



1290005237

TCC/UNICAMP
P331i
FOP

FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INVASÃO BACTERIANA NOS TECIDOS MOLES
NA DOENÇA PERIODONTAL

ADRIANA GROTTA PECCONINE

272

= 1992 =

1

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA
BIBLIOTECA

ADRIANA GROTTA PECCINONE

INVASÃO BACTERIANA NOS TECIDOS MOLES

NA DOENÇA PERIODONTAL

Monografia apresentada na
Semana Odontológica de Pi-
racicaba na Faculdade de
Odontologia de Piracicaba
- UNICAMP.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Antonio Wilson Sallum

PIRACICABA - SP

= 1992 =

Dedico este trabalho,

A meus pais, PEDRO e NECILDA, meus grandes
incentivadores, cujos ensinamentos, estímulo e orientação segura, foram fundamentais para a conquista de um ideal.

A minha irmã, Luciana, sempre
me dedicando apoio, compreensão e amor.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. ANTONIO WILSON SALLUM, pela indispensável orientação durante a realização deste trabalho, mas sobretudo pela amizade e compreensão, o meu sincero agradecimento.

Ao Prof. Dr. FAUSTO BÉRZIN, tutor das bolsistas do PET-CAPEs, pelo incentivo desde o início do período acadêmico.

À CAPEs, pela concessão da bolsa do PET (Programa Especial de Treinamento), durante a minha graduação.

As minha colegas bolsistas, Acácia, Andréa e Valéria, pelo espírito de colaboração e companheirismo.

Aos funcionários do CPD, IVES ANTONIO CORAZZA e ALEXANDRE ROCHA ARBEX, pela colaboração na digitação e impressão deste trabalho.

A todas as pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

INVASÃO BACTERIANA NOS TECIDOS MOLES NA DOENÇA PERIODONTAL

I - INTRODUÇÃO

A doença periodontal é predominantemente inflamatória: a irritação local dos tecidos por produtos de bactérias que colonizam as superfícies dentárias é um processo geralmente lento, de longa duração e assintomático (inflamação crônica), salvo quando complicado por exacerbação aguda ou subaguda.

A existência de uma flora bucal residente em especial a de uma microbiota indígena do sulco gengival, induz ao reconhecimento de que os tecidos gengivais, mesmo sob aparência clínica normal, exibem inflamação subclínica, de grau diminuto quando examinados ao microscópio, compreende-se, assim, a natureza iminentemente crônica da doença gengival, até porque também se encontram no conjuntivo subepitelial normal células inflamatórias - indicação segura da presença de mecanismos de defesa.

A Organização Mundial da Saúde (OMS) louvando-se em estudos epidemiológicos de LODVAL (1958), GREENE (1960), GREENE e VERMILLION (1960), RAMFJORD (1961), já reconhecia que "a presença de quaisquer depósitos mineralizados ou não, sobre as superfícies dos dentes, é o fator mais importante no desenvolvimento da doença periodontal" (1961)⁽¹⁾.

LOE et al.⁽¹⁾, ao produzirem a gengivite experimental em humanos, fincaram um marco definitivo no conhecimento da causa primária da doença gengival e periodontal, relacionando-as à placa bacteriana.

Atualmente sabe-se que a placa bacteriana é essencial ao desencadeamento da D.P.C.I. (doença periodontal crônica inflamatória), que os produtos das bactérias da placa (enzimas, toxinas) são os principais responsáveis pela invasão agressora dos tecidos; que outros fatores locais, não bacterianos, participam na etiopatogenia, principalmente por favorecerem o acúmulo de placa, e que, de um modo geral, a eliminação e controle da placa bacteriana e de outros fatores de irritação local determinam a pronta resposta tecidual, revertendo o processo inflamatório, e que os fatores sistêmicos envolvidos concorrerão para o agravamento das condições locais, por afetarem a resistência dos tecidos.

Segundo PAGE⁽²⁾, histologicamente conhecem-se quatro estágios na D.P.I.C.: lesão inicial, precoce, estabelecida e avançada.

- Lesão inicial —→ 2 - 4 dias de acúmulo de placa: é uma fase aguda onde ocorre aumento do número de neutrófilos e do fluxo do fluido gengival.

- Lesão precoce —→ 7 - 14 dias: aparecem fenômenos de hipersensibilidade retardada com a presença de linfócitos T. Aparecem também alterações vasculares.

- Lesão estabelecida —→ 20 dias: observam-se destruição de colágeno e grande número de plasmócitos que dão origem a anticorpos do tipo IgG (principalmente), além de IgA e IgM.

- Lesão avançada —→ 28 dias: observamos a formação de bolsa periodontal e existência de perda óssea significativa, e de um infiltrado celular semelhante ao da lesão estabelecida.

Durante estes estágios os fibroblastos entram em con-

tato com os produtos bacterianos se degenerando e sendo eliminados pelos linfócitos "Killer". Entre essas fases observamos períodos de agudização que levam ao avanço da doença.

A evolução da D.P.I.C. está vinculada aos surtos episódicos.

Os surtos episódicos seriam períodos de aumento da virulência das bactérias associados ou não a períodos de deficiência do sistema geral que governa as funções sistêmicas.

Será que poderíamos argumentar que os períodos de maior atividade da D.P.I.C. seria devido a invasão bacteriana?

II - MICROBIOLOGIA DA DOENÇA PERIODONTAL

Na ausência da doença periodontal, a flora normal da cavidade bucal se constitui dos seguintes microorganismos: *Streptococcus* sp; *Actinomyces viscosus*, *Actinomyces naeslundii*, *Rothia dentocariosa*, *Bacteroides saccharoliticus*, *Capnocytophaga* sp, formas não móveis e móveis na proporção 40:1 e anaeróbicos G⁺(1).

Na presença da doença periodontal há um conflito de dados e opiniões entre laboratórios de pesquisa que estão estudando a microbiologia periodontal. Este conflito se deve a vários fatores, entre eles: 1) a flora periodontal é muito complexa; 2) muitas das espécies não foram formalmente descritas; 3) algumas das espécies têm exigências para o seu crescimento e não são detectadas pelos meios que são utilizados; 4) o critério de identificação difere entre os laboratórios; 5) mesmo em testes rigorosos, a identificação de algumas espécies é questionável; 6) os testes

pequenos são menos confiáveis.

Esta revisão feita por MOORE⁽³⁾ em 1987, foi baseada na discussão que envolveu todos os artigos relevantes que estavam disponíveis e tinham sido publicados nos anos de 1984 e 1985.

Em resumo, todos os dados atuais indicam que nem toda destruição dos tecidos nos pacientes com periodontite juvenil (P.J.) ou outros grupos com periodontite, está relacionada com as mesmas espécies bacterianas.

A *haemophilus actinomycetemcomitans* pode causar mais ou menos 1/3, mas certamente não toda, da P.J.

Do mesmo modo, a *bacteroides gingivalis* pode ser um agente importante em alguns pacientes, mas ela geralmente aparece quando muito estrago já foi feito.

A pequena confusão relativa ao significado de outros bacteróides de pigmentação negra pode resultar de duas espécies geneticamente diferentes, mas fenotipicamente similares, que se chamam *bacteroides intermedius*.

Os autores geralmente concordam sobre a associação frequente de espiroquetas com a periodontite e há crescentes evidências que as espécies bacterianas adicionais também se relacionam à destruição periodontal.

A melhor evidência parece vir de comparações de locais de controle ativos afetados versus locais de controle afetados inativos nos mesmos pacientes com periodontite.

Os dados disponíveis parecem combinar com o conceito proposto pelo grupo de ROY PAGE⁽²⁴⁾ (1985), que os episódios da destruição periodontal podem ser uma agressão após outra por es-

pécies diferentes; quando o hospedeiro desenvolve resistência à alguma espécie, vem uma outra e causa danos adicionais.

WOLFF, PIHLSTROM, SCHAFFER et al⁽⁴⁾, 1985, empreenderam um estudo sobre as categorias distintas de formas microbianas associadas com a doença periodontal, a fim de detectar a relação dos microorganismos com a severidade da doença periodontal. No total, os resultados indicaram que o índice médio da placa, a profundidade de sondagem e a perda de ligação foram sucessivamente mais altos em locais classificados em quatro categorias microbianas distintas, seguindo a ordem:

- 1 - organismos de baixa mobilidade - cocos altos.
- 2 - organismos de baixa mobilidade - cocos baixos.
- 3 - organismos de alta mobilidade - bastonetes de alta mobilidade.
- 4 - organismos de alta mobilidade - espiroquetas altas.

Um número de pesquisas relataram a relação entre a morfologia dos microorganismos sub-gengivais e a gravidade da doença periodontal.

Estudos examinando os locais clinicamente doentes e locais saudáveis (LISTGARTEN e HELLDEN⁽⁵⁵⁾, 1978; LINDHE, LILJENBERG e LISTGARTEN⁽⁵⁶⁾, 1980; ARMITAGE et al⁽⁵⁷⁾, 1982; KEYES e RAMS⁽⁵⁸⁾, 1983) mostraram que os níveis aumentados da doença, as proporções de bastonetes móveis e espiroquetas eram maiores enquanto os cocos eram menores.

Inversamente, a placa subgengival associada com lesões

tratadas de periodontite demonstraram proporções mais altas de cocos, e proporções mais baixas de bastonetes móveis e espiroquetas (LISTGARTEN, LINDHE e HELLDEN⁽⁵⁰⁾ 1978; WENNSTROM e LINDHE⁽⁵⁰⁾ 1979; MOUSQUES, LISTGARTEN e PHILLIPS⁽⁶¹⁾, 1980; ROSENBERG, EVIAN e LISTGARTEN⁽⁶²⁾, 1981; MAGNUSSON et al⁽⁶³⁾ 1984).

LISTGARTEN e SCHIFTER⁽⁶⁴⁾ 1982, no estudo testando o uso da microscopia de campo escuro para melhorar os intervalos de retorno da periodontite, relataram uma tendência de aumentar a proporção de bastonetes e diminuir a proporção de cocos, sem mudança alguma nas espiroquetas, a medida que o tempo entre as profilaxias aumentavam.

Mudanças notáveis nas proporções de cocos e bastonetes móveis consequentemente parecem preceder as mudanças nas espiroquetas à medida que as placas dentais envelhecem.

Essas descobertas levantam a possibilidade que mudanças na morfologia da placa subgengival e a mobilidade podem estar relacionadas à gravidade da doença numa relação temporal mais complexa do que descrita anteriormente.

