

Apostila 1

Disciplina: Pré-Clínica II (DP-201)
Aspectos microbiológicos da placa dental

Área de Microbiologia e Imunologia
FOP-UNICAMP

Profa. Dra. Renata O. Mattos Graner
Prof. Dr. Reginaldo B. Gonçalves
Prof. Dr. José Francisco Höfling
Leandro Moraes Furlan

Piracicaba 2005

Microbiologia da Cavidade Bucal

Alguns aspectos ecológicos

O termo ecologia se refere ao estudo das relações entre os organismos e o ambiente (10). Os microrganismos (ex., bactérias, vírus, fungos, cianobactérias) estão em todos os lugares, e não fossem eles, nossa vida seria inviável. Os microrganismos vivem em íntimo contato com seres vegetais e animais e grande parte deles é importante, ou mesmo essencial, para o correto funcionamento dos organismos multicelulares.

Conhecimentos básicos de microbiologia são importantes para a vida das pessoas, pois regem hábitos fundamentais de higiene, esterilização, manipulação e conservação dos alimentos, ecologia, entre outros aspectos. São também instrumentos para pesquisa científica visando entendimento dos mecanismos moleculares da vida celular, fornecendo instrumentos biotecnológicos estratégicos, para o tratamento de diversas doenças microbianas ou não (10). Por exemplo, as bactérias, há algum tempo, são manipuladas geneticamente para sintetizar insulina e outros hormônios de humanos, usados no tratamento da diabetes e outros distúrbios endócrinos, respectivamente.

Alguns exemplos do papel fundamental dos microrganismos:

- ☺ O ar que respiramos é originado pelo metabolismo microbiano: as cianobactérias são responsáveis pela oxigenação da Terra. Portanto, apesar de muito pequenos (por exemplo, as cianobactérias medem cerca de $8 \times 50 \mu\text{m}$), coletivamente os microrganismos apresentam um poder metabólico assustador.
- ☺ Diversas plantas, principalmente as leguminosas, utilizam nitrogênio (nutriente essencial para a síntese de material genético e outras funções celulares) a partir da conversão do nitrogênio da forma gasosa para a forma combinada. Este processo de conversão é chamado de “fixação do nitrogênio”. A fixação do nitrogênio é feita por bactérias que colonizam as raízes das plantas leguminosas como as do gênero *Rhizobium*. Estas bactérias são de grande importância na agricultura, uma vez que a deficiência de nitrogênio ocorre em diversos solos (10).
- ☺ Microbiota indígena: mantém o equilíbrio ecológico das diversas áreas do corpo humano, impedindo a infecção por microrganismos patogênicos. Estima-se que o corpo humano, com sua microbiota indígena, seja formado por um total de 10^{14} células, sendo que destas, cerca de apenas 10% são células mamíferas (17).

Embora imaginemos microrganismos como seres microscópicos isolados, não é assim que eles vivem na natureza e nos organismos maiores. Todos **os microrganismos vivem em comunidades celulares microbianas complexas** (diversos tipos de microrganismos co-existem) e/ou estão em contato com células eucarióticas dos seres multicelulares que habitam. As bactérias têm meios de se comunicar dentro de suas comunidades, como por exemplo, as que formam a placa dental bacteriana. Portanto, os microrganismos “conversam” entre si, transmitindo informações importantes para sua manutenção em determinada comunidade. Por exemplo, os microrganismos “percebem” quando está ocorrendo aumento da população microbiana local. Ao perceberem este fenômeno, se preparam fisiologicamente para resistir condições decorrentes de uma superpopulação, como carência de nutrientes, baixa tensão de oxigênio e aumento do acúmulo de produtos tóxicos derivados do próprio metabolismo. Isto

parece análogo aos fenômenos populacionais das cidades ou ao comportamento das células organizadas nos diversos tecidos do seres multicelulares. De fato, muitos pesquisadores comparam populações bacterianas organizadas, como a população da placa dental bacteriana, a um “ancestral de organismo multicelular” ou a “um tecido especializado como os diversos do corpo humano”. Portanto, é importante entender que as comunidades microbianas não são apenas um acúmulo aleatório de microrganismos, mas sim comunidades muito organizadas. Há nestas comunidades microbianas, uma competição constante por nutrientes e espaço, sendo que somente aqueles microrganismos mais adaptados às condições presentes é que vão ocupar ou prevalecer naquele nicho ecológico específico. Esta competição é árdua em comunidades microbianas expostas a condições de estresse (por exemplo, carência de nutrientes e grande quantidade de produtos tóxicos) e isto limita a diversidade de microrganismos, uma vez que poucos são os capazes de se adaptar a condições extremas de estresse ambiental.

