novel genes in the oral pathogen *Campylobacter rectus*. *Oral Microbiol Immunol*; 23(5):406-412.

Lamont RJ, Jenkinson HF (1998). Life below the gum line: pathogenic mechanisms of *Porphyromonas gingivalis*. *Microbiol Mol Biol Rev*. Dec;62(4):1244-63.

Lamont RJ, Jenkinson HF (2000). Subgingival colonization by *Porphyromonas gingivalis*. *Oral Microbiol Immunol*. Dec;15(6):341-9.

Lindhe J, Heden G, Wennström JL. (1999). Periodontal tissue alterations following. Emdogain treatment of periodontal sites with angular bone defects. A series of case reports. *J Clin Periodontol*. 26(12): 855-60.

Listgarten MA, Hellden L (1978). Relative distribution of bacteria at clinically healthy and periodontally diseased sites in humans. *J Clin Periodontol*. May;5(2):115-32.

Löe H, Anerud A, Boysen H, Smith M (1978). The natural history periodontal disease in man: the rate of periodontal destruction before 40 years of age. *J Periodontol*. Dec;49(12):607-20.

Löe H, Anerud A, Boysen H, Morrison E (1986). Natural history of periodontal disease in man. Rapid, moderate and no loss of attachment in Sri Lankan laborers 14 to 46 years of age. *J Clin Periodontol*; 13:431-445.

Löe H, Theilade E, Jensen, SB, Schiott CR (1967). Experimental gingivitis in man. III. Influence of antibiotics on gingival plaque development. *J Periodontol Res*; 2(4):282-299.

Löe H, Theilade E, Jensen, SB (1965). Experimental gingivitis in man. *J Periodontol*; 36:177-187.

Loesche W, Kazor C (2002). Microbiology and treatment of halitosis. *Periodontology 2000*; 28:256-79.

Loesche W, Syed SA, Schmidt E, Morrison EC (1985). Bacterial profiles of subgingival plaques in periodontitis. *J Periodontol*; 56(8):447-456.

Loesche W (1992). DNA probe and enzyme analysis in periodontal diagnostics. *J Periodontol*; 63:1102-1109.

Loesche WJ (1976). Chemotherapy of dental plaque infections. *Oral Sci Rev*; 9:65-107.

Lopez NJ, Socransky SS, Da Silva I, Japlit MR, Haffajee AD (2004). Subgingival microbiota of Chilean patients with chronic periodontitis. *J Periodontol*; 75: 717-725.

Lovdal A, Aron A, Waerhaug J (1958). Evidence of clinical manifestations of periodontal disease in light of oral hygiene and calculus formation. *J Am Dent Assoc*; 56:21-33.

Ludwig JA, Reynolds JF (1988). Statistical Ecology. A Primer on Methods and Computing. *New York: John Wiley & Sons*:170.

Mager DL, Haffajee AD, Socransky SS (2003). The effects of periodontitis and smoking on the microbiota of oral mucous membranes and saliva in systemically healthy subjects. *J Clin Periodontol*. Dec;30(12):1031-7.

Manor, Lebendiger, Shiffer and Tovel. (1984). Bacterial invasion of periodontal tissues in advanced Periodontitis in humans. *J Periodontol* 55: 567.

Marsh PD (1992). Microbiological aspects of the chemical control of plaque and gingivitis. *J Dent Res*; 71(7):1431-1438.

Martinelli LF (1999). O fumo e a doença periodontal. *Revista Paulista de Odontologia*. 1: 28-33.

Matarazzo F, Figueiredo LC, Cruz SE, Faveri M, Feres M (2008). Clinical and microbiological benefits of systemic metronidazole and amoxicillin in the treatment of smokers with chronic periodontitis: a randomized placebo-controlled study. *J Clin Periodontol*; 35:885-96.

Mayanagi G, Sato T, Shimauchi H, Takahashi N (2004). Detection frequency of periodontitis-associated bacteria by polymerase chain reaction in subgingival and supragingival plaque of periodontitis and healthy subjects. *Oral Microbiol Immunol*; 19:379-385.