PEKOVIC e FILLERY⁽⁵⁾ 1984, usando secções congeladas de gengiva, fizeram um estudo sobre a identificação da bactéria nos mecanismos imunopatológicos da doença periodontal humana. Estes mecanismos foram identificados por soros voltados contra a *a. naeslundii*, *b. gingivalis* e *b. melaninogenicus ssp intermedius*; soros comerciais contra imunoglobinas humanas e complementos e anticorpos monoclonais contra as células T. usando uma técnica de coloração dupla imunofluorescente. Os resultados obtidos sugerem que entre as espécies estudadas, a *a. viscosus* e a *b. gingivalis*

tem o maior potencial imunopatológico na gengiva de pacientes em termos de complemento fixando formações complexas imunes.

Foi despendida uma grande atenção sobre a natureza do mecanismo imunopatológico que projeta a destruição do tecido periodontal levando a perda do dente em humanos.

Os estudos em andamento favorecem o conceito que a hipersensibilidade a microorganismos orais e seus produtos metabólicos podem ser um fator etiológico importante na patogênese da doença periodontal (NISENGARD⁽⁶⁵⁾ 1977; HAUSMAN, NAIR e DZIAN⁽⁶⁶⁾ 1982; ELLEN⁽⁶⁷⁾ 1982; JORDAN⁽⁶⁸⁾ 1982).

A carga de evidências que sustentam esta visão veio da premissa de que as bactérias (GIBSON e SHANNON⁽⁶⁹⁾ 1964; COURANT e BADER⁽⁴⁶⁾ 1966; SCHWARZ, STINSON e PARKER⁽⁷⁰⁾ 1972; MAYRON e LOISELLE⁽⁷¹⁾ 1979; RIZZO⁽⁷²⁾ 1970; RANNEY⁽⁷³⁾ 1978), os fatores quimioterápicos (TEMPEL et al⁽⁷⁴⁾ 1970), as partes bacterianas (TSUTSUI, UTSUMI e ISUDAKIMOTO⁽⁷⁵⁾ 1980) e outros constituintes da placa (TAKEUCHI et al⁽³⁸⁾ 1970) penetram no epitélio gengival sulcular e induzem a sensibilidade do hospedeiro (NISENGARD e BEUTNER⁽⁷⁷⁾ 1970; SOCRANSKY et al⁽⁷⁸⁾ 1982; SLOTS⁽⁷⁹⁾ 1982). Subsequentemente, a penetração dos antígenos bacterianos no tecido gengival de hospedeiros sensibilizados leva à hipersensibilidade imediata e retardada (HORTON, OPPENHEIM e MERGENHAGEN⁽⁸⁰⁾ 1974; LENNER⁽⁸¹⁾ 1975; SCHENKEIN e GENCO^(82,83) a,b; TOTO, LIN e GARGIULO⁽⁸⁴⁾ 1978; RANNEY et al⁽⁸⁵⁾ 1981; TEW et al⁽⁸⁶⁾ 1981). Ainda assim a natureza exata da interação hospedeiro-parasita não foi ainda completamente compreendida.

Antígenos (Ags) CHABERMAN⁽⁴²⁾ 1959; WERTHEIMER⁽⁵¹⁾

1964; GIBSON e SHANNON⁽⁶⁹⁾ 1964; MAYRON e LOISELLE⁽⁷¹⁾ 1973; TAKEUCHI et al⁽³⁸⁾ 1970; RANNEY et al⁽⁸⁵⁾ 1981), complementos (c) (SNYDERMAN⁽⁸⁷⁾ 1972; TOTO et al⁽⁸⁴⁾ 1978), células plasmáticas específicas (KAGAN⁽⁸⁸⁾ 1980) e células T (SEYMOUR e GREAVES⁽⁸¹⁾ 1980) foram frequentemente achados na gengiva inflamada.

Contudo, nenhuma bactéria específica foi identificada nos complexos imuno Ag-Ac-C ou associadas com células imunocompetentes nos tecidos gengivais inflamados.

Para poder demonstrar a imunopatogenicidade dos microorganismos orais em qualquer dos quatro tipos (COOMBS e GELL⁽⁹⁰⁾ 1975) de reações imunopatológicas da gengiva humana é primeiramente necessário identificar os micróbios, como os antígenos, nos complexos com anticorpos específicos. Além disso, os complexos devem ter complementos fixados ou formados por basófilos nas superfícies.

BAHENI, TSAI, TAICHMAN et al⁽⁶⁾ em 1977, fizeram um estudo sobre a interação das células inflamatórias e os microorganismos orais e chegaram a conclusão que ainda que a fagocitose da bactéria da placa possa ser um mecanismo responsável pela descarga lisossômica dos neutrófilos, foi provado o conceito que os neutrófilos podem liberar lisossomos em resposta à placa na ausência da fagocitose.

III - REVISÃO LITERÁRIA

A flora microbiana associada ao desenvolvimento da doença periodontal (D.P.) é altamente complexa. De acordo com a revi-

são de MOORE⁽³⁾, 325 espécies distintas de bactérias são encontradas no sulco gengival humano e nosso conhecimento está longe de ser completo, pois muitas espécies bacterianas não foram formalmente descritas ou foram ignoradas, embora seja reconhecida, geralmente, que as bactérias da placa subgengival são os agentes etiológicos primários da doença periodontal (JORDAN e KEYES⁽²⁵⁾ 1964; PAGE e SCHROEDER⁽²⁶⁾ 1982; HELDERMAN⁽²⁷⁾ 1981, SOCRANSKY⁽²⁸⁾ 1970), é amplamente aceito que os microorganismos confinados na bolsa periodontal não invadem os tecidos moles adjacentes e que o desarranjo periodontal é principalmente induzido pela difusão dos produtos bacterianos (enzimas, toxinas, antígenos e/ou mitógenos) pelos tecidos epitelial e conjuntivo adjacente. Apenas uma exceção foi reconhecida para esse conceito geral: foi a invasão das espiroquetas nos casos de guma (gengivite ulcerativa necrotizante aguda) (LISTGARTEN⁽²⁹⁾ 1965).

Estudos ultraestruturais de TAKARADA et al⁽³⁰⁾ (1974), FRANK⁽¹²⁾ (1980), ALLENSPACH-PETRZILKA e GUGGENHEIM^(31,16) (1982 e 1983), GILLET e JOHNSON⁽¹¹⁾ (1982), SAGLIE et al^(13,21) (1982a, 1985) CARRANZA et al⁽¹⁵⁾ (1983), MANOR et al⁽¹⁷⁾ (1984), estabeleceram a possibilidade da invasão bacteriana nos tecidos da doença periodontal, a despeito do fato de que LIKONI et al⁽⁷⁾ (1987) no estudo de microscopia eletrônica de transmissão de periodontites de adulto e jovens humanos e ERICSSON et al⁽⁸⁾ (1987) na periodontite experimental induzida em cachorros, não encontraram bactérias no epitélio da bolsa e no tecido conjuntivo gengival.

1 - Invasão bacteriana na gunga

Nos estudos empreendidos por LOESCHE et al.⁽²⁾ (1982), foram examinados microscopicamente amostras de placas de pacientes portadores de gunga.

A caracterização parcial da flora cultivável predominantemente revelou uma flora constante composta de um número limitado de tipos de bactérias e uma flora variável composta de séries heterogêneas de tipos bacterianos (gunga) e incluiu as várias *Treponema* e *selenomas sp.*, que compuseram cerca de 32 e 6%, respectivamente; do total microscópico, *B. melaninogenicus ssp intermedius* e *fusobacterium sp.*, também foram encontrados sendo que o primeiro foi igualmente relatado por Mac DONALD et al.⁽³²⁾ (1956).

Uma semana de tratamento com metronidazol causou uma pronta resolução dos sintomas clínicos que coincidiram com uma redução significativa nas proporções da placa de *Treponema sp* e *B. melaninogenicus ssp intermedius* e *Fusobacterium sp* por pelo menos 2 a 3 meses seguindo o tratamento.

Deste modo, as mesmas espécies anaeróbicas que estavam associadas numericamente à lesão gunga foram também reduzidas seletivamente na flora da placa seguindo a resolução da infecção. Isto sustenta o papel das espécies acima no estágio ulcerativo da lesão, mas não demonstra que esses anaeróbicos específicos iniciaram a infecção.

Apesar de não confirmado pelos dados, foi proposto que essas espécies anaeróbicas em particular ganharam ascendência na placa como um resultado de seleção através da disponibilidade de

nutrientes derivados do hospedeiro em indivíduos que tinham sofrido algum stress psicológico ou físico.

Apesar da etiologia exata da GUNA não ter sido estabelecida, a lesão típica exibe um aumento significativo nas populações fusiformes e espiroquetas.

Consequentemente, os sintomas clínicos da doença foram atribuídos a um aumento no complexo fusoespiroquetal.

Fatores da predisposição local e resistência alterada do anfitrião pode ser de importância considerável no início da lesão GUNA.

Aceita-se geralmente que a combinação de fatores de pré-disposição tais como: fumo, dieta inadequada, higiene oral inadequada, stress físico e emocional e resistência baixa generalizada do hospedeiro podem aumentar a susceptibilidade do periodonto e este pode adoecer na presença de certos microorganismos, tais como *Selenomonas sp.*, *Treponema sp.*, *B. melaninogenicus ssp. intermedius* e *Fusobacterium sp.*, flora constante nas lesões GUNA.

LISTGARTEN⁽²⁹⁾ em dois estudos clássicos de microscopia eletrônica de lesão GUNA sugeriu que a lesão gengival pode ser dividida em quatro zonas cada qual com suas próprias características:

- 1 - a zona bacteriana, que é a mais superficial e é constituída de variados tipos bacterianos.
- 2 - uma zona rica em neutrófilos e bactérias, das quais a maioria são espiroquetas.

3 - a zona necrótica, constituída de células de tecidos degenerados, restos materiais fibrilares de fibrilas colágenas e inúmeros espiroquetas de tamanhos intermediário e grande.

4 - a zona de infiltração, constituída de tecidos bem preservados infiltrados por espiroquetas de tamanhos intermediários e grandes.

COURTOIS, COBB e KILLOY⁽¹⁰⁾ (1983) fizeram um estudo no qual foi proposto prover evidências adicionais nas lesões de gengivites ulcerativas necrotizantes agudas (guna), espiroquetas e outros organismos são capazes de invadir a lâmina própria da gengiva afetada.

Biópsias de pacientes com sinais patognomônicos de guna foram obtidos e processados por microscopia fluorescente e eletrônica de transmissão.

Os resultados indicaram que espiroquetas e outras bactérias são capazes de penetrar nos tecidos conectivos viáveis da lâmina própria.

As quatro zonas da guna como primeiramente descritas por LISTGARTEN^(29,33) (1965 e 1967), foram observadas sem dificuldades.

A profundidade máxima de infiltração bacteriana na lâmina própria variaram de 155 a 400 μ , a partir da lâmina basal epitelial mais próxima. O quadro histológico da guna não foi sempre conforme as manifestações clínicas agudas.

