



UNICAMP

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



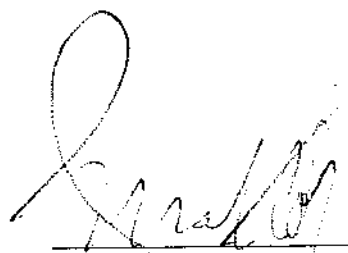
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

Monografia de Final de Curso

Aluno: Leandro Moraes Furlan

Orientador(a): Prof^a. Dr^a. Renata O. Mattos-Graner

Ano de Conclusão do Curso: 2006



Assinatura do(a) Orientador(a)
Prof^a. Dr^a. Renata O. Mattos-Graner
Coordenadora do Curso

TCC 302

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
BIBLIOTECA



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



Leandro Moraes Furlan
024277

BIOFILME DENTÁRIO: Aspectos Microbiológicos

Monografia apresentada ao Curso
de Odontologia da Faculdade de Odontologia
de Piracicaba – UNICAMP,
para obtenção do Diploma de Cirurgião-Dentista.

Orientadora: Profa. Dra. Renata O. Mattos-Graner.

Piracicaba

2006

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos que de alguma forma me apoiaram e acreditaram no meu potencial.

AGRADECIMENTOS

Agradeço aos familiares pela base e colaboração durante todo o tempo.

Agradeço, em especial, à Prof^a. Renata O. Mattos Graner pelo acolhimento nesta disciplina, pelos preciosos ensinamentos e pela dedicação com a qual prestou ajuda neste trabalho.

SUMÁRIO

1. Listas de Figuras e Tabelas	7
2. Resumo	9
3. Introdução	10
4. Diversidade Microbiológica Bucal	13
4.1 Microrganismos Não-Cultiváveis	13
5. Aquisição e Desenvolvimento dos Microrganismos da Microbiota Indígena da Cavidade Bucal	15
6. Biofilme Dentário	16
6.1 Definição e Características	16
6.2 Diversidade Microbiológica do Biofilme	17
6.3 Desenvolvimento do Biofilme	19
6.3.1 Fase Inicial	20
6.3.2 Fase de Acúmulo	21
6.3.3 Dinâmica da Sucessão Microbiana	21
6.4 Sucessões Microbianas	22
6.4.1 Colonizadores Primários	23
6.4.1.1 Interações com a Película Adquirida	23
6.4.2 Colonizadores Secundários	24
6.4.2.1 Polissacarídeos Extracelulares	24
6.5 Fatores que Influenciam na Formação do Biofilme	25
6.5.1 Fatores do Hospedeiro	25
6.5.2 Fatores Externos ao Hospedeiro	29
6.5.3 Fatores Microbianos	30
6.6 Alterações do Ambiente do Biofilme Relacionadas à de um Biogilme Cariogênico	33
6.6.1 Fatores do Hospedeiro	33

6.6.2 Fatores Externos ao Hospedeiro	34
6.6.3 Fatores Associados ao Biofilme Dental	34
6.7 Características do Biofilme Supra e Subgengival	36
6.8 Microrganismos Envolvidos no Desenvolvimento da Cárie Dentária	37
6.9 Microrganismos Relacionados à Doença Periodontal	37
6.10 Principais Espécies Bacterianas Encontradas na Cavidade Bucal	39
6.10.1 Cocos Gram-Positivos	39
6.10.2 Cocos Gram-Negativos	43
6.10.3 Bastonetes Gram-Positivos	43
6.10.4 Bastonetes Gram-Negativos	45
7. Conclusão	49
8. Referências	50

1. LISTAS DE FIGURAS E TABELAS

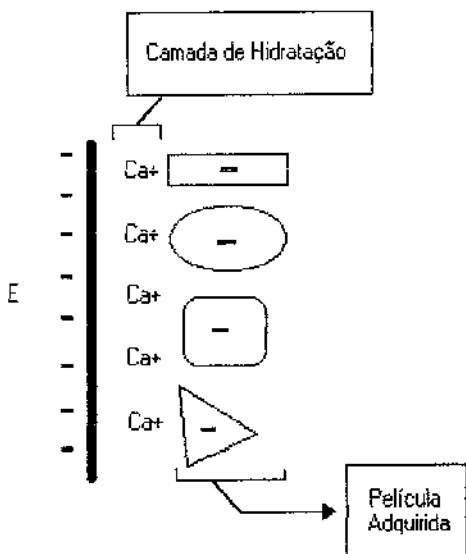


Fig. 1. Interações inespecíficas com a Película Adquirida. (p. 20)

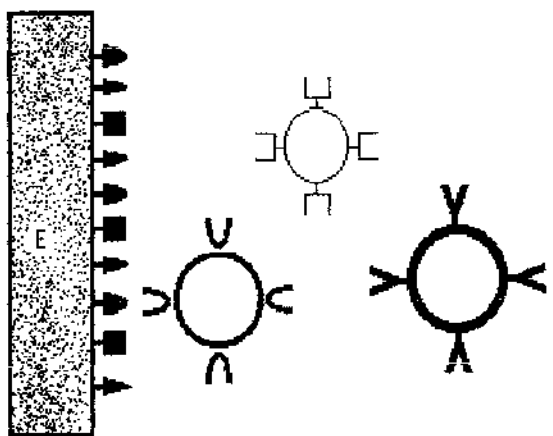


Fig. 2 Interações específicas com Película Adquirida. (E) Esmalte (adaptado de (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995). (p. 21)

Tabela 1. Exemplos de adesinas que interagem com componentes da película adquirida, identificadas em colonizadores primários. Adaptado de (KOLENBRANDER & LONDON, 1993 e ROSAN & LAMONT, 2000). (p.23)

Adesinas	Espécies microbianas	Ligante
Família de Antígenos VII	<i>S. gordonii</i> , <i>S. oralis</i> , <i>S. mutans</i> , <i>S. sobrinus</i>	Proteínas Ricas em Prolina
Proteínas Ligantes de Amilase	<i>S. gordonii</i> , <i>S. mitis</i> , <i>S. salivarius</i> , <i>S. Crista</i>	α -amilase
Lectinas de superfície	<i>S. oralis</i> , <i>S. mitis</i>	Glicoproteínas salivares
Complexo antigênico	<i>S. gordonii</i>	Proteína de 73 kDa da saliva submandibular
Família de Antígenos I/II	<i>S. mutans</i> , <i>S. sobrinus</i> , <i>S. gordonii</i> , <i>S. intermedius</i>	Aglutinina da saliva parotídea, glicoproteínas salivares, proteínas ricas em prolina, colágeno

Tabela 2. Classificação geral de algumas proteínas mais bem estudadas nas secreções salivares.
(adaptado de MENAKER et al., 1984) (p.26)

Proteínas Salivares		Funções prováveis
Proteínas ricas em prolina	Mucinas e glicoproteínas	São destinadas a formar uma camada pseudomenbranosa (através de reações iônicas) tanto nas superfícies bucais moles quanto nas duras, conferindo lubrificação.
Proteínas enzimáticas	Amilase	Digestão do amido
	Lisozima	Degradação da parede celular bacteriana
	Lactoperoxidase	Modificação química e neutralização de componentes micobianos vitais
Proteínas ricas em aromáticos (função especial)	Gustina	Acuidade do paladar (ligação ao zinco)
	Estaterina	Remineralização (ligação ao cálcio)
	Lactoferrina	Retardamento do crescimento bacteriano (ligação ao ferro)
Imunoglobulinas	IgA Secretora, IgG, IgM	Auxilia a proteger a mucosa contra invasão de microrganismos; participa da resposta imune bucal

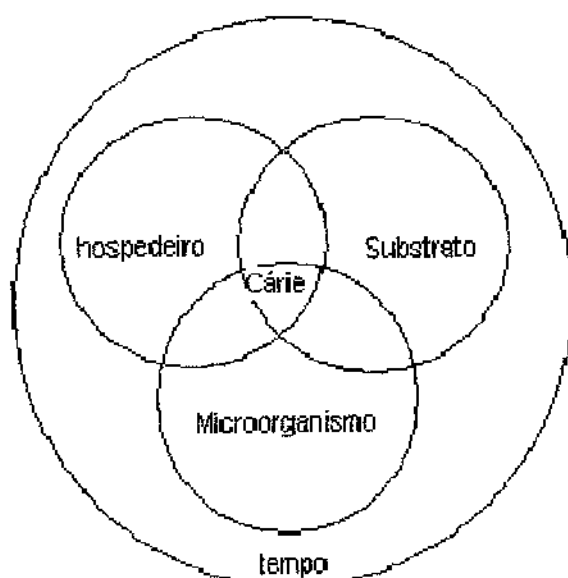


Figura 3. Natureza multifatorial da cárie dentária. Adaptado de Keyes, 1962. (p. 33)

2. RESUMO

A boca, como outras áreas de mucosas, possui uma microbiota natural, a qual se mantém em equilíbrio com os sistemas imunológicos inatos e adaptativos do hospedeiro. A cavidade bucal normalmente apresenta dois tipos de superfície para a colonização por bactérias: os tecidos moles descamativos e as superfícies duras do esmalte e dentina e para que essas superfícies sejam efetivamente colonizadas os microrganismos usam mecanismos de aderência e acúmulo além de capacidade de adaptação fisiológica às alterações do ambiente. Os Microrganismos podem ser transmitidos de um habitat para outro por objetos inanimados ou através do contato com indivíduos infectados. Normalmente, as mães representam a principal fonte de transmissão das bactérias orais que colonizam seus filhos. A cavidade bucal possui nichos distintos, como a mucosa jugal e palatina, dorso da língua, superfícies dentárias supragengivais, e áreas do sulco gengival. Algumas espécies bacterianas são encontradas com grande frequência em todas estas áreas, em concentrações superiores a 1% do total de microrganismos da microbiota indígena. Existem espécies que são encontradas em concentrações menores, enquanto os microorganismos que estão “apenas de passagem” pela cavidade bucal do hospedeiro compõem a microbiota transitória.

3. INTRODUÇÃO

A boca, como outras áreas de mucosas, possui uma microbiota natural, a qual se mantém em equilíbrio com os sistemas imunológicos inatos e adaptativos do hospedeiro. A microbiota indígena comensal se desenvolve desde o nascimento e estimula a maturação do sistema imunológico. Uma vez estabelecida, se torna importante para a manutenção da saúde, pois age como uma barreira competitiva contra a infecção por microorganismos patogênicos. Variações ambientais podem, no entanto, modificar a composição da microbiota natural e favorecer a infecção por microorganismos patogênicos. A composição da dieta do hospedeiro pode interferir na composição microbiana da placa dental, por exemplo. A higiene bucal negligenciada também favorece o acúmulo microbiano na superfície dentária induzindo processos inflamatórios crônicos, os quais promovem danos aos tecidos dentários e aos tecidos periodontais (MARSH, 1991).

A composição microbiana de um nicho ecológico é, em parte, determinada pelas características do ambiente local. Assim, alterações ambientais promovem mudanças na microbiota. Geralmente, ambientes sob condições extremas, como altas temperaturas, alta acidez e baixa disponibilidade de nutrientes são colonizadas por microbiotas pouco diversificadas, onde patógenos podem prevalecer. Por outro lado, ambientes menos submetidos a condições de estresse abrigam microbiotas mais complexas (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995)

A cavidade bucal normalmente apresenta dois tipos de superfície para a colonização por bactérias: (1) tecidos moles descamativos e (2) superfícies duras do esmalte e dentina. Uma vez que ambos os tipos de superfícies são banhados pela saliva, a adsorção de diversos componentes salivares à superfície do esmalte e/ou dentina exposta formam uma camada de proteínas, glicoproteínas e açúcares que é denominada película adquirida.