McMullen JA, Van Dyke TE, Horoszewicz HU, Genco RJ. (1981) Neutrophil Chemotaxis in individuals with advanced periodontal disease and a genetic predisposition to diabetes mellitus. *J Periodontol*. 52: 167-173.

Mombelli A, Schmid B, Rutar A, Lang NP (2000). Persistence patterns of *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia/nigrescens*, and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* after mechanical therapy of periodontal disease. *J Periodontol*. Jan;71(1):14-21.

Moore WEC, Moore LVH (2000). The bacterial of periodontal disease. In microbiology and Immunology of periodontal disease. *Periodontol 2000*; 5:66:77.

Moore WEC (1987). Microbiology of periodontal disease. *J Periodont Res*; 22: 335-41.

Page RC. (1991). The role of inflammatory mediators in the pathogenesis of periodontal disease. *J Periodont Res*. 26: 230-242.

Page RC, Schroeder HE. (1976). Pathogenesis of chronic inflammatory periodontal disease: a summary of current work. *Lab Invest*. 33: 235-249.

Papapanou PN, Neiderud AM, Papadimitriou A, Sandros J, Dahlen G (2000). “Checkerboard” assessments of periodontal microbiota and serum antibody responses: a case–control study. *J Periodontol*; 71:885-897.

Pennel BM, Keagle JG (1977). Predisposing factors in the etiology of chronic inflammatory periodontal disease. *J Periodontol*; 48(9):517-532.

Petersilka GM, Ehmke B, Flemmig TF (2002). Antibacterial effects of mechanical debridement. *Periodontology 2000*; 28:56-71.

Preber H, Linder L, Bergstrom J. (1995) Periodontal healing and periopathogenic microflora in smokers and nonsmokers. *J Clin Periodontol*. 22:946-952.

Quirynen M, Abarca M, Van Assche N, Nevins M , Van Steenberghe D (2007). Impact of supportive periodontal therapy and implant surface roughness on implant outcome in patients with a history of periodontitis. *J Clin Periodontol* ;34:805-815.

Quirynen M, De Soete M, Dierickx K, van Steenberghe D (2001). The intra-oral translocation of periodontopathogens jeopardises the outcomes of periodontal therapy. A review of the literature. *J Clin Periodontol*. Jun;28(6):499-507.

Rams TE, Listgarten MA, Slots J (1996). Utility of 5 major putative periodontal pathogens and selected clinical parameters to predict periodontal breakdown in patients on maintenance care. *J Clin Periodontol*. Apr;23(4):346-54.

Renvert S, Polyzois I, Claffey N (2011). How do implant surface characteristics influence peri-implant disease? *J Clin Periodontol* ;38(11):214-222.

Renvert S, Persson GR (2009). Periodontitis as a potential risk factor for periimplantitis. *J Clin Periodontol* ;36(10):9-14.

Reuland-Bosma W and van Dijk LJ. (1986). Periodontal disease in Down's syndrome: A review. *J Clin Periodontol*. 13: 64-73.

Ritz HL. (1967). Microbial population shifts in developing human dental plaque. *Arch Oral Biol* 12: 1561–1568.

Rivera FJ (1986). Malignant peritoneal mesothelioma: a difficult diagnosis. *Lowa Med*. 76(5): 222-4.

Rodenburg JP, Van Winkelhoff AJ, Winkel EG, Goene RJ, Abbas F, de Graff J (1990). Occurrence of bacteroides gingivalis, bacteroides intermedius and actinobacillus actinomycetemcomitans in severe periodontitis in relation to age and treatment history. *J Clin Periodontol*. Jul;17(6):392-9.

Romeiro RL, Rocha RF, Jorge AOC (2010). Etiology and treatment of peri-implant illness. *Odonto* ;18(36):59-66.

Rosenberg E, Evian CL, Listgarten MA (1981). The composition of the subgingival microbiota after periodontal therapy. *J Periodontol*; 52:435-441.

Rosling B, Serino G, Hellstrom Mk, Socransky SS, Lindhe J (2001). Longitudinal periodontal tissue alterations during supportive therapy: findings from subjects with normal and high susceptibility to periodontal disease. *J Clin Periodontol* Mar;28(3):241-249.