COURTOIS et al⁽¹⁰⁾ observaram a presença de glicoproteínas salivares, polímeros de hexose, membranas lipídicas e restos

de células mortais na matriz da placa dental organizada. Em regiões onde a bactéria gram-negativa predomina, grandes acúmulos de vesículas ligadas por membrana podem ser encontradas. Também observadas por outros pesquisadores, essas vesículas parecem se manifestar por tratamento das membranas das células de bactéria gram-negativa e pode portanto conter endotoxina.

O baixo peso molecular de subprodutos derivados da placa facilitariam suas difusões através do tecido rompido, ulcerado e gravemente inflamado, deste modo contribuindo ao processo inflamatório.

2 - Invasão bacteriana na periodontite juvenil (P.J.)

Segundo os relatos de MICHEL⁽³⁴⁾ (1969), FRANK⁽³⁵⁾ (1972) e FRANK e VOEGEL⁽³⁶⁾ (1978), existe uma dúvida sobre a penetração das bactérias da placa nos tecidos durante a doença periodontal.

FRANK e VOEGEL⁽³⁶⁾ (1978) mostraram a presença de uma flora gram-negativa (G⁻) em associação à extensa reabsorção óssea ocorrida em seis dos seus doze pacientes.

Segundo os estudos feitos por GILLET e JOHNSON⁽¹¹⁾ (1982), examinando a gengiva de uma paciente jovem com periodontite, foram descobertas bactérias no tecido conjuntivo provenientes da placa bacteriana. O tecido conjuntivo gengival continha um infiltrado inflamatório que exibiu uma perda profunda de colágeno e foi dominado por células plasmáticas, muitas das quais tinham uma bizarra morfologia citoplasmática.

As bactérias invasoras eram morfológicamente heterogêneas, mas principalmente G⁻. Algumas foram achadas numa distribuição cheia de remendos nas margens apicais do infiltrado inflamatório e mais inúmeros grupos de organismos estavam no tecido conectivo colagenoso, apical à área infiltrada.

Neutrófilos foram vistos em associação com a primeira ocorrência de penetração bacteriana do periodonto na periodontite juvenil, não se sabe qual é a frequência numa condição onde há um notório prejuízo de uma parte do mecanismo de defesa do hospedeiro, a saber, fagocitose dos neutrófilos e degranulação.

O principal fator etiológico na iniciação e progressão do desarranjo tecidual na D.P.C.I. é a colonização e proliferação dos microorganismos da placa nos tecidos gengivais (LISTGARTEN⁽⁹¹⁾ 1976; THEILADE e THEILADE⁽⁹²⁾ 1976, THEILADE e AUSTRÖM⁽⁹³⁾ 1985). Além disso, os produtos metabólicos desses microorganismos e sua difusão através dos tecidos parece contribuir para a destruição tecidual (MAYRON e ROSELLE⁽⁷¹⁾ 1973, RANNEY⁽⁷³⁾ 1978). Um efeito imunopatogénico resultante de uma acentuada resposta do hospedeiro constitui um fator adicional na periodontite (TAICHMAN⁽⁹⁴⁾ 1974, NISENGARD⁽⁶⁵⁾ 1977).

A invasão bacteriana dos tecidos periodontais e o possível envolvimento direto no desarranjo tecidual permanece uma controvérsia.

Estudos tem mostrado bactérias nos tecidos moles da bolsa e tem relatado a presença delas no desarranjo tecidual e junto com a reabsorção óssea (FRANK e VOGEL⁽³⁶⁾ 1976; FRANK⁽¹²⁾ 1980; SAGLIE et al^(13,14) 1982 a,b; GILLET e JOHNSON⁽¹¹⁾ 1982; CARRANZA

et al⁽¹⁵⁾ 1983; ALLENSPACH-PETREZILKA e GUGGENHEIM⁽¹⁶⁾ 1983; MANOR et al⁽¹⁷⁾ 1984).

GILLET e JOHNSON⁽¹¹⁾ (1982) estudando a invasão bacteriana na periodontite juvenil observaram que a secreção de anticorpos e o vazamento de neutrófilos polimorfonucleares fagócitos através do epitélio, pareceram normalmente se combinar para proteger o epitélio da bolsa e o tecido conectivo periodontais da penetração bacteriana.

Apesar da invasão bacteriana não ter sido comum, as bactérias existentes estavam espalhadas no tecido mole perto da polpa gengival, bem como em níveis mais profundos.

O epitélio juncional apesar de hiperplásico e infiltrado por neutrófilos, não estava ulcerado e nem houve evidências clínicas ou microscópicas de formação de abscessos.

As bactérias vistas no tecido mole foram predominantemente gram-negativas, notadamente a *Actinobacillus actinomycetencomitans* e *Captocytophaga*.

Foi mostrado recentemente que pacientes com periodontite juvenil mostram uma falha em seus neutrófilos. Isto afeta a habilidade da célula de fazer a fagocitose (CIANCIOLO et al⁽¹⁸⁾ 1977) e a degranulação (GILLET e WILTON⁽¹⁹⁾ 1981) e estes defeitos poderiam facilmente reduzir a eficácia do fluxo da descarga de neutrófilos através do epitélio, permitindo talvez que as bactérias penetrem nas defesas do hospedeiro.

Sabe-se que os *Actinobacillus actinomycetencomitans* secreta uma leucotoxina (TSAI et al⁽²⁰⁾ 1979), ativa contra os neutrófilos e monócitos e pode depois reduzir a eficiência da defesa.

do neutrófilo.

Um estudo investigando a invasão bacteriana nos tecidos moles de bolsas periodontais profundas em casos de P.J. foi feito por IIAKONI, BARBER e NEWMAN⁽⁷⁾ (1987). A microscopia eletrônica de transmissão foi usada e foram observadas bactérias espalhadas pelo epitélio e pelo tecido conectivo, sem levar em consideração o desarranjo tecidual. Contudo, foram vistas muitas células inflamatórias e estas não pareceram estar localizadas em regiões de acentuadas perdas de colágeno. Acúmulos de grande número de bactérias foram extremamente raros e foram achados apenas na superfície epitelial ou em espaços de artefato dentro dos tecidos mais profundos.

As descobertas indicam que a destruição do tecido associada com a periodontite não está diretamente relacionada com a invasão bacteriana.

Os organismos esparsos dentro dos tecidos da bolsa provavelmente resultam da entrada passiva ao invés de uma ação invasora. Sob estas circunstâncias parecia razoável dizer que produtos metabólicos bacterianos penetram nos tecidos na periodontite, ao invés das bactérias em si.

A periodontite juvenil é uma doença do periodonto a qual difere claramente na sua histopatologia (LILJENBERG e LINDBE⁽¹⁸⁾ 1980), nos achados microbiológicos (NEWMAN et al⁽⁹⁵⁾ 1976, SLOTS⁽⁹⁶⁾ 1976, LISTGARTEN⁽⁹¹⁾ 1976, WESTERGAARD et al⁽⁹⁷⁾ 1978), e na resposta individual do hospedeiro (LEHNER et al⁽⁹⁸⁾ 1974, CLARK et al⁽⁹⁹⁾ 1977, CIANCOLA et al⁽⁹⁷⁾ 1977, LAVINE et al⁽¹⁰⁰⁾ 1979, VAN DYKE et al⁽¹⁰¹⁾ 1980, EBERSOLE et al^(102,103)

1980a, 1980b, GENCO et al⁽¹⁰⁴⁾ 1980, LISTGARTEN et al⁽¹⁰⁵⁾ 1981) de outras periodontites.

LILJENBERG e LINDHE⁽¹⁸⁾ (1980) estudaram pela microscopia a escura a placa subgengival de pacientes jovens de 14-18 e 23-29 anos e encontraram diferenças significativas na composição das floras microbianas. Nos pacientes de 14-18 anos foram encontradas bactérias cocóides e móveis. Já nos pacientes de 23-29 anos mais de 50% das bactérias eram espiroquetas.

MÜLLER e FLORES-DE-JACOBY⁽¹⁹⁾ (1985) realizaram um estudo sobre a composição da microflora subgengival em pacientes adultos jovens portadores de P.I. e os resultados mostraram claramente que esses pacientes tem uma microflora diferente, em suas regiões periodontalmente doentes, dos pacientes com periodontite comum. E com o avanço da idade pode haver uma mudança da flora associada com as lesões de P.I. de uma composição um tanto simples para uma mais complexa e muito similar à da flora vista em lesões de periodontite rapidamente progressiva de adulto.

MÜLLER e FLORES DE JACOBY⁽¹⁹⁾ examinando pacientes adultos jovens com periodontite juvenil argumentou que com o passar da idade pode-se desenvolver uma microflora similar a dos pacientes com periodontite crônica avançada. Na etiologia da periodontite juvenil localizada a *Capnocytophaga* (NEWMAN et al⁽⁹⁵⁾ 1976) e em particular *Actinobacillus actinomycetemcomitans* passaram a desempenhar um papel importante.

Para estes pesquisadores, bem como para a maioria, as mudanças da microflora associada, em combinação com a resposta do hospedeiro, certamente terão um papel decisivo em progressões

futuras de lesões de periodontite juvenil localizada (LISTGARTEN⁽⁹¹⁾ 1976, SLOTS⁽⁹⁶⁾ 1976, NEWMAN et al⁽⁹⁵⁾ 1976), com bactérias achadas na periodontite crônica ou periodontite adulta rapidamente progressiva, pode influenciar no período da doença e pode explicar um desenvolvimento da doença juvenil localizada para generalizada. Em outros casos pode ocorrer a interrupção da progressão da doença.

SAGLIE, CARRANZA, NEWMAN et al⁽²⁰⁾ (1982) usando metodologia combinada (cultural, microscopia eletrônica de varredura (SEM), microscopia eletrônica de transmissão (TEM), microorganismos invasores foram identificados no periodonto na P.J.

As espiroquetas foram identificadas através do uso da SEM e TEM, os "mycoplasmas" através da SEM e TEM, coloração de Giemsa e caldos de cultura específicos, a *A. actinomycetemcomitans* R214 pelo uso da imunocitoquímica, TEM (técnica pop-off) e métodos de cultura e a *C. sputigena* pelo uso da técnica imunocitoquímica.

Bactérias G⁻ foram identificadas através de TEM e coloração Gram.

Geralmente as bactérias achadas no tecido mole são morfolologicamente consistentes com os tipos de microorganismos descritos na placa subgengival do paciente com P.J. fusiformes curtos com uma extremidade delgada e flagelos polares, compatíveis com a *capnocytophaga* e bastonetes curtos cocobacilares, compatíveis com a *Actinobacillus* foram frequentes.

Na superfície do osso havia uma clara relação tecido-bactérias como mostrado pela presença de microcavidades contendo

bactérias sugerindo um processo de infiltração ativo.