Para colonizar efetivamente as diversas superfícies da cavidade bucal os microorganismos precisam de (1) mecanismos de aderência e acúmulo às superfícies colonizadas e (2) capacidade de adaptação fisiológica às alterações do ambiente. (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995).

O desenvolvimento de uma microbiota é um processo complexo, pois não envolve apenas a interação entre as bactérias e as superfícies a serem colonizadas, mas também as interações entre bactérias da mesma espécie ou entre espécies e gêneros distintos. Anteriormente aos processos citados, é importante que os microorganismos sejam transmitidos aos diferentes locais da cavidade bucal. Os microorganismos devem ser transmitidos de um habitat para outro. Os Microorganismos podem ser transmitidos de um habitat para outro por objetos inanimados ou através do contato com indivíduos infectados. Normalmente, as mães representam a principal fonte de transmissão das bactérias orais que colonizam seus filhos (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995).

Embora os diferentes locais da cavidade bucal não estejam isolados fisicamente, a cavidade bucal apresenta sítios com características muito específicas, os quais podem ser, considerados como nichos ecológicos distintos (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995). Assim, a cavidade bucal possui nichos distintos, como a mucosa jugal e palatina, dorso da língua, superfícies dentárias supragengivais, e áreas do sulco gengival.

Algumas espécies bacterianas são encontradas com grande frequência em todas estas áreas, em concentrações superiores a 1% do total de microorganismos da microbiota indígena. Existem espécies que são encontradas em concentrações menores, enquanto os microorganismos que estão "apenas de passagem" pela cavidade bucal do hospedeiro compõem a microbiota transitória. Como exemplo, pode-se dizer que, em relação à língua e à bochecha, o *Streptococcus salivarius* compõe a microbiota indígena, enquanto que as espécies de enterobactérias refletem a microbiota transitória nesses habitats (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995).

As populações de bactérias que ocupam nichos similares na comunidade competem umas com as outras e as espécies que mais facilmente se adaptam a determinado nicho adquirem maiores proporções em relação às outras espécies. À medida que a comunidade se desenvolve e o ambiente muda suas características, a composição bacteriana também é modificada. Neste processo ocorre então uma sucessão microbiana e variações na concentração de espécies microbianas. Quando uma comunidade bacteriana se desenvolve em seu habitat em equilíbrio com o ambiente ela é chamada de comunidade clímax (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995).

4. DIVERSIDADE MICROBIOLÓGICA BUCAL

A cavidade bucal humana hospeda grande quantidade e variedade de microorganismos, entre eles bactérias e fungos. Protozoários e vírus podem ser detectados com menor frequência. Até o momento já foram isoladas e identificadas mais de 400 espécies de bactérias distintas na cavidade bucal. As espécies bacterianas podem ser classificadas em grupos distintos:

(1) Cocos Gram-positivos; (2) Cocos Gram-negativos; (3) Bastonetes Gram-positivos; (4) Bastonetes Gram-negativos. Os principais gêneros bacterianos isolados da cavidade bucal serão discutidos ao fim.

4.1 Microrganismos não cultiváveis

Estima-se que existam cerca de 500 espécies de microorganismos na cavidade bucal (MOORE & MOORE, 1994; HAFFAJEE & SOCRANSKY, 1994; SOCRANSKY et al., 1998). Enquanto a maioria desses microorganismos é comensal, um subgrupo aparece como patógenos oportunistas que podem causar doenças sistêmicas e bucais, como a doença periodontal e a cárie (PASTER et al., 2001).

Estudos com técnicas moleculares têm mostrado que a diversidade bacteriana na maioria dos estudos é severamente subestimada em pesquisas com técnicas-base de cultivo (AMANN et al., 1995; HUGENHOLTZ et al., 1998). Em muitas comunidades microbianas, menos de 1% dos microorganismos são cultiváveis (PACE et al., 1986). Por causa do significativo esforço estendido ao cultivo de bactérias bucais, estima-se que cerca de 50% delas já foi cultivada e identificada (PASTER et al., 2001). De qualquer forma, qualquer entendimento do desenvolvimento das bactérias bucais requer o conhecimento de toda a comunidade bacteriana. Não há razão para esperar que existam poucos patógenos entre o segmento não cultivado da comunidade do que entre o segmento cultivado. Organismos muito bem adaptados ao hospedeiro como o *Treponema pallidum* e *Mycoplasma pneumoniae* ainda não podem ser cultivados ou são extremamente difíceis de serem mantidos em culturas, porque eles perderam a

habilidade de sintetizar muitas moléculas essenciais, que normalmente obtêm de seu hospedeiro (PASTER et al., 2001). Trabalhos mostram que 75% das espécies bucais de *Treponema* não foram cultivadas (CHOI et al., 1994; DEWHIRST et al., 2000).

5. AQUISIÇÃO E DESENVOLVIMENTO DOS MICRORGANISMOS DA MICROBIOTA INDÍGENA DA CAVIDADE BUCAL

Logo após o nascimento, a criança entra em contato com diversos microrganismos presente no ambiente em que vive, principalmente com microrganismos que colonizam as outras pessoas com quem mantém contato, principalmente da mãe. Os primeiros microrganismos que podem ser isolados da cavidade bucal nas primeiras semanas após o nascimento são predominantemente os *Streptococcus spp.* dentre os quais as espécies *S. mitis*, *S. oralis* e *S. salivarius* são as mais comumente isoladas (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995; KOLENBRANDER & LONDON, 1993). Durante os primeiros meses de vida, a microbiota torna-se mais complexa, isto é, aumenta a densidade e quantidade de microrganismos (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995).

Com a erupção dos dentes, iniciada por volta dos 6 meses de idade, são fornecidos novos tipos de superfícies e microambientes. Entre as espécies que se aderem aos dentes encontramos *S. sanguis*, *S. mitis*, *S. gordonii* e algumas espécies de *Actinomyces*, além do aumento do número de bactérias anaeróbias. As espécies *S. mutans* e *S. sobrinus*, principais patógenos da cárie dental, não são capazes de colonizar facilmente as superfícies dentárias, uma vez que outras espécies de estreptococos, como *S. sanguis* e *S. mitis*, tem maior afinidade às superfícies dentárias recobertas pela película adquirida do esmalte (KOLEMBRANDER et al., 1993). A complexidade da microbiota aumenta até atingir relativa estabilidade nos adultos jovens. A microbiota bucal inclui um grupo de gêneros e espécies bacterianas comum entre a maioria das pessoas. A perda de dentes resulta em perda de microambientes e redução da microbiota (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995). Em todo caso, as próteses dentárias podem substituir os dentes para as bactérias que dependem das superfícies duras não descamativas para se estabelecer (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995). Entretanto, as próteses não substituem completamente a relação entre tecidos moles e duros que estão presentes com os dentes (sulco gengival). Resumindo, ao nascimento, o indivíduo adquire microrganismos da mãe e, após 6 a 10 horas de vida já tem a cavidade bucal colonizada por *S. mitis biovar1*, *S. salivarius*, *S. oralis* e, às vezes,

Candida albicans. No Primeiro ano de vida, o indivíduo já apresenta uma microbiota mais complexa, composta por *Neisseria*, *Staphylococcus*, *Actinomyces*, *Lactobacillus*, *Fusobacterium* e *Prevotella*, e essa microbiota tende a crescer em complexidade até que o indivíduo se torne um adulto jovem, quando se. O uso de dentaduras causa uma redução no número de microorganismos, principalmente os anaeróbios estritos (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995).

6. BIOFILME DENTÁRIO

6.1 Definição e Características Gerais

Genericamente, biofilmes são comunidades microbianas sésseis aderidas a superfícies rígidas. Biofilmes microbianos estão envolvidos em diversos fenômenos ambientais e médicos. Por exemplo, biofilmes microbianos estão implicados na redução da vazão de tubulações das redes de água e esgoto, aquários e catéteres, (DUPONT, 1997; SHEARER, 1996).

O biofilme dental, também denominado placa dental, é como uma comunidade microbiana bem organizada formada sobre as superfícies rígidas dentárias. O biofilme dental microbiano apresenta uma matriz extracelular formada por componentes produzidos pelos próprios microrganismos, que interage com componentes presentes na saliva (MARSH, 1991).

A comunidade microbiana de um biofilme dental maduro envolve interações celulares intra e interespécies e gêneros, as quais são relativamente estáveis. A matriz extracelular do biofilme apresenta canais fluídicos que conduzem o fluxo de nutrientes, metabólitos secretados, enzimas, oxigênio, sais e compostos orgânicos. As microcolônias têm micro desenvolvimentos com diferentes pHs, variações na concentração de nutrientes e na concentração de oxigênio. As bactérias que formam o biofilme apresentam mecanismos de comunicação através de sinais químicos. Esses sinais estimulam as bactérias a produzir proteínas e enzimas importantes para a adaptação fisiológica bacteriana às diferentes condições ambientais às quais o biofilme está exposto. Assim os biofilmes se comportam com um tecido organizado, sendo capazes de se adaptar mais facilmente a diferentes condições de estresse ambiental (Costerton et al., 1994). Segundo MARSH e BRANDSHAW (1997), as propriedades básicas do biofilme são: (1) Comunidade cooperativa formada por diversos tipos de bactérias; (2) Microorganismos arranjados em microcolônias; (3) As microcolônias estão arranjadas e protegidas por matriz; (4) Dentro das microcolônias existem grupos em

diferentes graus de desenvolvimento; (5) Os microorganismos possuem um sistema de comunicação primitivo; (6) Microorganismos no biofilme são resistentes a antibióticos, antimicrobianos e resposta do hospedeiro, além do controle físico.

6.2 Diversidade Microbiológica do Biofilme

O biofilme, assim como a cavidade bucal, possui uma diversidade enorme de microorganismos. Estes podem se dividir em aeróbios (vivem bem na presença de oxigênio), anaeróbios facultativos (vivem bem na presença ou na ausência de oxigênio) e anaeróbios estritos (vivem bem na ausência de oxigênio). Podem também ser divididos de acordo com a coloração apresentada, quando em esfregaços, em Gram-positivos (Roxos) e Gram-negativos (avermelhados). Na coloração de Gram, o esfregaço é recoberto com um corante básico púrpura, geralmente o violeta de genciana. Essa fase é chamada de coloração primária. Após um curto período, o corante púrpura é lavado e o esfregaço é recoberto com iodo, um mordente. Quando o iodo é lavado, ambas as bactérias gram-positivas e gram-negativas aparecem em cor violeta escuro. A seguir, lava-se a lâmina com uma substância descolorante, que pode ser álcool ou solução de álcool-acetona, que remove a púrpura das células de algumas espécies e de outras não. O álcool é lavado e a lâmina é corada com safranina, um corante básico vermelho. O esfregaço é, então, lavado, seco com papel e examinado microscopicamente. As células gram-positivas retêm o corante púrpura por ter uma quantidade maior de peptidoglicano na sua parede celular. Já as gram-negativas, por não reterem o corante violeta, se descoram novamente com a lavagem do álcool e se coram novamente com a safranina. Como as gram-positivas já estão coradas com o violeta, estas não se coram com a safranina, permanecendo violeta (TRABULSI et al., 1999).

O biofilme é academicamente classificado em supragengival e subgengival. O biofilme supragengival está localizado acima do sulco da gengiva marginal, enquanto que o biofilme subgengival localiza-se na região do sulco gengival. A composição microbiana do biofilme supra e subgengival difere no tipo e/ou proporção de espécies

bacterianas, pois estas áreas estão sujeitas a diferentes condições ambientais, como por exemplo, exposição ao oxigênio, componentes salivares, componentes do fluido crevicular, disposição de nutrientes. As espécies bacterianas comumente detectadas no biofilme (supra e subgengival) são *S. sanguis*, *S. oralis*, *S. mitis* biovar 1 e 2, *S. gordonii*, *S. salivarius*, *Actynomices naeslundii*, *Actynomices odontolyticus*, *Neisseria* sp., *Lactobacillus* sp., *Veillonella* sp, *Prevotella* sp, *Haemophilus*, *Fusobacterium* sp., *Eubacterium* e *Bacteróides* (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995).