Rudney JD, Chen R, Sedgewick GJ (2005). *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, and *Tannerella forsythensis* are components of a polymicrobial intracellular flora within human buccal cells. *J Dent Res*. 84(1):59-63.

Russel AL (1967). Epidemiology of periodontal disease. A review of the literature. *Int Dent J*; 17: 282-296.

Salari MH, Kadkhoda Z (2004). Rate of cultivable subgingival periodontopathogenic bacteria in chronic periodontitis. *J Oral Sci*; 46:157-161.

Sanz M, van Winkelhoff AJ, Herrera D, DelleMijn-Kippuw N, Simon R, Winkel E (2000). Differences in the composition of the subgingival microbiota of two periodontitis populations of different geographical origin. A comparison between Spain and The Netherlands. *Eur J Oral Sci*; 108:383-392.

Schenkein HA, Gunsolley JC, Koertge TE, Schenkein JG, Tew JG. (1995). Smoking and its effects on early-onset Periodontitis. *J Am Dent Assoc*. 126:1107- 1113.

Seymour GJ. (1991) Importance of the host response in the periodontium. *J Clin Periodontol*. 18: 421-426.

Shiloah J, Patters MR, Dean JW III, Bland P, Toledo G (1998). The prevalence of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, and *Bacteroides forsythus* in humans 1 year after 4 randomized treatment modalities. *J Periodontol*. Dec; 69(12): 1364-72.

Silva-Boghossian C, Souto RM, Luiz RR, Colombo A (2011). Association of red complex, *A. actinomycetemcomitans* and non-oral bacteria with periodontal diseases. *archives of oral biology*; 56:899-906

Slots J (1977). The predominant cultivable microflora of advanced periodontitis. *Scand J Dent Res*; 85:114-21.

Slots J, Moenbo D, Langebaek J, Frandsen A (1978). Microbiota of gingivitis in man *Scand. J Dent Res*. May;86(3):174-81.

Slots J, Rams TE (1990). Antibiotics in periodontal therapy: advantages and disadvantages. *J Clin Periodontol*. Aug;17(7 ( Pt 2)):479-93. Translated to Spanish: *Periodoncia*. 1991;1:46-67.

Socransky SS (1970). Relationship of bacteria to the etiology of periodontal disease. *J Dent Res*. 49(2):203-22.

Socransky SS (1977). Microbiology and periodontal disease - present status and future considerations. *J Periodontol*. Sep;48(9):497-504.

Socransky SS & Haffajee AD (2005). Periodontal microbial ecology. *Periodontology 2000*; 38:35-87.

Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C., Kent Jr RL (1998). Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* Feb;25(2):134-144.

Socransky SS, Haffajee AD (2002). Dental biofilms: Difficult therapeutic targets. *Periodontol 2000*; 28:12-55.

Socransky SS, Haffajee AD (1994). Implications of periodontal microbiology for the treatment of periodontal infections. *Compend Suppl*; (18):S684-5, 688-93; quiz S714-7.

Socransky SS, Haffajee AD (1994b). Implications of periodontal microbiology for the treatment of periodontal infections. *J Clin Periodontol* 18:688-93.

Socransky SS, Haffajee AD. (1992). The bacterial etiology of destructive periodontal disease: current concepts. *J Periodontol* 63: 322–331.

Socransky SS, Manganiello AD, Propas D, Oram V, van Houte J. (1977). Bacteriological studies of developing supragingival dental plaque. *J Periodontal Res* 12: 90– 106.

Teles RP, Haffajee AD, Socransky SS (2006). Microbiological goals of periodontal therapy. *Periodontol 2000*; 42:180-218.

Theilade E (1986). The non-specific theory in microbial etiology of inflammatory periodontal diseases. *J Clin Periodontol*. Nov;13(10):905-11.

Theilade E, Wright WH, Jensen SB, Løe H (1966). Experimental gingivitis in man. II. A longitudinal clinical and bacteriological investigation. *J Periodont Res*; 1:1-13.

Thurnheer T, Belibasakis GN (2015). Integration of non-oral bacteria into in vitro oral biofilms. *Virulence*; 6:258-64.