CARRANZA, SAGLIE, NEWMAN e VALENTIN⁽¹⁵⁾ (1983) fizeram um estudo em "TEM" e "SEM" e documentaram a invasão de microorganismos na gengiva e ao longo do osso alveolar absorvido. As bactérias invasoras eram principalmente fusiformes G⁻, cocobacilos e espiroquetas. Os microorganismos identificados como "mycoplasma" também foram encontrados na invasão. A maioria das bactérias foram fagocitadas pelos neutrófilos mas não apareceram dentro dos fagossomos.

A frequência da invasão bacteriana nos tecidos moles gengivais durante a doença periodontal não foi elucidada, mas vários relatos recentes, demonstraram que estas descobertas não são excepcionais na periodontite avançada.

Os tipos bacterianos vistos nos tecidos moles e descritos no presente estudo foram, largamente os G⁻ fusiformes, bastonetes cocobacilares curtos e espiroquetas em conglomerados ou como microorganismos isolados. Estes microorganismos foram encontrados no tecido conectivo em contato com a superfície do osso reabsorvido.

SAGLIE, CARRANZA e NEWMAN⁽²¹⁾ (1985) elaboraram um estudo em "TEM" e "SEM" e observaram a presença dos seguintes morfotipos bacterianos: cocos, bastonetes curtos, filamentos e poucas espiroquetas e estruturas micoplasmóides em casos de P.J. localizada. As bactérias cocobacilares encontradas exibiam características morfológicas similares às da *Actinobacillus actinomycetenumitans*.

SAGLIE, CARRANZA et al⁽²¹⁾ 1985, mencionaram que fato-

nes, tais como a atividade da hialuronidase e outros enzimas formados pelas bactérias podem também operar para permitir o deslocamento da bactéria em direção à lâmina basal. As bactérias foram também encontradas na superfície do osso reabsorvido, mas não é certo que elas participem dessa reabsorção.

Apesar da grande maioria dos autores concordarem com a invasão bacteriana nos tecidos moles durante a doença periodontal (FRANK e VOEGEL⁽³⁶⁾ 1978; FRANK⁽¹²⁾ 1980; SAGIE et al⁽²⁰⁾ 1982, GILBERT e JOHNSON⁽¹¹⁾ 1982, ALLENSPACH-PETRZILKA e GUGGENHEIN⁽¹⁶⁾ 1983, MANOR et al⁽¹⁷⁾ 1984, etc.) LIAKONI e NEWMAN⁽⁷⁾ acreditam que as bactérias não invadem os tecidos, e sim os seus produtos metabólicos.

Nos estudos empreendidos por eles poucas bactérias foram achadas nas camadas dos tecidos. Os diferentes tipos bacterianos vistos incluíram os cocos e bastonetes gram-positivos e gram-negativos. Considerando que se pensa que eles são imóveis, uma invasão ativa parece improvável.

Além disso, SANAYI et al⁽⁵⁰⁾ 1985, sugeriu que uma invasão ativa é histologicamente caracterizada por uma distribuição de bactérias ou uma comunidade organizada de microcolônias ou como uma massa difusa representando uma população bacteriana homogênea. E tais acúmulos não foram encontrados por LIAKONI e NEWMAN⁽⁷⁾. Portanto, estes pesquisadores são da opinião que os produtos metabólicos é que penetram nos tecidos periodontais e que o hospedeiro, em condições normais de saúde, pode dar uma resposta de defesa efetiva contra os microorganismos impedindo a invasão bacteriana.

SAGLIE, SMITH, NEWMAN, CARRANZA et al⁽²²⁾ (1985) em estudos feitos com pacientes portadores de P.J., observaram que as seções de gengiva doente gram-coloradas continham um alto número de bactérias no epitélio oral e no tecido conectivo adjacente. A bactéria *Actinobacillus actinomycesincomitans* foi achada nessa periodontite quando a técnica de imunoperoxidase foi usada.

Nas seções gengivais doentes gram-coloradas da periodontite, a invasão bacteriana apareceu de forma piramidal com a base voltada para a superfície epitelial oral e o vértice voltado para a lâmina basal. Este número reduzido de bactérias mais próximo à lâmina basal sugere que o epitélio oral age como uma barreira de defesa reduzindo a penetração bacteriana a colonização do tecido conectivo. Este conceito é sustentado por outros pesquisadores desde que TAKEUCHI et al⁽³⁸⁾ e PEKOVIC e FILLERY⁽²³⁾ descobriram penetrações bacterianas sulcular e na própria lâmina basal.

3 - Invasão bacteriana na D.P.C.I. de adulto

Na periodontite crônica a presença das bactérias nos tecidos gengivais foram primeiramente postulados por GOADBY⁽³⁹⁾ (1907) e descritas sob microscopia à luz por TURNER e DREW⁽⁴⁰⁾ (1918), BECKWITH et al⁽⁴¹⁾ (1925) e HABERMAN⁽⁴²⁾ (1959). Porém a penetração microbiana nos tecidos foi apenas considerada depois dos estudos ultraestruturais de TAKARADA et al⁽³⁰⁾ (1974), FRANK e VOEGEL⁽³⁶⁾ (1978), FRANK⁽⁴²⁾ (1980), ALLENSPACH-PETRZILKA e GUGGENHEIM^(31,46) (1982, 1983), SAGLIE et al^(43,24) (1982, 1986),

CARRANZA et al⁽¹⁵⁾ (1983) e MANOR et al⁽¹⁷⁾ (1984).

Cocóides gram-negativos e gram-positivos, bastonetes e bactérias filamentosas assim como espiroquetas típicas foram vistas penetrando o tecido conectivo da lâmina própria através do epitélio da bolsa periodontal. As bactérias também foram observadas em contato com a superfície óssea ou invadindo a dentina radicular e a polpa de dentes humanos livres de cáries mas periodontalmente afetados⁽⁴³⁾.

A invasão bacteriana através do epitélio gengival no caso da periodontite crônica foi inicialmente descrita por PEKOVIC e FILLERY⁽⁵⁾ (1984), sendo confirmada por SAGLIE et al^(21,92) e PERTUISET et al⁽⁴⁴⁾ (1987). Com uma técnica imunoperoxidase, SAGLIE et al⁽⁴⁵⁾ (1987) encontrou um alto número de células langerhans associadas com a invasão bacteriana epitelial.

A identificação bacteriana foi conseguida pela gram-coloração e microscopia à luz e de fluorescência. A presença intragengival de *Bacteroides melaninogenicus* e seus produtos foram demonstrados pela imunofluorescência (COURANT e RADER⁽⁴⁶⁾ 1966 e RADER, TAKEUCHI et al⁽⁷⁶⁾ (1974).

A penetração gengival do *Actinomyces viscosus*, *A. naeslundii*, *B. gingivalis* e com menos intensidade *B. ss. intermedius* foi confirmada com uma técnica de coloração dobrada imunofluorescente (PEKOVIC e FILLERY⁽⁵⁾ 1984).

A penetração bacteriana foi sempre associada com anticorpos e frequentemente com complementos. Com a técnica imunocitoquímica de peroxidase foi também associada, não com muita frequência, a *Capnocytophaga gingivalis*.

Finalmente, a penetração das bactérias nos tecidos periodontais moles tem sido demonstrada em dois diferentes modelos animais. Em ratos, ALLENSPACH-PETRZILKA e GUGGENHEIM⁽³³⁾ (1972) encontraram na invasão intra-gengival *B. melanothrogenicus* no inter-médios depois da inoculação oral, e SALLAY et al⁽⁴⁷⁾ (1984) na periodontite induzida em ratos imunossuprimidos (depois do tratamento com ciclofosfamida) observam a invasão bacteriana da gengiva. Nenhuma invasão bacteriana foi observada nos ratos de controle com periodontite experimental que não foram imunossuprimidos.

MANOR, LEBENDIGER e cols.⁽¹⁷⁾, 1983, investigando a invasão bacteriana nos tecidos periodontais em 7 casos de periodontite avançada em humanos, observaram quatro casos nos quais havia invasão do epitélio e conectivo e nos outros 3 casos havia ocorrido apenas invasão no epitélio da bolsa periodontal. Os microorganismos observados incluíam cocos, bastonetes, filamentos, fusiformes e espiroquetas e foram morfológicamente iguais aqueles observados na zona apical da placa subgengival. A maioria das bactérias mostraram paredes celulares gram-negativas típicas. As bactérias foram vistas em espaços intercelulares epiteliais alargados e entre fragmentos de células epiteliais desintegradas. No tecido conectivo as bactérias foram vistas entre restos de fibras colágenas e fibroblastos degenerados.

Não está inteiramente claro se a invasão bacteriana causou degeneração das células epiteliais ou se a degeneração celular inicial facilitou a penetração bacteriana. Contudo, a presença de grande número de microorganismos nos espaços intercelulares de células aparentemente intactas sustentam a definição de que a

penetração bacteriana é facilitada pela ruptura de juntas intracelulares.

MANOR e LEBENDIGER⁽¹⁷⁾ encontraram, no epitélio juncional, bactérias livres apenas nas áreas mais coronais, enquanto que em zonas mais apicais as bactérias foram encontradas apenas como inclusões fagocitadas pelos neutrófilos. A invasão do tecido conjuntivo foi acompanhada por lesões completas das fibras de colágeno e degeneração de fibroblastos. A área infectada foi caracterizada por infiltração de macrófagos e grande número de células plasmáticas consistentes com a lesão periodontal avançada. Fagocitose ativa por neutrófilos também foi observada.

TAKARADA⁽³⁰⁾, 1974 num estudo ultraestrutural do epitélio da bolsa na periodontite crônica relatou a presença de bactérias na zona apical da bolsa.

FRANK e VOEGEL⁽³⁶⁾, 1978 observou a presença de bactérias no tecido conectivo associado com a reabsorção do osso alveolar na periodontite humana avançada.

Em 1980, FRANK⁽¹²⁾ relatou uma invasão bacteriana no epitélio juncional e tecido conectivo em 8 dos 14 casos estudados.

SAGLIE et al^(13,14) (1982) demonstraram, usando SEM, a penetração bacteriana dentro do epitélio da bolsa e do epitélio juncional em 5 dos 8 casos de periodontite avançada estudados.

SAGLIE⁽¹³⁾ (1982) sugeriu que a penetração bacteriana no epitélio pode seguir os caminhos dos neutrófilos emigrando através dos espaços intercelulares na bolsa periodontal.

No epitélio da bolsa, a bactéria parece acumular-se no

lado epitelial da lâmina basal.

Parece que a lâmina basal é apenas uma barreira temporária e pode ocorrer a penetração do tecido conjuntivo.

Os mecanismos envolvidos na penetração bacteriana no tecido conjuntivo não são conhecidos mas é provável que as bactérias entrem no tecido conjuntivo através de interrupções na lâmina basal ou diretamente através de áreas ulceradas na parede da bolsa periodontal.