6.3 Desenvolvimento do Biofilme

O desenvolvimento do biofilme pode ser dividido em dois estágios principais: (1) Uma fase inicial, reversível, envolvendo interação físico-química entre a superfície de um microorganismo e a película que recobre o esmalte, através de forças de Van der Waals, interações eletrostáticas e hidrofílicas; (2) E uma fase de acúmulo, irreversível, envolvendo interações moleculares específicas entre as superfícies dos microorganismos e a película, como por exemplo, adesinas bacterianas se ligando por um manejamento estéreoquímico específico a receptores ou moléculas complementares (Fig. 1); que tem ainda mais duas fases subseqüentes: (3) A aderência de microorganismos às células já fixadas. Esse processo também envolve interações moleculares específicas (lectinas), mas entre componentes nas superfícies de cada célula, e é definido como co-agregação e; (4) Acúmulo e multiplicação dos microorganismos fixados, conduzindo eventualmente ao crescimento confluyente e ao desenvolvimento do biofilme através de produção de polissacarídeos extracelulares, que contribuem para a estrutura do biofilme (MARSH, 1991).

Biofilmes expostos a altas concentrações salivares de minerais como cálcio e fosfato, podem ser mineralizados sob condições de supersaturação de minerais formando o cálculo dentário (LOESCHE, 1993; THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995).

6.3.1 Fase Inicial

Essa fase é formada basicamente pela interação dos colonizadores primários com a película adquirida, por meio de interações inespecíficas ou específicas. As interações inespecíficas ocorrem da seguinte forma: o esmalte possui sua superfície com força de atração negativa devido aos grupos fosfatos que formam a hidroxiapatita. A essa superfície, se forma uma camada composta por íons Cálcio, chamada camada de hidratação, que possui força de atração positiva. Somente depois de constituída essa camada é que se forma a película adquirida, com força de atração negativa. A partir desse ponto as bactérias começam a se aderir de acordo com as forças de atração que apresentam (precisam ser positivas). As interações específicas, como dito, ocorrem através de adesinas que se ligam a receptores específicos para cada tipo, como mostra a Figura 2.

6.3.2 Fase de Acúmulo

A fase de acúmulo é a fase onde os microorganismos interagem, entre si. Nesta fase, microorganismos não capazes de interagir com componentes da película adquirida podem se aderir através da interação com a superfícies celular de microorganismos aderidos as primeira camadas, os colonizadores primários.

Os diversos mecanismos envolvidos na fase de acúmulo microbiano no biofilme podem ser divididos em:

- 1) Adesão e co-adesão: adesinas de novos microorganismos se ligam a receptores da superfície celular dos microorganismos que forma as primeiras camadas de biofilme.
- 2) Agregação e co-agregação: no primeiro caso, são grupos de varias bactérias da mesma espécie que se unem para se ligar ao biofilme e no segundo, é a junção de varias espécies bacterianas para formar um grupo que irá se ligar ao biofilme.

- 3) Acúmulo microbiano através da divisão celular de microrganismos que encontram-se aderidos ao biofilme.
- 4) Acúmulo através da produção de uma matriz extracelular pegajosa de polissacarídeos extracelulares. (Vide item 6.4.2.1).

6.3.3 Dinâmica da Sucessão Microbiana

Conforme o biofilme vai se formando, diversas mudanças são notadas. Com o aumento da quantidade de matriz, as camadas mais internas (mais próximas do esmalte) apresentam menor quantidade de nutrientes e de oxigênio, tornando essas áreas ideais para microrganismos anaeróbios. Além disso, há uma diminuição do pH devido a um aumento da formação de produtos metabólicos. Essa condição confere maiores danos à superfície do dente e proporciona também seleção bacteriana, visto que aquelas que forem menos tolerantes a este novo meio ácido, não terão lugar entre as colônias. As bactérias altamente tolerantes a baixos pH são denominadas acidúricas (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995).

Dentre as modificações bacterianas no meio, podem ser citadas: *S. mutans* e *Lactobacillus* produzem ácido láctico diminuindo o número de *S. sanguis* e *S. oralis* favorecendo o aumento de *Veillonella sp.* Várias espécies de estreptococos, através de H_2O_2 , favorecem a colonização de anaeróbios (periodontopatogênicos) pela retirada de oxigênio do ambiente. Finalmente, os *S. mutans*, por meio de bacteriocinas, produzem um espectro de ação seletivo para outras bactérias.

Nesse momento, existe uma competição por nutrientes no biofilme, forçando as bactérias a terem um mecanismo eficiente de transporte intracelular de açúcares e a produzirem polissacarídeos intra e extracelulares como modo de reservar nutrientes (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995).

6.4 Sucessões Bacterianas

Para que as bactérias e outros microrganismos permaneçam em seus habitats e possam se desenvolver, precisam criar mecanismos de aderência, específicos ou não, para cada tipo de superfície existente na boca. Essa especificidade permite que as bactérias se localizem em superfícies associadas a ambientes favoráveis. Essas superfícies podem ser os tecidos moles, como mucosa jugal e gengiva, que por sofrerem descamação aumentam a dificuldade de adesão, exigindo das bactérias meios ainda mais específicos de adesão; nesses casos as bactérias frequentemente se apresentam em monocamadas. Por outro lado, as superfícies duras, representadas por dentes e superfícies radiculares expostas, por não apresentarem essa propriedade de descamação, não exigem tanta especificidade para adesão na superfície. Entretanto, as bactérias desenvolveram meios de se aderirem umas às outras, possibilitando a formação de várias camadas, o que torna a conformação do biofilme nessas superfícies ainda mais forte (KOLENBRANDER et al., 1993).

A microbiota de um habitat se desenvolve através de uma série de estágios que podem ser definidos pelo termo colonização. A colonização é um processo complexo que envolve a interação entre as bactérias e seu ambiente e também entre elas próprias (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995).

As populações de bactérias que ocupam nichos similares na comunidade competem umas com as outras e a mais adequada ao nicho se tornará dominante em relação às outras populações. À medida que a comunidade se desenvolve o ambiente e os nichos mudam suas características, a composição bacteriana da comunidade também muda. Estas alterações ecológicas medeiam o processo de sucessão microbiana e podem ser divididas em dois tipos:

- (1) Autogênico, quando novas condições ambientais são geradas como resultado da atividade da comunidade bacteriana preexistente,
- (2) Alogênico, quando as alterações ambientais são provocadas por mudanças no ambiente externo à comunidade microbiana.

A sucessão está associada a aumentos na diversidade das populações na comunidade e esse aumento continua até que a comunidade esteja em equilíbrio com seu ambiente. Essa comunidade adaptada é definida como comunidade clímax e, geralmente sua composição será relativamente estável. Entretanto, em ambientes instáveis e sujeitos a alterações constantes, é improvável que as comunidades clímax existam, exceto em áreas localizadas do habitat que possam ser protegidas (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995).

6.4.1 Colonizadores Primários

Os colonizadores primários são aqueles que possuem a capacidade de se aderirem ao esmalte, interagindo com a Película Adquirida, por vias inespecíficas e principalmente específicas, proporcionando receptores para outras bactérias não capazes de interagir com componentes da película adquirida, tais como *S. sanguis*, *S. mitis*, *S. oralis*, *S. gordonii*, *Haemophilus sp*, *Veillonella sp*, e *Neisseria sp*. Portanto, essa etapa é constituída principalmente por bactérias aeróbias e anaeróbias facultativas. *Actinomyces naeslundii* e *Actinomyces viscosus* não dependem de sacarídeos para adesão, pois se ligam a proteínas ricas em prolina e estaterina (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995).

6.4.1.1 Interações com a Película Adquirida

As interações dos colonizadores primários com a película adquirida podem ser de duas formas: (1) Inespecíficas, onde ocorrem por ligações eletrostáticas (hidrofóbicas) e ligações de Van Der Waals entre as bactérias (que devem ter força de atração positiva) e a película adquirida (que tem força de atração negativa); e (2) Específicas, que ocorrem através de adesinas, que são proteínas da superfície celular bacteriana. Cada tipo de adesina age em certo componente da película adquirida e é característica de um grupo de microorganismos (Tabela 1).

6.4.2 Colonizadores Secundários

Diferentemente dos colonizadores primários, os secundários não podem se aderir à película adquirida. Entretanto, essas bactérias sintetizam adesinas que reconhecem receptores na superfície dos colonizadores primários.

Esses colonizadores são freqüentes a partir da chamada fase de acúmulo do biofilme. Deve-se considerar a partir daqui uma certa divisão das bactérias aderidas: colonizadores primários e secundários, aeróbios e anaeróbios. Nesse ponto uma bactéria desempenha um papel decisivo na junção dos dois grupos – o *Fusobacterium nucleatum*. Surpreendentemente, o grupo *fusobacteria* não demonstra co-agregação dentro do próprio gênero (o que ocorre largamente entre espécies de estreptococos colonizadores primários). O gênero *Fusobacteria* não é achado freqüentemente nas primeiras 12 horas depois que os dentes foram limpos. Entretanto, estão entre as bactérias mais freqüentemente isoladas na placa em sítios saudáveis (KOLENBRANDER et al., 1993).

Ainda segundo KOLENBRANDER, o *Fusobacterium* é tido como uma ponte entre os colonizadores primários e secundários. Os colonizadores primários se co-agregam muito entre si e com o *F. nucleatum*. Colonizadores secundários, como o *Selenomonas fueggei* não se ligam com os primários, e ao invés disso, se ligam quase que exclusivamente com o *F. nucleatum*.

6.4.2.1 Polissacarídeos Extracelulares

Os polissacarídeos extracelulares são polímeros de açúcares, de grande tamanho molecular, produzidos extracelularmente pela ação de enzimas secretadas pelas bactérias (BANAS & VICKERMAN, 2003). Os polissacarídeos extracelulares formam parte da matriz celular do biofilme e o fortalecem mecanicamente,

possibilitando que ele resista às forças de limpeza, facilitando tanto a retenção quanto a sua agregação na superfície do dente (VAN HOUTE et al., 1989). Diversos tipos de polissacarídeos extracelulares são produzidos por diferentes espécies bacterianas da placa dental e diferem quanto à composição e solubilidade em água.

1) Composição:

-polímeros de glicose: Também chamado de glicana ou dextrana, é um homopolímero constituído de unidades de glicose unidas por ligações $\alpha(1\rightarrow6)$ e produzido no biofilme por ação da glicosil transferase bacteriana sobre a sucrose. Possuem também uma alta proporção de $\alpha(1\rightarrow3)$.

-polímeros de frutose: comumente conhecido como levana ou frutana, é um homopolímero formado pela frutossiltransferase, atuando sobre a sucrose como um substrato. Esse polímero é feito de unidades de frutose unidas por ligações $\beta(2\rightarrow6)$ (MENAKER et al., 1984).

- Heteropolissacarídeos: geralmente são similares aos que compõem as cápsulas ou as camadas limosas extracelulares (VAN HOUTE et al., 1989)

2) Solubilidade em água.