Unicamp. São Paulo, Brasil. Patogênese Da Doença Periodontal disponível em <[http://w2.fop.unicamp.br/ddo/patologia/downloads/dp312\\_PatogenDoencaPerio.pdf](http://w2.fop.unicamp.br/ddo/patologia/downloads/dp312_PatogenDoencaPerio.pdf) >

van Winkelhoff AJ, Loos BG, van der Reijden WA, van der Velden U (2002). Porphyromonas gingivalis, Bacteroides forsythus and other putative periodontal pathogens in subjects with and without periodontal destruction. *J Clin Periodontol*; 29:1023-1028.

van Winkelhoff AJ, Herrera D, Oteo A, Sanz M (2005). Antimicrobial profiles of periodontal pathogens isolated from periodontitis patients in The Netherlands and Spain. *J Clin Periodontol*; 32:893-898.

van Winkelhoff AJ, Loos BG, van der Reijden WA, van der Velden U (2002). Porphyromonas gingivalis, Bacteroides forsythus and other putative periodontal pathogens in subjects with and without periodontal destruction. *J Clin Periodontol*; 29:1023-1028.

van Winkelhoff, AJ, Winkel EG (2005). Microbiological diagnostics in periodontics: biological significance and clinical validity. *Periodontol 2000*; 39:40-52.

Vartoukian SR, Palmer RM, Wade WG (2009). Diversity and morphology of members of the phylum “Synergistetes” in periodontal health and disease. *Appl Environ Microbiol.* Jun; 75(11): 3777–3786.

Ximénez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS (2000). Comparison of the microbiota of supra- and subgingival plaque in health and periodontitis. *J Clin Periodontol*; 27(3):648-657.

Ximenez-Fyvie LA, Almaguer-Flores A, Jacobo-Soto V, Lara-Cordoba M, Moreno-Borjas JY, Alcantara-Maruti E (2006). Subgingival microbiota of periodontally untreated Mexican subjects with generalized aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol*; 33(12):869-877.

Williams RC. (1990) Periodontal disease. *N Engl J Med.* 322: 373-382.

Wyss C, Choi BK, Schupbach P, Guggenheim B, Gobel UB (1996). *Treponema maltophilum* sp. nov., a small oral spirochete isolated from human periodontal lesions. *Int J Syst Bacteriol*; 46:745–752.

Wyss C, Choi BK, Schupbach P, Guggenheim B, Gobel UB (1997). *Treponema amylovorum* sp. nov., a saccharolytic spirochete of medium size isolated from an advanced human periodontal lesion. *Int J Syst Bacteriol*; 47:842–845.

Wyss C, Choi BK, Schupbach P, Moter A, Guggenheim B, Gobel UB (1999). *Treponema lecithinolyticum* sp. nov., a small saccharolytic spirochaete with phospholipase A and C activities associated with periodontal diseases. *Int J Syst Bacteriol*; 49:1329-1339.

Wyss C, Dewhirst FE, Gmur R et al (2001). *Treponema parvum* sp. nov., a small, glucuronic or galacturonic acid-dependent oral spirochaete from lesions of human periodontitis and acute necrotizing ulcerative gingivitis. *Int J Syst Evol Microbiol*; 51:955-962.

Wyss C, Moter A, Choi BK et al (2004). *Treponema putidum* sp. nov., a medium-sized proteolytic spirochaete isolated from lesions of human periodontitis and acute necrotizing ulcerative gingivitis. *Int J Syst Evol Microbiol*; 54:1117-1122.

Zijnge V, Harmsen HJ, Kleinfelder JW, van der Rest ME, Degener JE, Welling GW (2003). Denaturing gradient gel electrophoresis analysis to study bacterial community structure in pockets of periodontitis patients. *Oral Microbiol Immunol*; 18:59–65.

Zee KY, Samaranayake LP, Attstrom R. (1996). Predominant cultivable supragingival plaque in Chinese \_rapid\_ and \_slow\_ plaque formers. *J Clin Periodontol* 23: 1025–1031.

Zetterqvist L, Feldman S, Rotter B, Vincenzi G, Wennstrom JL, Chierico A, Stach RM, Kenealy JN (2010). A Prospective, Multicenter, Randomized-Controlled 5-Year Study of Hybrid and Fully Etched Implants for the Incidence of Peri-Implantitis. *J Periodontol* ;81:493-501.