A aparição da placa subgengival apical descrita por FRANK⁽¹²⁾ está de acordo com os estudos microbiológicos de SLOTS⁽¹¹²⁾ (1979) e TANNER et al.⁽¹¹³⁾ (1979) e com as pesquisas ultraestruturais de LISTGARTEN⁽⁹¹⁾ (1976) e NEWMAN⁽⁹⁵⁾ (1976).

A placa mais apical constitui de bactérias filamentosas, bastonetes e cocóides com organismos gram-negativos predominantes. As espiroquetas foram comuns e a coexistência de ilhas de bactérias de morfologia similar sugeriram a presença de zonas microbiais diferentes nessas áreas. A presença de uma barreira de camadas múltiplas de neutrófilos entre as placas subgengivais e o epitélio juncional apical também foi notada por LISTGARTEN⁽⁹¹⁾ (1976) em doenças periodontais humanas bem como por GARANT⁽¹¹⁴⁾ (1976) no periodonto de ratos monoinfectados com *Actinomyces naeslundii*. Sugeriu-se que esta parede de neutrófilos poderia agir como uma barreira biológica à invasão dos tecidos pelas bactérias (GARANT⁽¹¹⁴⁾ 1976).

Certamente a fagocitose bacteriana é observada nos neutrófilos e foi mostrado que a fusão de grânulos lisossômicos com

os fagossomos leva à desgranulação dos neutrófilos (ZUCKER-FRANKLIN e HIRSCH 1964) e à matança intercelular das bactérias (COHN⁽¹⁰⁶⁾ 1963), mas durante a fagocitose foi mostrado também que os neutrófilos podem liberar enzimas lisossômicos produzindo mudanças inflamatórias e danificação do tecido (TAICHMAN⁽¹²⁾, PRUZANSKI e RONADINE⁽¹²⁾ 1964; JANOFF⁽¹²⁾ 1972; WRIGHT e MOLARESTA⁽¹²⁾ 1972; RACHNIN et al⁽¹²⁾ 1977). Concluindo, FRANK⁽¹²⁾ mostrou a possibilidade de invasão bacteriana nas paredes apicais das bolsas periodontais profundas.

LIAKONI, BARBER e NEWMAN⁽⁷⁾, 1987 usaram a microscopia eletrônica para examinar as paredes do tecido mole da bolsa periodontal de cinco pacientes com periodontite crônica, e foram observadas poucas bactérias neste tecido, sem importar qual era o nível de destruição tecidual.

Ajuntamentos focais de bactérias foram extremamente raros. Os diferentes tipos bacterianos vistos, incluíram os cocos e bastonetes gram-positivos e gram-negativos.

FRANK⁽¹²⁾, 1980 observou a presença de bactérias na parede apical das bolsas periodontais e foi observada em 8 casos de periodontite avançada dos 14 pacientes estudados. Foram observados microorganismos filamentosos, bastonetes e coócidas com paredes celulares predominantemente gram-negativos nos espaços intercelulares epiteliais alargados. No tecido conectivo, estes microorganismos foram achados entre fragmentos celulares muito danificados e fibrilas colágenas.

SAGLIF, NEWMAN, CARRANZA e colabs.⁽¹⁴⁾, 1982 usando a

microscopia eletrônica de varredura identificaram bactérias invadindo a parede epitelial das bolsas periodontais profundas em 5 dos 8 casos estudados. Em um dos casos as bactérias atingiram o tecido conectivo. Cocos, bastonetes curtos, filamentos e espiroquetas foram os morfotipos bacterianos identificados. Uma formação espigóide, com algumas espiroquetas espalhadas, foi achada em um dos casos entre as células epiteliais de formação.

A penetração bacteriana no epitélio atingiu a lâmina basal onde aparentemente pararam e se acumularam. Em áreas onde a lâmina basal apareceu interrompida, as bactérias estavam no tecido conectivo. Elas também podem penetrar através de áreas ulceradas na parede da bolsa periodontal.

SAGLIE et al ⁽¹⁴⁾ 1982, observaram em seus estudos perfurações circulares no epitélio, aparentemente correspondentes a caminhos de emigração de neutrófilos através dos espaços intercelulares. Existe a possibilidade que estes espaços possam ser pontos iniciais de entrada para as bactérias no epitélio e/ou no tecido conjuntivo. Outros fatores desconhecidos tais como a atividade das enzimas secretadas pelas bactérias podem também operar para permitir o deslocamento da bactéria em direção à camada basal.

Muitos estudos apontaram que a presença da bactéria nos tecidos pode ser devido à sua introdução artificial durante a obtenção ou processamento do tecido.

As descobertas apresentadas por SAGLIE ⁽¹⁴⁾ mostraram bactérias nos espaços intercelulares específicos com um padrão

definido de penetração e não um arranjo aleatório das bactérias.

SAGLIE, SMITH e NEWMAN et al⁽²¹⁾ (1985) encontraram nas secções gengivais doentes gram-coloradas de periodontite, uma invasão bacteriana de forma piramidal com a base voltada para a superfície epitelial oral e o vértice voltado para a lâmina basal. Esse número reduzido de bactérias mais próximo à lâmina basal, sugere que o epitélio oral age como uma barreira de defesa reduzindo a penetração bacteriana ou a colonização do tecido conjuntivo. Esse conceito é sustentado por outros pesquisadores desde que TAKEUCHI⁽³⁰⁾ 1970 e depois PEKOVIC e KILJERY⁽²³⁾ 1984 observaram penetrações bacterianas similares nas camadas do epitélio sulcular.

JÁ LIAKONI, BARBER e NEWMAN⁽⁷⁾ 1987 não consideram que a invasão bacteriana tenha uma relação direta com a doença periodontal, eles indicariam que os produtos metabólicos dessas bactérias associados a uma resposta deficiente do hospedeiro seriam os mais prováveis de estarem envolvidos.

SAGLIE, PERTUISSET, SMITH e colabs.⁽⁴⁵⁾, 1986 examinando secções de biópsia da gengiva em casos de doença periodontal, encontraram grande número de células de Langerhans. As células de Langerhans tem funções imunológicas como células fagocíticas e como células que apresentam antígenos para os linfócitos T e B.

A hematoxilina e a eosina foram usadas para o estudo do tecido, a gram coloração para avaliar a invasão bacteriana, anticorpos monoclonais anti-Leu-6 associados com a técnica de peroxidase para identificar células de Langerhans.

A presença bacteriana na gengiva tem sido demonstrada. Microorganismos presentes no epitélio oral de centenas de gengivas inflamadas foram descritos recentemente. A identificação imunocitoquímica do *Actinobacillus actinomycescomitans* e *Bacteroides gingivalis* no epitélio dão suporte para seus potenciais de invasão ativa desde que foi demonstrado que ambas as bactérias têm uma capacidade de invasão. As células de Langerhans tem sido identificadas pelas inúmeras investigações já feitas. A função das células de Langerhans é considerada imunológica.

NEWCOMB et al⁽⁴⁰⁾, 1982 mostraram que a placa dental que acumularam por 3 semanas, emitiu uma resposta para as células de Langerhans localizadas no epitélio oral da gengiva.

Um papel imunológico para as células de Langerhans na doença periodontal crônica foi também postulada por Di FRANCO et al⁽⁴¹⁾ em 1985.

ALLENSPACH-PETRZILKA e GUGGENHEIM⁽¹⁶⁾, 1983 fizeram um estudo sobre a importância da invasão bacteriana na patogênese da periodontite, e a análise dos seus materiais demonstraram claramente a invasão bacteriana do tecido hospedeiro mas não concluíram qual era a influência bacteriana na doença periodontal.

ALLENSPACH-PETRZILKA e GUGGENHEIM⁽¹⁶⁾ 1983 observaram claramente invasão bacteriana nos tecidos periodontais humanos. As fibras colágenas mostraram diferentes estados de preservação, indo de fibras intactas até a desintegração total. Contudo, a microscopia eletrônica dá apenas discernimento numa situação momentânea, a sequência de eventos levando a uma situação final será

sempre fragmentada e, desse modo, aberta à deduções hipotéticas. Portanto, o material disponível não permitiu que fosse feita nenhuma afirmação na importante questão: o tecido danificado seria uma consequência de uma citotoxicidade bacteriana direta ou devido a uma reação perniciosa do sistema imune do hospedeiro?; embora a maioria dos autores acreditem na ação das bactérias e na suposta de defesa do hospedeiro como os responsáveis pelos danos teciduais.

Finalizando, as discussões relativas à etiologia da doença periodontal tem circulado por quase um século.

Duas correntes fundamentais de pensamento tem sido sustentadas:

- aqueles que acreditam num papel etiológico primário das bactérias e seus produtos metabólicos no processo da doença; e de outro lado,
- aqueles que postulam que a colonização bacteriana subgingival é um evento secundário.

Este grupo pode ainda ser dividido naqueles que dão ênfase ao papel dos fatores locais, tais como hipofunção, trauma oclusal ou irritação mecânica por cálculos; outros pesquisadores enfatizam a importância de funções do hospedeiro não balanceadas mais gerais, surgindo como consequência de desordens vegetativas, idade, má-nutrição e hipo ou hiperfunção das glândulas endócrinas.

Entre os defensores da etiologia bacteriana, um grupo sustentou um papel não-específico das bactérias no processo da

doença, considerando que outros associam entidades distintas da doença com bactérias específicas.

Todos estes aspectos foram revistos por MATHIS⁽¹⁴⁾ (1948) e PAGE e SCHROEDER⁽²⁵⁾ (1982).

Estudos sobre a flora cultivável predominante das bolsas periodontais (revistos por VAN PALESTEIN HELDERMAN⁽¹⁵⁾, 1981) parecem favorecer o conceito da hipótese da placa específica.

Os resultados da intervenção da bactéria nos tecidos periodontais e o estado imune do hospedeiro foram cuidadosamente estudados durante a última década.

Análises de infiltrados inflamatórios mostraram padrões celulares típicos distintos, correlacionados com diferentes estágios de periodontite. Este conhecimento levou a um conceito imunopatológico hipotético e um tanto complicados da destruição do tecido, que é ativada por antígenos bacterianos ou mitógenos, propagando através do epitélio junctional ou da bolsa periodontal com permeabilidade aumentada do tecido conectivo (revisto por SEYMOUR et al⁽¹⁶⁾ 1976b).

LIAKONI, BARBER e NEWMAN⁽⁷⁾ (1987) estudando a penetração bacteriana nos tecidos moles em casos de periodontite crônica usando microscopia eletrônica de transmissão, observaram que as bactérias estavam espalhadas pelo epitélio e pelo tecido conectivo e que muitas células inflamatórias não pareceram estar localizadas em regiões de acentuada perda de colágeno. Acúmulos de grande número de bactérias foram extremamente raros e foram achados apenas na superfície epitelial ou em espaços artefatos dentro dos

tecidos mais profundos.