- Solúveis em água: os polímeros de frutose – frutana e levana – são solúveis em água e podem ser degradados por bactérias do biofilme, freqüentemente desaparecendo do mesmo após ter sido sintetizado, constituindo assim um reservatório de açúcares fermentáveis para a flora oral.
- Insolúveis em água: Em geral, os polímeros derivados da glicose, como a glicana e a mutana (glicana sintetizada especificamente por estreptococos do grupo Mutans) são insolúveis em água e ao contrário dos polímeros de frutose, são altamente resistentes à ação enzimática hidrolítica, pois geralmente formam ligações cruzadas [$\alpha(1\rightarrow3)$ e $\alpha(1\rightarrow6)$] (MENAKER et al., 1984).

6.5 Fatores que Influenciam na Formação do Biofilme

6.5.1 Fatores do Hospedeiro

A comunidade microbiana da cavidade bucal é limitada por diversos mecanismos de defesa do hospedeiro.

O hospedeiro possui diversas características que exercem influência positiva ou negativa, na colonização por diferentes microorganismos. As superfícies dentais não descamativas são regiões que beneficiam a aderência e desenvolvimento da biofilmes microbianos, principalmente nas regiões interproximais e sub-gengivais, que estão protegidas de forças físicas e fluxo salivar, propiciando abrigo para maiores concentrações de bactérias. Restaurações com defeitos nas margens fornecem áreas protegidas que também favorecem a colonização (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995).

Outro fator a se considerar é a saliva. A saliva apresenta diversos componentes que influenciam na aquisição e composição da microbiota bucal e na composição e fisiologia do biofilme (tabela 2). A saliva exerce grande influência sobre a manutenção do equilíbrio dos ecossistemas bucais. Ela interfere na composição da microbiota bucal através de fatores de defesa inespecíficos (inatos) e específicos (adaptativos), os quais influenciam no processo competitivo entre diversos microorganismos para a colonização e estabelecimento na boca. Diversos componentes salivares estão envolvidos neste processo e interferem nos diferentes estágios de formação da microbiota (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995).

O primeiro estágio da colonização envolve a aderência às superfícies e sofre grande impacto da ação salivar, pois a maior parte dos componentes da película adquirida são originários da saliva. Assim, a saliva adsorvida às superfícies dentárias oferece receptores para a adesão de bactérias específicas. Outra função que também tem papel na colonização inicial é a atividade de limpeza salivar, que pode eliminar

bactérias invasoras, através de proteínas que as aglutinam e as tornam facilmente deglutidas, e de componentes com ação antimicrobiana inespecíficos sintetizados por células do próprio hospedeiro.

Dentre as propriedades físico-químicas da saliva, pode-se destacar que ela: 1) age como lubrificante, prevenindo o desgaste prematuro do esmalte durante a mastigação; 2) reduz a velocidade de desmineralização provocada por ácidos e bebidas; 3) age como membrana semipermeável, reduzindo a mobilidade de íons (propriedade importante na prevenção da desmineralização subsuperficial de lesões incipientes); 4) forma a superfície para a colonização bacteriana (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995).

A saliva também contém íons de cálcio, fosfato e flúor que participam do processo de desmineralização e remineralização do esmalte, componentes tamponantes (ex. tampão bicarbonato) (SCHENKELS et al., 1995).

Através de sua capacidade de modular o pH do ambiente da placa, a saliva exerce um papel importante no controle das comunidades bacterianas. A capacidade tampão da saliva é responsável pela neutralização dos ácidos formados após a ingestão de sacarose (e outros carboidratos) e aumenta à medida que seu fluxo salivar se eleva, o qual é o fator mais importante na alteração da composição salivar (Schenkels et al., 1995). A diminuição do fluxo salivar é importante causa de ataque de cárie rápido, portanto deve-se atentar para as causas medicamentosas e fisiológicas que possam provocar esse transtorno (KIDD & JOYSTON-BECHAL, 1987);

A saliva também exerce um papel muito importante no controle das comunidades bacterianas desenvolvidas, através do suprimento de nutrientes (BEIGHTON et al, 1988; De JONG & VAN DER HOEVEN, 1987). As bactérias do biofilme podem utilizar glicoproteínas salivares, aminoácidos, carboidratos, certas vitaminas e sais inorgânicos. Existe um grau de seletividade no uso dos nutrientes, visto que algumas bactérias não podem hidrolisar as mucinas salivares. Os nutrientes da dieta em solução na saliva também são utilizados pela microbiota bucal (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995).

Alguns fatores antibacterianos influenciam nas comunidades bacterianas desenvolvidas. Os fatores não específicos incluem a peroxidase salivar, lactoferrina, lisozima, lactoperoxidase e peptídeos ricos em histidina (antibacterianos) (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995; GUEDES-PINTO, 2003). A lisozima associada a determinados ânions (tiocianato, perclorato, iodo, bromo, nitrato, cloro, flúor e bicarbonato) pode desestabilizar a parede celular bacteriana por meio da ativação de autolisinas. A lactoferrina é uma glicoproteína que se liga ao ferro, o qual é um nutriente necessário para o metabolismo bacteriano. O sistema lactoperoxidase, envolve a enzima lactoperoxidase e os íons tiocianato, ambos componentes presentes no leite, saliva e outras secreções. A lactoperoxidase cataliza a reação de oxidação do íon tiocianato (SCN^-) pelo peróxido de hidrogênio em hipotiocianato (OSCN^-). Estes íons interferem no transporte intracelular da glicose por diversas bactérias, inibindo a glicólise. Este sistema também interfere no transporte de íons potássio, aminoácidos e peptídeos exercendo ação antimicrobiana contra uma série de bactérias e fungos, oxidando o íon tiocianato salivar (com peróxido de hidrogênio produzido por bactérias) a hipotiocianato e ácido hipotiocianoso. Esses produtos, por sua vez, oxidam enzimas envolvidas na glicólise (MENAKER et al., 1984).

A saliva contém IgA secretora derivada das glândulas salivares, assim como IgG e IgM provenientes do soro, cujo exsudato no sulco gengival compõe o fluido crevicular (BRANDTZAEG & TENOVUO, 1989); (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995). Essas imunoglobulinas fazem parte do sistema de imune específico. A IgA é a imunoglobulina predominante na saliva (ROITT et al., 1999). As IgAs são produzidas por plasmócitos de células B nos tecidos linfóides associados às mucosas e seu componente secretor tem origem das células epiteliais (ROITT et al., 1999). Dentre suas características pode-se citar: são resistentes às enzimas proteolíticas; promovem a neutralização de bactérias e toxinas e bloqueio da adesão e aglutinação bacteriana nos tecidos; produz baixa indução da resposta inflamatória (menor ativação do sistema complemento); e serve de transporte de IgA através das mucosas e glândulas (ROITT et al., 1999). IgAs específicas a adesinas bacterianas, podem, por exemplo, bloquear estas moléculas de superfície inibindo sua aderência ao sítio de colonização.

As bactérias presentes em áreas mais profundas do biofilme, perto da superfície do dente, estão menos expostas aos componentes da saliva do que as que estão em camadas mais superficiais. A placa dental supragengival sofre maior interferência dos componentes imunes da saliva total, enquanto que placa subgengival está em maior contato com o exudato do sulco gengival, denominado de fluido crevicular. Esse fluido, cujo volume depende do estado de inflamação da gengiva, é composto de exsudato do soro e líquido tecidual. Assim o fluido crevicular apresenta imunoglobulinas produzidas localmente (IgG, IgM, IgA), componentes do sistema complemento, citocinas e componentes celulares do sistema imunológico (por exemplo neutrófilos e linfócitos), que se movem para o sulco gengival e são encontrados no fluido gengival (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995).

O fluido gengival também possui nutrientes para o biofilme. Ele é rico em proteínas do soro e fatores de crescimento, tais como hemina, menadiona e os hormônios como estradiol e progesterona, que junto com seu elevado pH, favorecem o crescimento de microorganismos assacarolíticos com as *Porphyromonas* e os *Treponemas* (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995).

6.5.2 Fatores Externos ao Hospedeiro

A dieta, com suas características determinada pela composição química, consistência física e frequência, podem exercer grande influência no desenvolvimento e composição do biofilmes dentário.

Muitos componentes da dieta, principalmente os com alto peso molecular são mais dificilmente metabolizados pelos microorganismos, pois permanecem por um período muito curto na cavidade bucal. Os alimentos fibrosos podem ainda participar da remoção mecânica de biofilmes desenvolvidos sobre nas superfícies dentárias expostas. Entretanto, em superfícies retentivas e menos expostas ao fluxo salivar e forças matigatórias, até mesmo os alimentos com alto peso molecular podem ser

retidos e servir como fonte potencial de nutrientes para o biofilme. Carboidratos como a sacarose, glicose e lactose na dieta alimentar, facilmente se difunde no biofilme e são imediatamente metabolizados pelas bactérias orais. A consistência e frequência da ingestão de alimentos são importantes fatores que contribuem para a disponibilidade dos carboidratos de baixo peso molecular presentes nos alimentos, para a microbiota do biofilme. Geralmente, os alimentos líquidos, como os sucos de frutas, são deglutidos rapidamente e ficam menos disponíveis para as bactérias, em comparação com os alimentos pastosos retidos às superfícies bucais, ficarão disponíveis para o metabolismo bacteriano durante longos períodos de tempo (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995).

A remoção mecânica do biofilme dental através dos procedimentos de higiene bucal, desaloja a comunidade do mesmo, que depois tem que sofrer sucessão secundária. Em geral, isto resulta em biofilmes menos espessos e portanto mais acessíveis às saliva, portanto sob alterações menos duráveis do pH. Assim, a desorganização física do biofilme limita a desmineralização inicial do esmalte, e interfere na fisiologia do biofilme dentário (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995).

6.5.3 Fatores Microbianos

Existem inúmeros mecanismos complexos de competição microbiana durante o estabelecimento de uma comunidade em equilíbrio dinâmico. Entre estes, há modificação do meio extracelular pela secreção de metabólitos microbianos, disputa por nutrientes, sítios de adesão e utilização de sistemas de sinalização inter-celular.

Uma alta proporção de bactérias do biofilme metaboliza os carboidratos da alimentação para produzir vários ácidos orgânicos, provocando uma queda do pH ambiental. Os ácidos presentes no biofilme em repouso estão misturados e incluem o acético, butírico e propiônico com pouco ácido láctico (GEDDES, 1975). Quando há predomínio de microrganismos fermentadores de açúcar na placa dental, o consumo de açúcares como a glicose e sacarose, promove rápida produção de ácido láctico,

levando a uma rápida queda no pH do biofilme, o qual atingem valores inferiores a 5,5, os quais promovem desmineralização do esmalte dentário (GEDDES, 1975). A influência da composição da placa dental no desenvolvimento da cárie dentária foi demonstrada há muito tempo por Stephan et al., em 1944. Estes pesquisadores selecionaram pacientes que eram livres de cáries e cáries-inativos, os quais foram instruídos a não escovarem os dentes por três a quatro dias antes da medição do pH na superfície vestibular dos dentes anteriores da mandíbula e maxila. As leituras de pH eram obtidas antes de bochecharem uma solução de glicose a 10% durante 2 minutos, e a intervalos de 5 minutos após os bochechos até que os de pHs retornassem aos valores iniciais. Em todas as situações, houve uma queda rápida do pH, indicando que a glicose era instantaneamente convertida a ácido pelas bactérias do biofilme. A rapidez e a magnitude dessa produção de ácidos obviamente sobrepõem a capacidade tampão disponível de saliva. Os baixos valores persistiram por períodos variáveis. Na placa dental dos indivíduos cárie ativos, os pH mantiveram-se baixos durante 60 minutos ou mais, após a expectoração da solução de glicose. Isto demonstrou que os tampões salivares eram inadequados na neutralização dos ácidos do biofilme e que o ácido estava sendo produzido continuamente no mesmo. Esta última possibilidade foi sugerida pela queda continuada do pH nos indivíduos extremamente cárie-ativos (STEPHAN, 1944; LOESCHE, 1993).

Ao contrário dos microrganismos associados à cárie dental, outros microrganismos que também podem compor o biofilme dentário podem reduzir a duração das quedas de pH da placa dentária através de mecanismos de neutralização de ácidos produzidos pela fermentação de carboidratos. Estes microrganismos normalmente têm baixa tolerância a ácidos e incluindo, por exemplo, estreptococos do grupo *sanguis* e *Actinomyces naeslundii*. Entre os mecanismos utilizados para alcalinização da placa dental, está a produção de amônia, base forte que reduz as concentrações de íons H^+ . A amônia pode ser produzida a partir da hidrólise de uréia presente na saliva pela ação de enzimas bacterianas, as uréases (REYNOLDS & RILEY, 1989; THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995).

Estes microrganismos metabolizam o ácido láctico (lactato) gerando propionato, acetato, dióxido de carbono e gás hidrogênio, o que eleva o pH ambiental. Outros microrganismos utilizam o ácido láctico como fonte de energia e incluem os gêneros *Veillonella*, *Neisseria*, *Eubacterium* e *Propionibacterium*. (REYNOLDS & RILEY, 1989).

A uréia está presente na saliva em concentrações de variam de 3 a 10mM na saliva e fluido crevicular de indivíduos saudáveis, podendo atingir níveis mais elevados em pessoas com disfunção renal, podendo atingir concentrações superiores a 50mM. Certas bactérias, como o *S. salivarius*, *S. Vestibularis* e *Actinomyces* sp. produzem urease, que convertem uréia em amônia. A predominância de microrganismos produtores amônia na placa dental parece ocorrer em indivíduos com baixo índice de cárie. Além disso, indivíduos jovens com deficiência renal, parecem ser resistentes ao desenvolvimento da cárie dentária independente das quantidades de biofilme e da ingestão de uma dieta cariogênica (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995).

Algumas bactérias da cavidade bucal armazenam polissacarídeos intracelulares, os quais funcionam como reservas de substrato metabolizados durante períodos intracelulares semelhantes ao glicogênio, à semelhança do que fazem muitos outros microorganismos. Os polímeros de glicose são formados quando há carboidratos em excesso e são utilizados para manter a energia quando não existem fontes exógenas. Este processo metabólico pode, portanto, contribuir para a produção de ácido na placa durante períodos relativamente longos (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995).

Os sítios de adesão interferem fisicamente na colonização, pois lugares mais expostos a ações mecânicas da musculatura, e fluxo salivar, como faces lisas vestibulares e linguais dos dentes, têm mais dificuldade em se manterem estáveis (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995). Os biofilmes dentários variam em composição e extensão de dente para dente e de superfície para superfície (LISTGARTEN, 1976; ROSAN & LAMONT, 2000).

A sofisticação estrutural dos biofilmes sugere que essas comunidades devem ser reguladas por sinais análogos aos hormônios e ferormônios que regulam comunidades

eucarióticas multicelulares (DAVIES et al., 1998). As células do biofilme usam sistemas de sinalização intercelular, os quais regulam alterações fenotípicas (COSTERTON et al., 2003). A maior resistência a antibióticos e agentes antimicrobianos das bactérias organizadas em biofilmes em comparação com bactérias livres em fase planctônica ocorre porque a fisiologia das bactérias em biofilme diferem radicalmente das planctônicas (COSTERTON et al., 2003). Assim, a resistência a antimicrobianos não é resultado apenas de uma limitação na difusão destes para o interior dos biofilmes (SUCI et al., 1994), mas sim atributo de alterações nas características celulares (STEWART, 1996).

6.6 Alterações do Ambiente do Biofilme Dentário Relacionadas a Formação de Um Biofilme Cariogênico

Segundo KEYES (1962), a doença cárie é uma doença crônica, de natureza multifatorial que somente se desenvolve quando há a presença concomitante de três fatores etiológicos: (1) hospedeiro susceptível; (2) microbiota dente-cariogênica e (3) substrato para os microrganismos. Estes três fatores são chamados de fatores etiológicos primários. A figura 3 ilustra a natureza multifatorial da doença cárie representada pela intersecção dos fatores microbiota, substrato e hospedeiro. Um quarto fator, o tempo, é considerado essencial, pois é necessário para que haja a formação e maturação do biofilme e conseqüente desmineralização do esmalte e/ou dentina pela formação de ácido. Essa doença caracteriza-se como uma doença infecciosa biofilme-dependente.

6.6.1 Fatores do Hospedeiro

A importante função que a saliva exerce na manutenção do equilíbrio saudável entre os tecidos do hospedeiro e a microbiota bucal fica evidente quando a produção de saliva está comprometida. Reduções no índice de secreção diminuem a influência de controle da saliva sobre a microbiota bucal resistente. As forças mecânicas da saliva e

a lubrificação são reduzidas, aumentando o tempo de retenção do alimento na boca. A retenção do alimento e redução do efeito tampão da saliva faz surgir ambientes com pH mais baixo no biofilme que persistem durante longos períodos. Esses ambientes com pH baixo favorecem as bactérias acidúricas como *S. mutans* e colocam o tecido do dente sob maiores períodos de desmineralização. Este fenômeno é observado melhor em pacientes com xerostomia (BROWN et al., 1983).

A redução de saliva também significa a diminuição dos fatores de defesa inespecíficos e específicos. A contribuição para o aumento das lesões cariosas causada pela redução dos fatores antibacterianos na saliva, tendo em vista a diminuição de suas atividades de limpeza mecânica e neutralização dos ácidos, não é conhecida, particularmente porque com baixa secreção salivar os componentes individuais não podem ser separados com facilidade.

6.6.2 Fatores Externos ao Hospedeiro

A dieta é um dos fatores externos que mais influencia na composição da microbiota bucal e conseqüentemente na saúde dos dentes. A dieta é a fonte da maioria dos carboidratos disponíveis para as bactérias do biofilme, particularmente glicose e sacarose (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995).

6.6.3 Fatores Associados ao Biofilme Dental

A produção de ácido pelas bactérias acidogênicas e acidúricas do biofilme dental é um pré-requisito essencial para o desenvolvimento das lesões da cárie. Os fatores que estimulam o predomínio dos microrganismos cariogênicos em áreas localizadas do biofilme contribuem para o risco de cárie. Ausência de saliva, aumento da ingestão de carboidratos e outras influências não muito bem definidas, como a quantidade de bases liberadas, contribuem para a diminuição do nível de pH no ambiente do biofilme. Isto fornece uma vantagem aos odontopatógenos, distanciando o

equilíbrio ecológico da saúde. Além disso, a produção excessiva de polissacarídeos extra e intracelulares, que também podem ser resultantes do alto consumo de carboidratos, contribui para uma situação patogênica (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995).

Um aspecto de produção de ácidos pelo biofilme bacteriano, que também pode influenciar as lesões cariosas, são os tipos de ácidos resultantes. Como já foi dito, existem ácidos diferentes no biofilme em repouso comparados ao biofilme que foi exposta aos carboidratos. Os ácidos do biofilme em repouso são principalmente aqueles com pK elevado, em comparação com o ácido láctico com pK mais baixo. Foi demonstrada uma correlação positiva entre os baixos níveis de pH do biofilme, os ácidos com pK mais baixos e as cáries. Todavia, certas áreas localizadas no biofilme provavelmente possuem proporções diferentes de ácidos orgânicos e a desmineralização podem ser resultantes da interação entre os dentes e os diferentes ácidos. Quanto a isso, o ácido acético mostrou ter alguma significância (DODDS & EDGAR, 1988). Embora o ácido acético possua nível de pK alto ele penetra ativamente no esmalte nos modelos de sistemas *in vitro* (GEDDES et al., 1984). O ácido acético existe no biofilme abundantemente e um estado associado (HA) e acredita-se que tais ácidos associados não carregados se difundam através da interface placa-esmalte que se apresenta carregada, com mais rapidez do que os ácidos dissociados. Quando tais ácidos associados atingem uma área com pH relativamente alto nas lesões de esmalte, podem se dissociar e contribuir para uma desmineralização maior (HARPER et al., 1986).

Quanto aos polissacarídeos extracelulares, os polímeros insolúveis são considerados os mais importantes, sendo responsáveis por grandes quantidades de biofilme "adesivo". Os animais de laboratório utilizados para comparar a cariogenicidade dos diferentes carboidratos da dieta mostraram que aqueles alimentos com sacarose e colonizados por *S. mutans* desenvolveram muito mais lesões cariosas em superfícies lisas do que os animais similares que tiveram dieta rica em frutose, glicose ou lactose. Embora, várias bactérias além dos *S. mutans* encontrados no biofilme como os *S. sanguis*, *S. mitis*, *S. gordonii* e *Actinomyces sp.*, passam produzir glicanos extracelulares

a partir da sacarose, a formação de polímeros insolúveis está mais associada à presença de *S. mutans* (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995).

Durante períodos de excesso de nutrientes, são formados polímeros intracelulares semelhantes ao glicogênio por membros do gênero *Streptococcus*, incluindo o *S. mutans*, assim como pelos *Actinomyces* e *Lactobacillus*. Durante os períodos em que o suprimento de nutrientes é baixo, os polissacarídeos intracelulares podem ser hidrolisados para produção de energia (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995).

6.7 Características do Biofilme Supra e Subgengival

Conforme a matriz do biofilme cresce, ocorrem diversas mudanças na composição microbiológica do mesmo. O biofilme supra-gengival sofre variação de acordo com tipo de superfície em que se encontra – lisas, oclusais e proximais. Na superfície oclusal permanecem microorganismos com menor afinidade à película adquirida, como *S. mutans* e *Lactobacillus sp*; Nas superfícies lisas, encontram-se mais facilmente microorganismos com maior afinidade à película adquirida, como *S. sanguis*. As superfícies situadas nas regiões proximais têm características semelhantes as das superfícies lisas (UZEDA, 2002).

O biofilme sub-gengival possui menor acesso da saliva, evitando sua remoção mecânica e com predominância de microorganismos anaeróbios gram-positivos. Conforme a gengiva passa de uma condição normal para uma condição de gengivite e posteriormente para doença periodontal, as características gerais passam do biofilme supra para o subgengival, com predominância de *Streptococcus sp* e *actinomyces sp* inicialmente e posteriormente de *Fusobacterium sp*, *Porphyromonas sp* e *Prevotella sp*, entre outros (UZEDA, 2002).

6.8 Microrganismos Envolvidos no Desenvolvimento da Cárie Dentária

Os principais microrganismos da cárie dentária são os estreptococos do 'grupo mutans' e os *Lactobacilos*, mas podem ser encontradas também algumas espécies de *Actinomyces* e *Veillonella* (KLOCK, & KRASSE, 1979; KOHLER et al., 1981; LOESCHE, 1986).

Os *Lactobacillus* se apresentam como colonizadores de mucosas, aumentando em número na presença de substratos fermentáveis. Dentre as espécies mais comuns da cavidade bucal estão *L. casei*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*, *L. brevis* e *L. fermentum*. Os seus principais fatores de virulência são a alta aciduricidade e acidogenicidade, porém possuem baixa capacidade de adesão à película adquirida (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995).

Porém, os *Streptococcus* do grupo mutans são os mais importantes por apresentar características essenciais para colonização e permanência na superfície do dente. Com relação a desmineralização do dente, esse grupo possui duas características: (1) Acidogenicidade, que é a capacidade de produzir ácidos a partir de açúcares da dieta (como ácido láctico) e (2) Aciduricidade, que é a capacidade de sobreviver em meios ácidos. Essa propriedade favorece esses microrganismos no processo competitivo de colonização dos dentes. Já com relação ao acúmulo no biofilme, são apresentadas mais três características importantes: (1) Capacidade de adesão à película adquirida por meios específicos – adesinas; (2) Formação de polímeros extraclulares, como proteínas de superfície ligantes de glucanos e (3) Produção de polímeros intracelulares, como reserva nutricional (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995).