Segundo estes pesquisadores, as descobertas indicam que a destruição tecidual associada com a periodontite não está diretamente relacionada à invasão bacteriana.

PERTRUISIT, SAGLIE, LOFTHUS e colabs.⁽⁴⁴⁾, 1987 estudando a doença periodontal recorrente observaram que pesquisas anteriores mostraram que em biópsias fixadas em locais de periodontite não-tratados, as bactérias estavam presentes entre as células epiteliais e no tecido conectivo.

No estudo feito por eles, foram examinados secções gram pigmentadas dos locais gengivais doentes onde a doença voltou depois de um tratamento periodontal cirúrgico. Este estudo apontou que a bactéria restante na gengiva depois do tratamento por modalidades convencionais tais como: raspagem e alisamento da raiz e cirurgia de retalho podem ser um mecanismo patogénico importante na doença periodontal recorrente.

COHN⁽¹⁰⁶⁾ em 1935, descobriu que depois de 10 dias de tratamento periodontal de um paciente com gengivite ulceronecrotizante, a bactéria ainda permanecia dentro da gengiva. Ele apontou a ineficiência dos métodos terapêuticos e a possibilidade dos microorganismos intragengivais restantes serem a causa dos locais refratários no tratamento periodontal.

EGLOFF et al⁽¹⁰⁷⁾ mostraram que altos números de microorganismos intragengivais persistiam no tecido conectivo gengival dos doentes que tiveram suas raízes raspadas e alisadas 10 dias antes da obtenção da biópsia.

CARRANZA et al.⁽¹⁵⁾ apontaram a possibilidade de que os organismos intragengivais remanescentes após o tratamento periodontal possuem o poder de recolonizar a bolsa periodontal.

CHRISTERSON et al.⁽¹⁰⁸⁾, demonstraram que a escamação e o alisamento da raiz e a terapia cirúrgica foram insuficientes para a erradicação completa do *A. actinomycetemcomitans* da gengiva dos pacientes com periodontite juvenil. O tratamento com tetraciclina foi bem sucedido na erradicação destes casos.

GORDON et al.⁽¹⁰⁹⁾ avaliaram o uso da clindamicina como um adjunto à terapia periodontal convencional nos tratamentos de pacientes que anteriormente tinham sido tratados sem sucesso com raspagem e alisamento da raiz, cirurgia periodontal e uso da tetraciclina. Eles descobriram que a clindamicina é útil em casos que não respondem à métodos de tratamentos convencionais.

Estes dados sugerem que a erradicação dos microorganismos intragengivais pode ser um pré-requisito para o sucesso da terapia periodontal. As bactérias se mostraram presentes no epitélio oral e no tecido conectivo adjacente. A raspagem e o alisamento das raízes e a cirurgia de retalho podem não eliminar as bactérias dessas áreas.

4 - A doença periodontal em animais

SANAVI, LISTGARTEN, BOYD e colabs.⁽⁵⁰⁾ (1984) fizeram um estudo sobre a colonização e o estabelecimento da invasão bacteriana no periodonto de ratos imunossuprimidos. Estes animais apre

sentaram invasão bacteriana nos tecidos periodontais, e a bactéria invasora consistia de microcolônias de células cocóides e bastonetes gram-negativos e gram-positivos localizados perto da superfície tecidual. Cada microcolônia consistia de microorganismos morfológicamente homogêneos e os locais mais profundos revelaram uma invasão difusa de bastonetes gram-negativos que pareciam morfológicamente similares. Os resultados também concordam com as conclusões de GILLET e JOHNSON⁽¹¹⁾ e WERTHEIMER⁽⁵¹⁾ que postularam que defesas do hospedeiro comprometidos podem ser um pré-requisito para a invasão bacteriana.

Apenas locais ligados em ratos imunossuprimidos exibiram a degeneração de ambos epitélios junctional e sulcular com colônias bacterianas consistindo de morfotipos celulares similares nos tecidos moles adjacentes e no osso alveolar. Foi observada ulceração persistente sempre acompanhada por invasão bacteriana tecidual. Essa perda de integridade epitelial priva o hospedeiro de uma barreira maior contra a invasão bacteriana.

ERICSSON, LINDHE, LILJENBERG e colabs.⁽⁸⁾ (1987) fizeram um estudo sobre a invasão bacteriana em cachorros beagle que foram tratados com tetraciclina. Os resultados obtidos mostraram que a tetraciclina não melhorou o quadro clínico da gengivite e também reduziu o tamanho das células inflamatórias infiltradas na gengiva e reduziu o tamanho de neutrófilos e macrófagos no epitélio da bolsa. Um fato interessante ocorrido foi a ausência de bactérias no epitélio da bolsa e no tecido conectivo adjacente. A descoberta que a bactéria não conseguiu invadir ou penetrar o te-

cido gengival altamente inflamado pode ser interpretada como indicadora que no modelo de ligamento do cachorro beagle, a invasão bacteriana não é um fator crítico para manter o caráter destrutivo do processo. Há, na realidade, razões para sugerir que as reações inflamatórias na gengiva pode ter prevenido uma invasão de microorganismos.

SILVERSTEIN, SCHUSTER e colabs.⁽⁵²⁾ (1990) elaboraram um estudo sobre a penetração bacteriana na gengiva de cachorros beagle adultos com periodontite ocorrida naturalmente.

Os resultados sugerem que, normalmente, já existem microorganismos presentes nos tecidos periodontais e que seus números são maiores nos locais doentes. Relatou-se que as bactérias estão especificamente localizados no epitélio da bolsa, no tecido conectivo, no osso alveolar e no epitélio oral.

Estes resultados conflitaram com um relato de SAGLIE e outros⁽⁴⁵⁾ que concluíram que a gengiva normal não contém qualquer microorganismo intragengival.

No tecido doente o maior número de bactérias achadas no epitélio oral foi também encontrado para SAGLIE e outros^(22,46) que deram muita importância à estas observações na etiologia e na gravidade da doença periodontal.

Diante das discrepâncias e divergências encontradas sobre a presença das bactérias nos tecidos orais sugerimos que os microorganismos teciduais periodontais derivaram de três fatores:

- 1 - Endógeno, e provavelmente de origem vascular.

2 - Exógeno, isto é, da cavidade oral e passando através do tecido, especialmente do tecido doente.

3 - Translocados durante a manipulação do tecido incluindo o procedimento de obtenção de amostras.

Os dados deste estudo atual mostraram que as bactérias presentes nas espécies dos tecidos dento-gengivais do cachorro beagle foram predominantemente bactérias cocos, mas não filamentosos nem bastonetes.

Esta descoberta contrasta com os relatos de SAGLIE e outros^(14,53,54) e ERICSSON e outros⁽⁶⁾ que observaram bastonetes, filamentos e cocos em casos de periodontite avançada.

Deste modo pareceriam que os resultados são uma função do sistema de modelo particular.

Nos limites deste estudo no cachorro beagle, a biópsia causa a translocação das bactérias nos tecidos dento-gengivais e um número de bactérias estão presentes nos tecidos o tempo todo independente da saúde da gengiva.

6 - Conclusão

De todas as evidências disponíveis parece que a invasão bacteriana nos tecidos durante a GUNA, a periodontite juvenil e a periodontite do adulto foi estabelecida.

Já que a invasão bacteriana geralmente é observada em casos avançados, isto não é provavelmente um pré-requisito para o desenvolvimento da doença periodontal, mas certamente constitui

uma parede importante dos processos patológicos.

Parece também que os tipos de bactérias invasoras podem ser diferentes para cada doença periodontal e são necessários futuras investigações para uma identificação precisa das associações bacterianas intrateciduals envolvidos.

Os microorganismos podem invadir os tecidos periodontais moles através do epitélio da bolsa periodontal ou do epitélio gengival exterior.

A invasão epitelial pode ocorrer através de espaços intercelulares alargados ou pela penetração celular. Esta invasão bacteriana contribuem para a destruição de ambos os tecidos conectivo e epitelial e até mesmo da crista alveolar.

Os mecanismos de defesa local do hospedeiro são essenciais para o desenvolvimento da invasão dos microorganismos no tecido que ocorre apenas quando estes mecanismos estiverem comprometidos.

Alguns autores usaram cobaias imunossuprimidas para a verificação da invasão microbiana e esta foi confirmada. É provável que a redução dos neutrófilos e células mononucleares resultem em susceptibilidade aumentada à invasão.

De acordo com as investigações obtidas por microscopia eletrônica, a penetração bacteriana é altamente dependente do comportamento da camada superficial de neutrófilos localizados entre a placa subgengival e o epitélio da bolsa periodontal.

A invasão bacteriana parece ocorrer quando os microorganismos puderem atravessar a camada de neutrófilos. Esses neu-

trófilos superficiais podem liberar enzimas lisossômiais para fagocitose e destruir a bactéria da placa intracelularmente bem como extracelularmente.

Mas os microorganismos invasores também podem matar os neutrófilos e em tais condições a barreira formada por eles é insuficiente para prevenir esta invasão.

As condições exatas da invasão bacteriana devem ser mais investigadas, mas sabe-se agora que as bactérias podem produzir enzimas como collagenases e proteases destruindo as defesas do organismo.

Finalmente, deve-se mencionar que a penetração bacteriana no epitélio juncional é possível na ausência de neutrófilos.

Nem aqueles que acreditam que bactérias específicas nas bolsas periodontais são responsáveis pelo processo das doenças, nem os que mais sofisticadamente explicaram a consequência da destruição do tecido, podem dar uma explicação plausível para a natureza cíclica de todas as formas clínicas de periodontite, doenças que são caracterizadas por inflamação e destruição altamente agudas seguidas por períodos de quietude.

A única certeza é a unanimidade dos autores em concluir que é necessário pesquisas futuras com métodos mais avançados para a identificação do papel da invasão bacteriana na patogênese da doença periodontal.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - LOE, H. et al (I) Actualidad y futuro de la investigación de la etiología y la prevención de la enfermedad periodontal; (II) Revisión - Placa Dental, su prevención y control. Washington, D.C. (USA), Organización Panamericana de la Salud, 1973.
- 2 - PAGE, C.R.; SCHLUGER, S. et al. Estrutura e patogenia. In: Periodontia: fenômenos básicos, tratamento e inter-relações oclusais e restauradoras. PAGE, C.R., et al. Ed. Interamericana, 1981, Rio de Janeiro, pp. 157-87.
- 3 - MOORE, W.E.C. Microbiology of periodontal disease. J. Periodont. Res., 22: 335-341, 1987.
- 4 - WOLFF, F.L.; PIHLSTROM, L.B. et al. Distinct categories of microbial forms associated with periodontal disease. J. Periodont. Res., 20: 497-502, 1985.
- 5 - PEKOVIC, D.D.; FULLERY, D.E. Identification of bacteria in immunopathological mechanisms of human periodontal diseases. J. Periodont. Res., 19: 329-351, 1984.
- 6 - BAEHNI, P.; TSAI, C.C.; TAICHMAN, S.N. et al. Interaction of inflammatory cells and oral microorganisms. J. Periodont. Res., 13: 333-348, 1978.
- 7 - LJAKONI, H. et al. Bacterial penetration of pocket soft tissues in chronic adult and juvenil periodontitis cases. An ultrastructural study. J. Clin. Periodont., 14: 22-28, 1987.