6.9 Microrganismos Relacionados à Doença Periodontal

De algum modo, as doenças periodontais podem estar dentre as infecções humanas mais peculiares. Segundo LINDHE et al. (1997), a principal razão desta

peculiaridade é a característica anatômica incomum que uma estrutura mineralizada, o dente, passa através dos tecidos, de modo que uma parte deste é exposta ao ambiente externo enquanto outra se encontra no tecido conjuntivo. O dente fornece uma superfície para colonização de uma série diversa de bactérias. As bactérias podem aderir ao próprio dente, às superfícies epiteliais da gengiva ou bolsa periodontal, tecidos conjuntivos subjacentes, se expostos, e a outras bactérias que estejam aderidas a estas superfícies. Com já dito antes, diferentemente das superfícies externas do corpo, as camadas externas do dente não “descamam” e assim é facilitada a colonização bacteriana. Deste modo, estabelece-se uma situação na qual os microorganismos colonizam uma superfície relativamente estável (dente), e são continuamente sustentados em uma imediata proximidade aos tecidos moles do periodonto.

A presença de um dente aumenta a complexidade da relação parasita-hospedeiro em vários aspectos. Bactérias, colonizando o dente, estão em contato íntimo e externamente no corpo onde são menos capazes de ser controladas pelos potentes mecanismos que operam nesses tecidos. O ambiente no interior do biofilme pode ser favorável para a sobrevivência microbiana, mas é menos provável de ser um ambiente particularmente eficaz para o hospedeiro buscar e destruir os microorganismos. Fatores tais como concentração de íons hidrogênio (pH), o potencial de oxi-redução (Eh), e enzimas proteolíticas podem afetar o desempenho dos microorganismos de defesa do hospedeiro. De maneira semelhante, fatores não-celulares do hospedeiro enfrentam barreiras de propagação, enzimas líticas e absorção pela estrutura mineral do dente. O debridamento mecânico além da remoção vigorosa de material dentário não pode alcançar os microorganismos no interior do dente. Agentes quimioterápicos também apresentam dificuldades em atingir os microorganismos.

As doenças infecciosas em um dado órgão são causadas por um ou mais de um relativamente delimitado grupo de patógenos. Além disso, diferentes espécies possuem diferentes especificidades teciduais e causam doenças em diferentes sítios do corpo. De maneira semelhante, as doenças periodontais parecem ser causadas por um grupo

de patógenos periodontais relativamente limitado atuando isoladamente ou em combinação. Tais espécies incluem o *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Bacteróides forsythus*, *Campylobacter rectus*, *Eubacterium nodatum*, *Fusobacterium nucleatum*, *Peptostreptococcus micos*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Streptococcus intermedius* e *Treponema* sp. (HAFFAJEE & SOCRANSKY, 1994).

Portanto, associadamente, as doenças que afetam o dente e as estruturas de suporte apresentam um problema formidável tanto para o hospedeiro quanto para o terapeuta.

6.10 Principais espécies bacterianas encontradas na cavidade bucal

6.10.1 Cocos Gram-Positivos

- *Streptococcus*: Gênero bacteriano predominante na cavidade bucal. Suas células são esféricas ou ovais, medindo 0,5-2,0µm de diâmetro e apresentando-se dispostas em pares ou cadeias, quando cultivadas em meios de cultura líquidos. São imóveis, não-esporulados e, às vezes, encapsulados. São anaeróbios facultativos (podem ser cultivados tanto em aerobiose quanto em anaerobiose), exigindo meios de cultura ricos em nutrientes. São bactérias homofermentativas (produzem apenas um produto final durante a fermentação) produtoras de ácido láctico. Subdividem-se em:
- *Streptococcus salivarius*: estão entre os primeiros colonizadores da cavidade bucal, aderindo-se preferencialmente às células epiteliais da bochecha e dorso da língua. Permanecem na microbiota bucal por toda a vida, independente do estado de saúde bucal do indivíduo. As colônias desenvolvidas com o cultivo desta espécie em meio nutritivo contendo sacarose apresentam um aspecto mucóide característico, devido à

produção de polissacarídeo extracelular (levano, um polímero de frutose) (UZEDA, 2002).

- *Streptococcus sanguis*: Atualmente chamados de “*sanguinis*”, não é reconhecida somente pela sua histórica associação com endocardite bacteriana, mas também devido ao seu papel antagônico que desempenha ao *Streptococcus Mutans*, principal patógeno da cárie dentária (LOESCHE et al., 1975). É a espécie mais freqüentemente isolada da placa dental, principalmente no início de sua formação e das superfícies dentárias não cariadas (UZEDA, 2002). Por causa do seu potencial cariogênico ser baixo se comparado com o dos *S. mutans*, foi sugerido que a razão entre *S. mutans*/*S. sanguinis* pode servir como um indicador para o risco de cárie (LOESCHE et al.1976; LOESCHE et al., 1975). Colônias desenvolvidas em meio de cultura contendo sacarose apresentam uma matriz de polissacarídeos extracelulares (UZEDA, 2002).
- *Streptococcus* do grupo mutans: *Streptococcus mutans* foram identificados pela primeira vez por CLARKE (1924), de material removido de cavidades de cárie de crianças na Inglaterra. Estes estreptococos foram denominados de “mutans”, pois Clarke considerou-os como estreptococos “mutantes”, uma vez que apresentavam uma morfologia de bacilo. Atualmente, os estreptococos do grupo mutans consistem de um grupo de sete espécies distintas relacionadas, todas envolvidas no desenvolvimento da cárie dentária: *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus cricetus*, *Streptococcus rattus*, *Streptococcus ferus*, *Streptococcus downei* e *Streptococcus macacae*. As espécies *S. mutans* e *S. sobrinus* foram isoladas exclusivamente de humanos, os quais podem albergar também a espécie *S. rattus*, originalmente isolada de ratos. *S. ferus*, *S. rattus* e *S. cricetus* foram isolados de roedores, enquanto que *S. macacae* e *S. downei* foram isolados de macacos. Todas as espécies do grupo mutans formam polissacarídeos extracelulares a partir da sacarose, e polissacarídeos intracelulares (amilopectina) a partir de carboidratos fermentáveis. Com

algumas exceções, estas espécies normalmente fermentam manitol e sorbitol, mas não são capazes de fermentar o xilitol (açúcar alcoólico). Em meio de cultura sólidos contendo sacarose, formam colônias típicas rugosas e aderidas ao ágar contendo polissacarídeo extracelular na porção superior (UZEDA, 2002).

- *Streptococcus mitis*: São representantes típicos da microbiota comensal do trato respiratório (HOHWY & REINHOLDT, 2001). Esta espécie é caracterizada pela formação de pequenas colônias puntiformes, geralmente alfa-hemolíticas (hemólise parcial de hemácias); revela capacidade variável de formação de pequena quantidade de polissacarídeo extracelular (glicana) (UZEDA, 2002) e coloniza nos diversos habitats da cavidade bucal humana (UZEDA, 2002; FRANDSEN et al., 1991; Pearce, C. et al.1995; Smith, D. J. et al.1993). Assim como outras espécies de Streptococos, participa da colonização primária do esmalte (NYVAD & KILIAN, 1990) e pode estar implicada nas cáries de mamadeira e de superfícies radiculares (BOWDEN et al., 1999; VAN HOUTE et al., 1994). *S. mitis* também é reconhecido como uma crescente causa de bacteremia (BOCHUD et al., 1998).
- *Streptococcus oralis*, *Streptococcus gordonii*: São espécies comumente detectadas na cavidade bucal de humanos. São anaeróbios facultativos e alfa-hemolíticos que também têm sido isolados da cavidade bucal. Não produzem polissacarídeos extracelulares e a diferenciação destas espécies é difícil, sendo realizada através de testes fisiológicos, bioquímicos e sorológicos (UZEDA, 2002).
- *Streptococcus pyogenes*: Correspondem a estreptococos beta-hemolíticos do grupo A de Lancefield (UZEDA, 2002); NISENGARD & NEWMAN, 1994). Podem ser divididos em grupos sorológicos devido à presença de duas proteínas em sua parede celular – a proteína M e a proteína T (TRABULSI et al., 1999). Não são detectados na cavidade bucal de indivíduos saudáveis. Esta

espécie pode, porém ser freqüentemente detectada em pacientes com quadros infecciosos da orofaringe (faringite, amigdalite). Cepas virulentas de *S. pyogenes* estão associadas à faringite, febre escarlate, impetigo (NISENGARD & NEWMAN, 1994) e produzem toxinas que agem como superantígenos, os quais induzem o sistema imune a produzir citocinas que promovem a síndrome do choque tóxico (UZEDA, 2002).

- *Enterococcus*: As espécies do gênero *Enterococcus* são colonizadores comuns do trato gastro-intestinal de humanos e têm sido encontradas em baixas concentrações na cavidade bucal (UZEDA, 2002). São alfa-hemolíticos. A espécie mais freqüentemente isolada na boca é o *Enterococcus faecalis*. Esta espécie pode estar associada a processos infecciosos nos canais radiculares dentários, por ser mais resistente aos agentes antimicrobianos (UZEDA, 2002).
- *Peptostreptococcus* e *Peptococcus*: Estes gêneros incluem cocos Gram-positivos anaeróbios estritos, apresentando-se dispostos em cadeias longas ou curtas, cachos irregulares, tétrades e dois a dois (UZEDA, 2002). A espécie mais freqüentemente isolada na cavidade bucal é o *Peptostreptococcus anaerobius*, principalmente na placa dental subgengival, em associação ou não com doença periodontal, e de quadros de infecção endodôntica. As espécies *Peptostreptococcus micros*, *Peptostreptococcus Magnus* e *Peptococcus niger* podem ser isoladas na cavidade bucal associadas ou não a processos infecciosos bucais. *P. micros* têm sido isoladas de abscessos e infecções endodônticas (UZEDA, 2002).
- *Staphylococcus* e *Micrococcus*: São gêneros de bactérias anaeróbias facultativas dispostos em cachos irregulares, tétrades ou dois a dois. Não são predominantes na microbiota bucal de indivíduos saudáveis, revelando-se como microorganismos colonizadores da pele e da mucosa da nasofaringe. *Staphylococcus aureus* pode ser isolados na cavidade bucal em indivíduos com faringite, amigdalite, sinusite, osteomielite da face e abscessos

dentários. Essa espécie é considerada a mais patogênica, pela produção de enzimas e toxinas. Cepas desta espécie apresentam ainda resistência a diversos antibióticos (UZEDA, 2002).

6.10.2 Cocos Gram-Negativos

- *Neisseria*: São anaeróbios que se apresentam isolados ou dois a dois (diplococos). Espécies deste gênero colonizam, em baixas concentrações, as mucosas do trato respiratório superior e da cavidade bucal, incluindo o dorso da língua, onde predomina a *Neisseria sicca* (UZEDA, 2002).
- *Veillonella*: São cocos Gram-negativos anaeróbios estritos que se apresentam em arranjo de grandes massas ou de cadeias curtas. As espécies *Veillonella parvula* e *Veillonella alcalescens* colonizam a mucosa do trato respiratório superior e as superfícies da cavidade bucal, revelando-se em maiores concentrações na placa dental supragengival e dorso da língua (UZEDA, 2002). Espécies do gênero *Veillonella* estão associadas a lesões de cárie rampante associadas a bactérias produtoras de ácido láctico, como por exemplo *S. mutans* e *Lactobacillus* sp., uma vez que utilizam o ácido láctico como substrato no seu metabolismo (BOUE et al., 1987; MILNES & BOWDEN, 1985; FOUBERT & DOUGLAS, 1948; JOHNS, 1951).