- 8 - ERICSON, I.; LINDHE, J. et al. Lack of bacterial invasion in experimental periodontitis. *J. Clin. Periodontol.*, 14: 478-485, 1987.
- 9 - LOESCHE, J.W.; LAUGHON, R.B. et al. The bacteriology of acute necrotizing ulcerative gingivitis. *J. Periodontol.*, 53(4): 223-30, 1982.
- 10 - COURTOIS, J.G.; COBB, M.C.; KILLOY, J.W. Acute necrotizing ulcerative gingivitis. A transmission electron microscope study. *J. Periodontol.*, 54(11): 671-79, 1983.
- 11 - GILLET, R.; JOHNSON, W.M. Bacterial invasion of the periodontium in a case of juvenile periodontitis. *J. Clin. Periodontol.*, 9: 93-100, 1982.
- 12 - FRANK, M.R. Bacterial penetration in the apical pocket wall of advanced human periodontitis. *J. Periodont. Res.*, 15: 563-573, 1980.
- 13 - SAGLIE, R. et al. Scanning electron microscopy of the gingival wall of deep periodontal pockets in human. *J. Periodont. Res.*, 17: 284-293, 1982a.
- 14 - ——— Bacterial invasion of gingiva in advanced periodontitis in humans. *J. Periodont. Res.*, 53: 217-222, 1982b.
- 15 - CARRANZA, F.A. et al. Scanning and transmission electron microscopic study of tissue invading microorganisms in localized juvenile periodontitis. *J. Periodont. Res.*, 54: 598-617, 1983.
- 16 - ALIENSPACH-PETRZILKA, E.G.; GUGGENHEIM, B. Bacterial invasion of the periodontium; an important factor in the pathogenesis of periodontitis? *J. Clin. Periodontol.*, 10: 609-17, 1983.

- 17 - MANOR, A.; LEBENDIGER, M.; SCHIFFER, A. et al. Bacterial invasion of periodontal tissues in advanced periodontitis in humans. *J. Periodontol.*, 55(10): 567-73, 1984.
- 18 - LILJENBERG, B. & LINDHE, J. Juvenile periodontitis. Some microbiological, histopathological and clinical characteristics. *J. Clin. Periodontol.*, 7: 48-61, 1980.
- 19 - MULLER, P.H.; FLORES DE JACORY, L. The composition of the subgingival microflora of young adults suffering from juvenile periodontitis. *J. Clin. Periodontol.*, 12: 113-23, 1985.
- 20 - SAGLIE, R.F.; CARRANZA, A.F. et al. Identification of tissue-invading bacteria in human periodontal disease. I. *Periodont. Res.*, 17: 452-55, 1982.
- 21 - -----; CARRANZA, A.F.; NEWMAN, G.M. The presence of bacteria within the oral epithelium in periodontal disease. I. *J. Periodontol.*, 56(10): 618-24, 1985.
- 22 - -----; SMITH, T.C.; NEWMAN, G.M.; CARRANZA, A.F. et al. The presence of bacteria in the oral epithelium in periodontal disease. II. *J. Periodontol.*, 57(8): 492-500, 1986.
- 23 - PEKOVIC, D. & FILLERY, E. Identification of bacteria in immunopathological mechanisms of human periodontal diseases. *J. Periodont. Res.*, 19: 329, 1984.
- 24 - PAGE, R.C. et al. Assessment of serum antibody patterns and analysis of subgingival microflora of members of a family with a high prevalence of early-onset periodontitis. *Infections and immunity*. 49: 742-750, 1985.

- 25 - JORDAN, H.V. & KEYES, R.H. Periodontal lesion in the syrian hamster. II. Findings related to an infections an transmissible component. Archs oral Biol., 9: 372-400, 1964.
- 26 - PAGE, R.C. & SCHROEDER, H.E. Periodontitis in man and other animals. A comparative review; pp. 17-21 (Karger, Basel, 1982).
- 27 - PALESTEIN HILDERMAN, W.H. van Microbial etiology of periodontal disease. J. Clin. Periodont., 8: 261-280, 1981.
- 28 - SOCRANSKY, S.S. Relationship of bacteria to etiology of periodontal disease. J. Dent. Res., 49: 203-222, 1970.
- 29 - LISTGARTEN, M.A. Electron microscopic observations of the bacterial flora of acute necrotizing ulcerative gingivitis. J. Periodont., 36: 328-339, 1965.
- 30 - TAKARADA, H. et al. Ultrastructural studies of human gingiva. J. Periodont., 45: 155-169, 1974.
- 31 - ALLENSPACH-PETRZILKA, G.E. et al. Bacteroides melaninogenicus ss intermedius invasion of rat gingival tissue. J. periodont. Res., 17: 456-459, 1982.
- 32 - Mac DONALD, J.B. et al. The pathogenic components of an experimental fusospirochetal infection. J. Infect. Dis., 98: 15, 1956.
- 33 - LISTGARTEN, M.A. et al. The distribution of spirochetes in the lesion of acute necrotizing ulcerative in the lesion of acute necrotizing ulcerative gingivitis. J. Periodontol., 36: 328, 1965.

- 34 - MICHEL, C. Etudes ultrastructurale de los alveolaire au cours des parodontolyses. Parodontologie, 23, 191-210, 1969.
- 35 - FRANK, R.M. Apposition at resorption de los escolaire. Reviu d'Orthopedie Dento-Faciales, 6, 2101-220, 1972.
- 36 - ——— & VOGEL, J.C. Bacterial bone resorption in advanced cases of human periodontitis. J. Periodont. Res., 13, 251-261, 1978.
- 37 - CIANCOLA, L.J. et al. Devective polymorphonuclear leucocyte function in a human periodontal disease. Nature, 265, 445-447, 1977.
- 38 - TAKEUCHI, H. et al. Cellular components of bacteroides melaninogenicus in the inflamed human gingivitis. J. Osaka Dent. Univ., 4: 123-130, 1970.
- 39 - GOARDY, K.W. Erasmus Wilson's lecture on pyorrhoea alveolaris. Lancet 1: 633-638, 1907.
- 40 - TURNER, J.G. et al. An experimental inquiry into the bacteriology of pyorrhoea. Proc. Royal Soc. Med., 12: 104-118, 1918.
- 41 - BECKWITH, T. et al. A histologic study of the gum in pyorrhoea. J. Am. Dent. Ass., 12: 129-153, 1925.
- 42 - HABERMAN, S. Inflammatory and non-inflammatory responses to gingival invasion by microorganisms. J. Periodont., 30: 190-195, 1959.
- 43 - FRANK, M.R. In microbial tissue invasion a reality during periodontal breakdown? Periodontology today. Int. Congr., Zurich 1988, pp. 150-159 (Karger, Brasil, 1988).

- 44 - PERTUISSET, J.H. et al. Recurrent periodontal disease and bacterial presence in gingiva. J. Periodont., 58: 553-558, 1987.
- 45 - SAGLIE, F.R. et al. The presence of bacteria in the oral epithelium in periodontal disease. III. J. Periodontol., 58: 417-422, 1987.
- 46 - COURANT, P. & BADER, H. Bacteroides melaninogenicus and its products in the gingiva of man. J. periodontics., 4: 131-136, 1966.
- 47 - SALLAY, K. et al. Bacterial invasion of oral tissues of immunosuppressed rats. Inf. Immunity, 43: 1091-1094, 1984.
- 48 - NEWCOMB, G.M. Association between plaque accumulation and langerhans cell numbers in the oral epithelium of attached gingiva. J. clin. Periodontol., 9: 297, 1982.
- 49 - DI FRANCO, C.F. Identification of langerhans cells in human gingival epithelium. J. Periodontol., 56: 48, 1985.
- 50 - SANAYI, F. et al. The colonization and establishment of invading bacteria in periodontium of ligature-treated immunosuppressed rats. J. Periodontol., 35: 406, 1984.
- 51 - WERTHEIMER, F.W. A histologic study of micro-organisms and human periodontal tissues. J. Periodontol., 35: 406, 1984.
- 52 - SILVERSTEIN, H.L. et al. Bacterial penetration of gingiva in the adult beagle dog with periodontitis. J. Periodontol., 61(1): 35-41, 1990.
- 53 - SAGLIE, F.R. et al. Bacterial invasion in experimental gingivitis in man. J. Periodontol., 58: 837, 1987.

- 54 - SAGLIE, F.R. et al. Immunohistochemical localization of Actinobacillus actinomycetecomitans infections of gingival tissue in localized juvenile periodontitis. Acta Odontol., 1: 14, 1984.
- 55 - LISTGARTEN, M.A. & HELLDEN, L. Relative distribution of bacteria at clinically healthy and periodontally diseased sites in human. J. Am. Periodontol., 5: 115-132, 1978.
- 56 - LINDHE, J.; RILYBERG, B. & LISTGARTEN, M. Some microbiological and histopathological features of periodontal disease in man. J. Periodontol., 51: 264-269, 1980.
- 57 - ARMITAGE, G.C.; DICKINSON, W.R. et al. Relationship between the percentage of subgingival spirochetes and the severity of periodontal disease. J. Periodontol., 53: 550-556, 1982.
- 58 - KEYES, P.H. & RAMS, T.E. A rationale for management of periodontal diseases: rapid identification of microbial "therapeutic targets" with phase-contrast microscopy. J. Am. dent. Ass., 106: 803-812, 1983.
- 59 - LISTGARTEN, M.A.; LINDHE, J. & HELLDEN, L. Effect of tetracycline and/or scaling on human periodontal disease. J. Clin. Periodontol., 5: 246-271, 1978.
- 60 - WENNSTROM, J. & LINDHE, J. Effect of hydrogen peroxide on developing plaque and gingivitis in man. J. Clin. Periodontol., 6: 115-130, 1979.
- 61 - MOUSQUES, T. et al. Effect of scaling and root planing on the composition of the human subgingival microbial flora. J. Periodont. Res., 15: 144-151, 1980.