6.10.3 Bastonetes Gram-Positivos

- *Lactobacillus*: Compreende várias espécies de microorganismos anaeróbios facultativos fermentadores de carboidratos. As espécies homofermentativas (produzem apenas um produto final durante a fermentação) produzem principalmente ácido láctico, como, por exemplo, *Lactobacillus casei* e *Lactobacillus acidophilus*, os quais são freqüentemente isoladas da

cavidade bucal em associação com cavidades de cárie dental. Outras espécies heterofermentativas (produzem diversos ácidos orgânicos, etanol e gás carbônico), como *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus cellobiosus*, *Lactobacillus brevis* e *Lactobacillus buchneri*, também podem ser encontradas na cavidade bucal. As espécies deste gênero são isoladas em baixas concentrações na placa dental supragengival, constituindo menos de 1% da microbiota bucal cultivável. Além de acidogênicas (produtoras de ácidos orgânicos) as espécies deste gênero apresentam crescimento em ambientes altamente ácidos (pH entre 5.0 e 4.0), os quais são dificilmente tolerados pela maioria das outras espécies da cavidade bucal. Por estas características os *Lactobacillus* tem participação na progressão de lesões de cárie. *Lactobacillus* não produz polissacarídeos extracelulares a partir da sacarose, sendo capazes de colonizar apenas as áreas retentivas dos dentes (sulcos, fissuras e regiões interproximais) e cavidades de cárie iniciadas por outros microrganismos, como *S. mutans* (UZEDA, 2002; MILNES & BOWDEN, 1985; MATEE et al., 1992).

- *Actinomyces*: apresentam forma de bastonetes curtos ou de filamentos, podendo apresentar-se isolados, em pares, dispostos em V e Y, ou em paliçada. São anaeróbios facultativos, mas se desenvolvem melhor na presença de gás carbônico, tanto em aerobiose quanto em anaerobiose. Espécies de *actinomyces* são consideradas freqüentes da cavidade bucal e fazem parte da microbiota da placa dental, podendo compreender de 40 a 80% da microbiota cultivável de superfícies dentárias interproximais. Entre as espécies detectadas na cavidade bucal estão *Actinomyces israeli*, *Actinomyces viscosus* e *Actinomyces. Naeslundii*. Espécies deste gênero podem, entretanto participar de microbiotas patogênicas associadas à cárie dental, doença periodontal, abscessos na mucosa bucal e pulmonar (UZEDA, 2002; SOCRANSKY et al., 1998; VAN HOUTE et al., 1994).
- *Corynebacterium*: A espécie mais significativa desse gênero na cavidade bucal é o *Corynebacterium matruchoti*. É um microorganismo anaeróbio

facultativo, apresentando-se como um longo filamento com um pequeno bacilo na extremidade (forma de chicote). São freqüentemente encontrados na placa dental supragengival (UZEDA, 2002).

- *Eubacterium*: Esse gênero inclui microorganismos filamentosos anaeróbios estritos. As espécies encontradas na cavidade bucal são o *Eubacterium saburreum* e o *Eubacterium alactolyticum*, que são isolados com freqüência na placa dental supragengival (UZEDA, 2002).

6.10.4 Bastonetes Gram-Negativos

- *Fusobacterium*: São anaeróbios estritos fusiformes que podem ser encontrados tanto na placa dental supragengival como na subgengival. A espécie mais comum na cavidade bucal é o *Fusobacterium nucleatum* (Slots et al., 1983; SOCRANSKY et al., 2002); *Fusobacterium Periodonticum* também tem sido isolado na cavidade bucal, geralmente associado à doença periodontal ou infecção endodôntica (SOCRANSKY et al., 2002). *F. Periodonticum* também foi isolado de um paciente com periodontite avançada com diabetes mellitus insulino-dependente (SLOTS et al., 1983).
- *Bacteróides*: Agrega uma grande variedade de espécies anaeróbias estritas em forma de bastonetes de tamanho variável. Algumas das espécies orais são: *Bacteróides fragilis*, *Bacteróides buccalis*, e *Bacteroides forsythus*. Esta última espécie é comumente detectada na placa dental associada à doença periodontal refratária ao tratamento (SOCRANSKY et al., 2002).
- *Porphyromonas* e *Prevotella*: este gêneros compreendem bastonetes Gram-negativos anaeróbios estritos sacarolíticos (fermentam fortemente ou fracamente carboidratos) e produtores de pigmento negro, quando cultivados na presença de sangue (ágar sangue). O grupo *Prevotella* é

composto, atualmente, por espécies sacarolíticas (fermentam fortemente ou fracamente carboidratos) e o grupo *Porphyromonas* é formado por bactérias assacarolíticas (não fermentam carboidratos). A espécie *Porphyromonas gingivalis* está fortemente relacionada ao desenvolvimento da doença periodontal (SOCRANSKY et al., 2002). A espécie *Prevotella intermedia* é comumente detectada na placa dental associada à doença periodontal, embora também seja detectada na placa subgingival de indivíduos saudáveis. As espécies *Prevotella nigrescens* e *Prevotella intermedia* também são comumente isoladas de bolsas periodontais (SOCRANSKY et al., 2002).

- *Actinobacillus*, *Capnocytophaga*, *Haemophilus* e *Eikenella*: são gêneros de bactérias anaeróbias facultativas que habitam a mucosa bucal. As espécies *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Aa) e *Capnocytophaga sputigena* têm sido muito estudadas por causa da relação etiológica com uma forma agressiva de doença periodontal, a periodontite juvenil localizada. Aa apresenta-se como bastonetes finos e curtos e desenvolve-se com colônias cujo centro tem um formato semelhante a uma estrela. O seu principal fator de virulência é uma leucotoxina que está relacionada com a destruição de neutrófilos (VAN DYKE et al., 1982).
- Microorganismos espiralados e curvos (*Treponema*, *Selenomonas*, *Wolinella* e *Campylobacter*): o gênero *Treponema* engloba microorganismos espiralados Gram-negativos anaeróbios estritos. Apresentam grande mobilidade, pois são organismos flagelados. Dentre as espécies de mais comumente detectadas na cavidade bucal estão *Treponema denticola*, *Treponema macrodentium*, *Treponema socransky* e *Treponema vincentii*. Esses microrganismos são também denominados espiroquetas, pois apresentam forma de espiral. A espécie patogênica estrita do grupo é o *T. pallidum*, agente etiológico da sífilis, que só é detectada na cavidade bucal dos indivíduos com lesões primárias (cancro duro) ou secundárias de sífilis. Os bastonetes curvos anaeróbios Gram-negativos móveis são classificados

dos gêneros *Selenomonas* e *Wolinella*. Os bastonetes curvos Gram-negativos e microaerófilos, que podem ser encontrados na cavidade bucal, são classificados dentro do gênero *Campylobacter*. (PASTER et al., 2001; CHOI et al., 1994; UZEDA, 2002).

- *Leptotrichia*: São bactérias filamentosas que produzem grandes quantidades de ácido láctico. A espécie mais encontrada na boca é a *Leptotrichia buccalis*, isolada da placa dental supragengival (UZEDA, 2002).

Outros microrganismos: Além das bactérias, outros grupos de microrganismos podem ser encontrados na cavidade bucal. Por exemplo, a cavidade bucal pode apresentar microrganismos eucariotos como as leveduras (ex. *Candida albicans*) e protozoários (ex. *Entamoeba gingivalis*).

As leveduras do gênero *Candida* são detectadas com frequência na cavidade bucal de indivíduos saudáveis e/ou associados a doenças. A *Candida albicans* é a espécie mais frequentemente detectada na cavidade bucal e está associada à candidíase bucal em pacientes imunocomprometidos ou submetidos à antibioticoterapia prolongada, sendo considerada um microrganismo oportunista (SHAFFER et al., 1985). Protozoários mais comuns na cavidade bucal são *Trichomonas tenax* e *Entamoeba gingivalis*.

A cavidade bucal pode apresentar ainda microrganismos simplificados como os vírus. No entanto, os vírus são geralmente transitórios, pois são parasitas intracelulares obrigatórios. O vírus herpes simples pode ser identificado na saliva de pequena porcentagem de indivíduos que não apresentam sintomas de herpes (assintomáticos) (NOLTE, 1977).

A língua, comporta grande variedade de microrganismos, principalmente na sua região dorsal, a qual apresenta inúmeros sítios retentivos, funcionando como um reservatório microbiano da cavidade bucal. Nesse habitat os estreptococos são predominantes. A microbiota do dorso da língua pode funcionar como um reservatório

microbiano para colonização de outras superfícies bucais, inclusive os dentes (THYLSTRUP & FEJERSCOV, 1995).

7. CONCLUSÃO

- Existem muitas espécies de microrganismos na cavidade bucal, porém apenas uma minoria exerce algum tipo de prejuízo para o hospedeiro;
- O biofilme não é uma entidade “estática”; ele se comporta de forma dinâmica com o meio;
- Estima-se que apenas 50% das bactérias encontradas na cavidade bucal foram cultivadas;
- Próteses dentárias podem substituir os dentes para bactérias necessitam de superfícies duras não descamativas para se estabelecer. No entanto, o uso de próteses totais causa redução do número de microrganismos, principalmente os anaeróbios estritos;
- O desenvolvimento do biofilme divide-se essencialmente em dois estágios: Uma fase inicial, reversível, e uma fase de acúmulo que envolve interações moleculares específicas estáveis;
- A saliva desempenha influência fundamental na aquisição e composição da microbiota bucal e na manutenção do equilíbrio dos ecossistemas bucais, interferindo através de fatores de defesa específicos e inespecíficos, os quais influenciam no processo competitivo entre os microrganismos para a colonização e estabelecimento na boca;
- As células do biofilme usam sistemas de sinalização intercelular, os quais regulam alterações fenotípicas e conferem maior resistência aos antibióticos e agentes antimicrobianos;
- A doença cárie é uma doença infecciosa transmissível biofilme-dependente;
- A cárie e doença periodontal são duas das principais patologias bucais causadas pelo desequilíbrio na ecologia do biofilme dentário associado ao aumento na proporção de microrganismos patogênicos.

8. REFERÊNCIAS

- Amann, R. I., Ludwig, W. & Schleifer, K. H. (1995) Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol.Rev.*, **59**, 143-169.
- Banas, J. A. & Vickerman, M. M. (2003) Glucan-binding proteins of the oral streptococci. *Crit Rev.Oral Biol.Med.*, **14**, 89-99.
- Bochud, P. Y., Stauffer, J. C., Mottet, J. J. & Regamey, C. (1998) [Epidemiology and care of myocardial infarct at the Fribourg Canton Hospital 1995]. *Schweiz.Med.Wochenschr.*, **128**, 363-373.
- Boue, D., Armau, E. & Tiraby, G. (1987) A bacteriological study of rampant caries in children. *J.Dent.Res.*, **66**, 23-28.
- Bowden, G. H. W., Newman H.N. & Wilson M. (1999) Oral biofilm: an archive of past events? In *Dental plaque revisited. Oral biofilms in health and disease*. pp. 211-235. Cardiff, U.K.: Bioline.
- Brandtzaeg, P. & Tenovuo, J. O. (1989) Salivary Immunoglobulins. In *Human Saliva: clinical chemistry and microbiology*. pp. 1-54. Boston: CRC Press, inc.
- Brown, L. R., White, J. O., Horton, I. M., Dreizen, S. & Streckfuss, J. L. (1983) Effect of continuous fluoride gel use on plaque fluoride retention and microbial activity. *J.Dent.Res.*, **62**, 746-751.
- Choi, B. K., Paster, B. J., Dewhirst, F. E. & Gobel, U. B. (1994) Diversity of cultivable and uncultivable oral spirochetes from a patient with severe destructive periodontitis. *Infect.Immun.*, **62**, 1889-1895.
- Clarke, J. K. (1924) On the bacterial factor in the etiology of dental caries. *Br J Exper Path*, **5**, 141-147.
- Costerton, J. W., Lewandowski, Z., DeBeer, D., Caldwell, D., Korber, D. & James, G. (1994) Biofilms, the customized microniche. *J.Bacteriol.*, **176**, 2137-2142.
- Costerton, W., Veeh, R., Shirtliff, M., Pasmore, M., Post, C. & Ehrlich, G. (2003) The application of biofilm science to the study and control of chronic bacterial infections. *J.Clin.Invest*, **112**, 1466-1477.

- Davies, D. G., Parsek, M. R., Pearson, J. P., Iglewski, B. H., Costerton, J. W. & Greenberg, E. P. (1998) The involvement of cell-to-cell signals in the development of a bacterial biofilm. *Science*, **280**, 295-298.
- De Jong, M. H. & Van der Hoeven, J. S. (1987) The growth of oral bacteria on saliva. *J.Dent.Res.*, **66**, 498-505.
- Dewhirst, F. E., Tamer, M. A., Ericson, R. E., Lau, C. N., Levanos, V. A., Boches, S. K., Galvin, J. L. & Paster, B. J. (2000) The diversity of periodontal spirochetes by 16S rRNA analysis. *Oral Microbiol.Immunol.*, **15**, 196-202.
- Dodds, M. W. & Edgar, W. M. (1988) The relationship between plaque pH, plaque acid anion profiles, and oral carbohydrate retention after ingestion of several 'reference foods' by human subjects. *J.Dent.Res.*, **67**, 861-865.
- Dupont, G. A. (1997) Understanding dental plaque; biofilm dynamics. *J.Vet.Dent.*, **14**, 91-94.
- Foubert, E. L. & Douglas, H. C. (1948) Studies on the anaerobic micrococci-II: The fermentation of lactate by *Micrococcus lactilyticus*. *J.Bacteriol.*, **56**, 35-36.
- Frandsen, E. V., Pedrazzoli, V. & Kilian, M. (1991) Ecology of viridans streptococci in the oral cavity and pharynx. *Oral Microbiol.Immunol.*, **6**, 129-133.
- Geddes, D. A. (1975) Acids produced by human dental plaque metabolism in situ. *Caries Res.*, **9**, 98-109.
- Geddes, D. A., Weetman, D. A. & Featherstone, J. D. (1984) Preferential loss of acetic acid from plaque fermentation in the presence of enamel. *Caries Res.*, **18**, 430-433.
- Guedes-Pinto, A. C. (2003) *Odontopediatria*. 7ª edition. São Paulo: Santos.
- Haffajee, A. D. & Socransky, S. S. (1994) Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontol.2000.*, **5**, 78-111.
- Harper, D. S., Abelson, D. C. & Jensen, M. E. (1986) Human plaque acidity models. *J.Dent.Res.*, **65**, 1503-1510.
- Hohwy, J. & reinholdt, K. M. population dynamics of *Streptococcus mitis* in its natural habitat. *Infect.Immun.* 69[60], 55-63. 2001.
- Hugenholtz, P., Pitulle, C., Hershberger, K. L. & Pace, N. R. (1998) Novel division level bacterial diversity in a Yelloestone hot spring. *J.Bacteriol.*, **180**, 366-376.

- Johns, A. T. (1951) The mechanism of propionic acid formation by *Veillonella gazogenes*. *J.Gen.Microbiol.*, **5**, 326-336.
- Kidd, E. A. M. & Joyston-Bechal, S. (1987) Saliva and dental caries. In *Essentials of dental caries: the disease and its management*. Bristol: Wright.
- Klock, B. & Krasse, B. (1979) A comparison between different methods for prediction of caries activity. *Scand.J.Dent.Res.*, **87**, 129-139.
- Kohler, B., Pettersson, B. M. & Bratthall, D. (1981) *Streptococcus mutans* in plaque and saliva and the development of caries. *Scand.J.Dent.Res.*, **89**, 19-25.
- Kolenbrander, P. E., Ganeshkumar, N., Cassels, F. J. & Hughes, C. V. (1993) Coaggregation: specific adherence among human oral plaque bacteria. *FASEB J.*, **7**, 406-413.
- Kolenbrander, P. E. & London, J. (1993) Adhere today, here tomorrow: oral bacterial adherence. *J.Bacteriol.*, **175**, 3247-3252.
- Lindhe, J. e. al. (1997) *Clinical periodontology and implant dentistry*. 3^a edition. Munksgaard International.
- Listgarten, M. A. (1976) Structure of the microbial flora associated with periodontal health and disease in man. A light and electron microscopic study. *J.Periodontol.*, **47**, 1-18.
- Loesche, W. J. (1993) *Carie dental: uma infecção tratável*. Rio de Janeiro: Cultura Médica.
- Loesche, W. J., Bhat, M., Stiles, H. M. & O'Brien (1976) Evaluation of diagnostic broths for *Streptococcus mutans*. In *Microbial aspects of dental caries*. pp. 291-301. Wshington, D.C.: informational Retrieval.
- Loesche, W. J. (1986) Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol.Rev.*, **50**, 353-380.
- Loesche, W. J., Syed, S. A., Murray, R. J. & Mellberg, J. R. (1975) Effect of topical acidulated phosphate fluoride on percentage of *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguis* in plaque. II. Pooled occlusal and pooled approximal samples. *Caries Res.*, **9**, 139-155.
- Marsh, P. D. (1991) The significance of maintaining the stability of the natural microflora of the mouth. *Br.Dent.J.*, **171**, 174-177.

- Marsh, P. D. & Bradshaw, D. J. (1997) Physiological approaches to the control of oral biofilms. *Adv.Dent.Res.*, **11**, 176-185.
- Matee, M. I., Mikx, F. H., Maselle, S. Y. & Palenstein Helderman, W. H. (1992) Mutans streptococci and lactobacilli in breast-fed children with rampant caries. *Caries Res.*, **26**, 183-187.
- Menaker, L., Mohart, R. E. & Navia, J. M. (1984) *Cáries Dentárias: Bases biológicas*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan.
- Milnes, A. R. & Bowden, G. H. (1985) The microflora associated with developing lesions of nursing caries. *Caries Res.*, **19**, 289-297.
- Moore, W. E. C. & Moore, L. V. H. The bacteria of periodontal diseases. *Periodontol.* 2000. **5**, 66-77. 1994.
- Ref Type: Magazine Article
- Nolte, W. A. (1977) The oral microflora. In *Oral Microbiology*. St. Louis: Mosby C.O.
- Nyvad, B. & Kilian, M. (1990) Comparison of the initial streptococcal microflora on dental enamel in caries-active and in caries-inactive individuals. *Caries Res.*, **24**, 267-272.
- Pace, N. R., Stahl, D. A., Lane, D. J. & Olsen, G. J. The analysis of natural microbial populations by ribosomal RNA sequences. *Adv.Dent.Ecolol.* **3**, 233-250. 1986.
- Paster, B. J., Boches, S. K., Galvin, J. L., Ericson, R. E., Lau, C. N., Levanos, V. A., Sahasrabudhe, A. & Dewhirst, F. E. (2001) Bacterial diversity in human subgingival plaque. *J.Bacteriol.*, **183**, 3770-3783.
- Pearce, C., Bowden, G. H., Evans, M., Fitzsimmons, S. P., Johnson, J., Sheridan, M. J., Wientzen, R. & Cole, M. F. (1995) Identification of pioneer viridans streptococci in the oral cavity of human neonates. *J.Med.Microbiol.*, **42**, 67-72.
- Reynolds, E. C. & Riley, P. F. (1989) Protein dissimilation by human salivary-sediment bacteria. *J.Dent.Res.*, **68**, 124-129.
- Roitt, I., Brostoff, J. & Male, D. (1999) *Imunologia*. 5ª edition. Sao Paulo: Manole; Mosby.
- Rosan, B. & Lamont, R. J. (2000) Dental plaque formation. *Microbes.Infect.*, **2**, 1599-1607.

- Schenkels, L. C., Veerman, E. C. & Nieuw Amerongen, A. V. (1995) Biochemical composition of human saliva in relation to other mucosal fluids. *Crit Rev. Oral Biol. Med.*, **6**, 161-175.
- Shafer, W. G., Hine, M. K. & Levy, B. M. (1985) *Tratado de patologia bucal*. 4ª edition. Rio de Janeiro: Interamericana.
- Shearer, B. G. (1996) Biofilm and the dental office. *J. Am. Dent. Assoc.*, **127**, 181-189.
- Slots, J., Potts, T. V. & Mashimo, P. A. (1983) *Fusobacterium periodonticum*, a new species from the human oral cavity. *J. Dent. Res.*, **62**, 960-963.
- Smith, D. J., Anderson, J. M., King, W. F., van Houte, J. & Taubman, M. A. (1993) Oral streptococcal colonization of infants. *Oral Microbiol. Immunol.*, **8**, 1-4.
- Socransky, S. S., Haffajee, A. D., Cugini, M. A., Smith, C. & Kent, R. L., Jr. (1998) Microbial complexes in subgingival plaque. *J. Clin. Periodontol.*, **25**, 134-144.
- Socransky, S. S., Smith, C. & Haffajee, A. D. (2002) Subgingival microbial profiles in refractory periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.*, **29**, 260-268.
- Stephan, R. M. (1944) Intraoral hydrogen-ion concentrations associated with dental caries activities. *J. Dent. Res.*, **23**, 257-266.
- Stewart, P. S. (1996) Theoretical aspects of antibiotic diffusion into microbial biofilms. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **40**, 2517-2522.
- Suci, P. A., Mittelman, M. W., Yu, F. P. & Geesey, G. G. (1994) Investigation of ciprofloxacin penetration into *Pseudomonas aeruginosa* biofilms. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **38**, 2125-2133.
- Thylstrup, A. & Fejerskov, O. (1995) *Cariologia clinica*. 2ª edition. Sao Paulo: Santos.
- Trabulsi, L. R., Alterthum, F., Gompertz, O. F. & Candeias, J. A. N. (1999) *Microbiologia*. 3ª edition. Rio de Janeiro, Sao Paulo, Belo Horizonte: 1999.
- Uzeda, M. (2002) A microbiota da cavidade oral. In *Microbiologia oral: etiologia da cárie, doença periodontal e infecções endodônticas*. pp. 1-32.
- Van Dyke, T. E., Bartholomew, E., Genco, R. J., Slots, J. & Levine, M. J. (1982) Inhibition of neutrophil chemotaxis by soluble bacterial products. *J. Periodontol.*, **53**, 502-508.
- van Houte, J., Lopman, J. & Kent, R. (1994) The predominant cultivable flora of sound and carious human root surfaces. *J. Dent. Res.*, **73**, 1727-1734.

van Houte, J., Russo, J. & Prostak, K. S. (1989) Increased pH-lowering ability of *Streptococcus mutans* cell masses associated with extracellular glucan-rich matrix material and the mechanisms involved. *J.Dent.Res.*, **68**, 451-459.

Beigton, D.; Smith, K.; Glenister, D.A.; Salamon, K.; Keevil, C.W. (1988) Increased degradative enzyme production by dental plaque bacteria in mucin-limited continuous culture. *Microbiol Ecology Health and Disease*, **1**, 85-94

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
BIBLIOTECA**