- 80 - ROSENBERG, E.S. et al. The composition of the subgingival microbiota after periodontal therapy. *J. Periodontol.*, 52: 435-441, 1981.
- 81 - MAGNUSSON, I. et al. Recolonization of a subgingival microbiota following scaling in deep pockets. *J. Clin. Periodontol.*, 11: 193-207, 1984.
- 82 - LISTGARTEN, M.A. & SCHIFTER, C. Differential darkfield microscopy of subgingival bacteria as an aid in selecting recall intervals: results after 18 months. *J. Clin. Periodontol.*, 9: 305-316, 1977.
- 83 - NISENGARD, R.J. The role of immunology in periodontal disease. *J. Periodontol.*, 48: 505-516, 1977.
- 84 - HAUSMAN, E.; NAIR, B.C. & DZIAN, R. Bacterial components which result in bone loss. In: *Host-Parasite Interactions in Periodontal Diseases*, pp. 151-159, eds. Genco, R.J. and Mughenhagen, S.E., Washington, D.C.; A.M.S. Publications, 1982.
- 85 - ELLEN, R.M. Oral colonization of gram-positive bacteria significant to periodontal diseases. In: *Host-Parasite Interactions in Periodontal Diseases*, pp. 98-111, eds. Genco, R.J. and Mughenhagen, S.E., Washington, D.C.; A.M.S. Publications, 1982.
- 86 - JORDAN, H.V. Pathogenicity of actinomyces species. In: *Host-Parasite Interactions in Periodontal Diseases*, pp. 169-178, eds. Genco, R.J. and Mughenhagen, S.E., Washington, D.C.; A.M.S. Publications, 1982.
- 87 - GIBSON, W.A. & SHANNON, I.L. Microorganisms in human gingival tissues. *J. Periodontics*, 2: 119-121, 1964.

- 70 - SCHWARTZ, J.; STINSON, F.L. & PARKER, R.R. The passage of tritiated bacterial endotoxin across intact gingival cervicular epithelium. J. Periodontol., 43: 270-276, 1972.
- 71 - MAYRON, I.W. & LOISELLE, R.J. Bacterial antigens and antibodies in human periodontal tissues. J. Periodontol., 44: 164-166, 1973.
- 72 - RIZZO, A.A. Histologic and immunologic evaluation of antigen penetration into oral tissues after topical application. J. Periodontol., 41: 210-213, 1970.
- 73 - RANNEY, R.R. Immunofluorescent localization of soluble dental plaque components in human gingiva affected by periodontitis. J. Periodont. Res., 13: 99-108, 1978.
- 74 - TEMPEL, T.R.; SNYDERMAN, R. et al. Factors from saliva and oral bacteria chemotactic for polymorphonuclear leukocytes. Their possible role in gingival inflammation. J. Periodontol., 4: 71-79, 1970.
- 75 - TSUTSUMI, M.; UTSUMI, N. & TSUBAKIMOTO, K. Cellular components of staphylococci and streptococci in inflamed human gingiva. J. Dent. Res., 47: 663, 1968.
- 76 - TAKEUCHI, H.; SUMITANI, M. et al. Oral microorganisms in the gingiva of individuals with periodontal disease. J. Dent. Res., 53: 132-136, 1974.
- 77 - NISENGARD, R.J. & BEUTNER, E.H. Immunologic studies of periodontal disease. V. IgG type antibodies and skin test responses to Actinomyces and mixed oral flora. J. Periodontol., 41: 149-152, 1970.

- 76 - SOCRANSKY, S.S.; TANNER, A.C.R. et al. Present status of studies on the microbial etiology of periodontal diseases. In: Host-Parasite Interactions in Periodontal Diseases, pp. 1-12, eds. Genco, R.J. and Muehlenhagen, S.E., Washington, D.C.; A.M.S. Publications, 1982.
- 79 - SLOTS, J. Importance of black-pigmented bacteroides in human periodontal diseases. In: Host-Parasite Interactions in Periodontal Diseases, pp. 27-45, eds. Genco, R.J. and Muehlenhagen, S.E., Washington, D.C.; A.M.S. Publications, 1982.
- 80 - HORTON, J.E.; OPPENHEIM, J.J. et al. A role for cell mediated immunity in the pathogenesis of periodontal disease. J. Periodontol., 45: 351-360, 1974.
- 81 - LENNER, T. Immunological aspects of dental caries and periodontal disease. British Medical Bulletin, 31: 125-130, 1975.
- 83 - SCHENKELN, H.A. & GENCO, R.J. Gingival fluid and serum in periodontal disease. I. Quantitative study of immunoglobulins and complement components and other plasma proteins. J. Periodontol., 48: 772-777, 1977a.
- 83 - SCHENKELN, H.A. & GENCO, R.J. Gingival fluid and serum in periodontal disease. II. Evidence for cleavage of complement components C₃, C₅ proactivator (factor B), and C₄ in gingival fluid. J. Periodontics, 48: 778-784, 1977b.
- 84 - TOTO, P.D.; IJN, L.M. & GARGIULO, A. Ummunoglobulins and complement in human periodontitis. J. Periodontol., 49: 631-634, 1978.

- 85 - RANNY, R.R.; RUDDY, S. et al. Immunological studies of young adults with severe periodontitis. I. Medical evaluation and tumoral factors. J. Periodont. Res., 16:390-402, 1981.
- 86 - TEW, J.G.; MILLER, G.A. et al. Immunological studies of young adults with severe periodontitis. II. Cellular factors. J. Periodont. Res., 16: 403-18, 1981.
- 87 - SNYDERMAN, R. Role for endotoxin and complement in periodontal tissue destruction. J. Dent. Res., 51 (suppl. 2): 356-361, 1972.
- 88 - KAGAN, J.M. Local immunity to bacteroides gingivalis in periodontal disease. J. Dent. Res., 59: 1750-1756, 1980.
- 89 - SEYMON, G.J. & GREAVES, M.F. Identification of cells exprimg T and p 28,33 (Ia-like) antigens in sections of human chronic inflammatory periodontal disease. J. Periodont. Res., 15: 453-461, 1980.
- 90 - COOMBS, R.R.A & GELL, P.G.H. Classification of allergic reactions responsible for clinical hypersensitivity and disease. In: Clinical Aspects of Immunology, p. 761, eds. Gell, P.G.H., Coombs, R.R.A. & Lach, Blackwell Scientific Publications, 1975.
- 91 - LISTGARTEN, M.A. Structure of the microbial flora associated with periodontal disease and health in man. A light and electron microscopic study. J. Periodontol., 47, 1-18, 1976.
- 92 - THEILADE, E. & THEILADE, J. Role a plaque in the litology of periodontal disease and caries. Oral Sciences Reviews, 9: 23-63, 1976.

- 93 - THEILADE, J. & AHSTRÖM, R. Distribution and ultrastructure of subgingival plaque in beagle dogs with gingival inflammation. J. periodont. Res., 20: 131-145, 1985.
- 94 - TAICHMAN, N.S. Some perspectives on the pathogenesis of periodontal diseases. J. Periodontol., 45: 361-363, 1974.
- 95 - NEWMAN, M.G.; SOCRANSKY, S.S. et al. Studies of the microbiology of periodontosis. J. Periodontol., 47, 373-379, 1976.
- 96 - SLOTS, J. The predominant cultivable organisms in juvenile periodontitis. Scandinavian Journal of Dental Research, 84: 1-10, 1976.
- 97 - WESTERGAARD, J. et al. Ultrastructure of the subgingival microflora in juvenile periodontitis. Scandinavian Journal of Dental Research, 86: 421-429, 1978.
- 98 - LEINER, T.; WILTON, J.M.A. et al. Immunological aspects of juvenile periodontitis (periodontosis). J. Periodontol., 9: 761-772, 1974.
- 99 - CLARK, R.A.; PAGE, R.C. et al. Defective neutrophil chemotaxis in juvenile periodontitis. Infection and Immunity, 18: 694-700, 1977.
- 100 - LAVINE, W.S. et al. Impaired neutrophil chemotaxis in patients with juvenile and rapidly progressing periodontitis. J. Periodont. Res., 14: 10-19, 1979.
- 101 - van DYKE, T.E. et al. Neutrophil chemotaxis dysfunction in human periodontitis. Infection and Immunity, 27: 124-132, 1980.

- 102 - EBERSOLE, J.L. et al. Serum antibody responses to antigens from *A. actinomycetemcomitans* (Y4) in periodontal diseases. *J. Dent. Res.*, 59: 330 (abstract 249D), 1980a.
- 103 - ———— Antibody response for antigens from *A. actinomycetemcomitans* (Y4) relationship to localized juvenile periodontitis. *J. Dent. Res.*, 59: 331 (abstract 255D), 1980b.
- 104 - GENCO, R.J. et al. Precipitating antibodies to *actinobacillus actinomycetemcomitans* in localized juvenile periodontitis. *J. Dent. Res.*, 59: 329 (abstract 246D), 1980.
- 105 - LISTGARTEN, M.A.; LAI, C.H. et al. Comparative antibody titers to *actinobacillus actinomycetemcomitans* in juvenile periodontitis, chronic periodontitis and periodontally healthy subjects. *J. Clin. Periodontol.*, 8: 155-164, 1981.
- 106 - COHN, L.R. The penetration of microorganisms into the gum as a cause of chronic and recurrent gingivitis. *Dent. Cosmos*, 77: 264, 1935.
- 107 - EGLOFF, E.; SAGLIE, F.R. et al. Intragingival bacterial subsequent to scaling and root planing. *J. Dent. Res.*, 65: 269, 1986.
- 108 - CHRISTERSSON, J. et alii. Intragingival *actinomycetemcomitans* in localized juvenile periodontitis (Abstr.). *Am. Assoc. Dent. Res.*, 1983.
- 109 - GORDON, J. et al. Efficacy of clindamycin hydrochloride in refractory periodontitis. *J. Periodontol.* (suppl): 75, 1985.

- 110 - GILLET, R. & WILTON, J.M.A. Transmission electron microscopy of inflammatory polymorphonuclear leucocytes from patients with juvenile periodontitis and normal subjects. British Division I.A.D.R. Abstract n° 175. J. Dent. Res., 60: 1121, 1981.
- 111 - TSAI, C.C.; McARTHUR, W.P.; BAETINI, P.C. et al. Extraction and partial characterization of a leukotoxin from a plaque-derived gram-negative microorganism. Infection and Immunology 25: 427-439, 1979.
- 112 - SLOTS, J. Subgingival microflora and periodontal disease. J. Clin. Periodontol., 6: 351-382, 1979.
- 113 - TANNER, A.C.R. et al. A study of the bacteria associated with advancing periodontitis in man. J. Clin. Periodontol. 6: 278-307, 1979.
- 114 - GARANT, P.R. Plaque-neutrophil interaction in mono-infected rats as visualized by transmission electron microscopy. J. Periodontol., 47: 132-139, 1976.