Felizmente, considerando-se o grande poder dos microrganismos, apenas um pequeno número destes é capaz de causar doenças, sendo portanto denominados de **microrganismos patogênicos**. Alguns microrganismos patogênicos podem, no entanto, causar morte epidêmica em algumas populações. Por exemplo, a peste bubônica, causada pela bactéria Gram-negativa, a *Yersinia pestis*, transmitida através de pulgas de ratos e outros roedores, dizimou populações européias na Idade Média e também se alastrou no Brasil, no final do século XIX e início do século XX. A transmissão rápida do vírus da imunodeficiência adquirida (AIDS) também atingiu as populações, principalmente a partir da década de 80, no século passado. Mais recentemente, o vírus causador da gripe asiática (SARS, de *Severe Acute Respiratory Syndrome*) também atingiu muitos países orientais. Diferente dos **patógenos letais**, outros microrganismos vivem parasitando organismos superiores, causando **doenças crônicas**, as quais embora não letais causam muitos danos ao longo do tempo. Um exemplo são as micobactérias, envolvidas na patogenia de doenças comumente crônicas como a lepra e tuberculose. Um terceiro grupo de microrganismos, são os **oportunistas**. Os microrganismos oportunistas normalmente fazem parte da microbiota indígena, mas passam a aumentar em proporção e a agredir o hospedeiro, quando as condições ambientais afetam outros microrganismos comensais, ou quando há comprometimento dos mecanismos de defesa do hospedeiro. Veremos no decorrer do curso, que muitos patógenos bucais são microrganismos oportunistas. Em exemplo clássico é o das candidíases das mucosas bucais. A candidíase bucal, popularmente conhecida como “sapinho” é normalmente associada ao fungo da espécie *Candida albicans*. *C. albicans* vive em baixos níveis em comunidades microbianas bucais de indivíduos saudáveis. Entretanto, proliferam quando há destruição de grande parte da microbiota comensal, em decorrência do uso prolongado de antibióticos, ou quando os sistemas de defesa estão debilitados. Nestas condições, *Candida albicans* adquirem características mais agressivas e podem causar dano aos tecidos bucais.

Os microrganismos podem ser tornar mais agressivos? Sim, assim como nós humanos temos várias funções do nosso organismo alteradas em decorrência da influência de fatores ambientais externos (estresse, falta de comida, poluição), os microrganismos também têm sua fisiologia alterada em resposta ao estresse ambiental. A adaptação fisiológica é dependente das características genéticas dos microrganismos. Sabemos que os genes que compreendem nosso genoma diferem quanto à sua atividade, sendo alguns ativados ou inibidos em resposta a um estímulo ambiental, enquanto outros permanecem ativados nas mais diversas condições. A adaptação fisiológica depende da detecção de uma condição ambiental específica e da transmissão deste sinal para o interior da célula, onde ocorrerá a ativação ou inibição de genes envolvidos na adaptação àquela condição específica. Nem todos os microrganismos têm genes necessários para se adaptar a uma pressão ambiental específica. Assim, aqueles que têm o conjunto de genes “ideais”, para uma determinada situação, são os que vão prevalecer naquele determinado ambiente. Diversos patógenos adquiriram características de virulência através da

incorporação de material genético exógeno (transformação) ou através de outros mecanismos de trocas genéticas horizontais, como **conjugação e transdução**. Portanto, é importante compreender que tanto as características microbianas como as ambientais determinam o tipo e composição da população de um determinado nicho ecológico. Os microrganismos afetam seus nichos ecológicos e influenciam uns aos outros, o que compõe um **ecossistema**. O termo ecossistema é definido como uma comunidade de microrganismos no seu habitat natural.

Microrganismos da cavidade bucal

De todos os sítios do corpo humano, a cavidade bucal é aquela que apresenta os maiores níveis e diversidade de microrganismos. As características anátomo-fisiológicas da boca são responsáveis por esta diversidade, uma vez que a boca apresenta diferentes tipos de tecidos e estruturas que variam quanto à tensão de oxigênio, disponibilidade de nutrientes, temperatura e exposição aos fatores imunológicos do hospedeiro. Além das superfícies moles e descamativas das mucosas, há superfícies rígidas não descamáveis (estáveis) das superfícies dos dentes. As superfícies das mucosas e dentes são ainda banhadas pela saliva ou pelo fluido crevicular (do grego, *crevis*=sulco). O **fluido crevicular** é o exsudato dos líquidos teciduais/plasma que atinge o sulco gengival. Tanto as superfícies descamativas, como as superfícies duras dos dentes diferem em retentividade e exposição ao oxigênio, nutrientes e fatores imunológicos. Por exemplo, a mucosa do dorso da língua é muito mais retentiva do que a mucosa jugal. O dorso da língua funciona como um reservatório de diversos microrganismos, os quais vão posteriormente ocupar outros nichos nas superfícies dentárias supra e subgengivais. Muitos microrganismos Gram-negativos e Gram-positivos encontrados em altas proporções no dorso língua, podem ser patogênicos ao colonizar a placa dental supra e subgengival. Por isto, a língua pode funcionar como um reservatório de patógenos dentários e periodontais.

As superfícies dentárias também diferem sensivelmente quanto a retentividade, lisura superficial e exposição aos componentes da saliva e fluido crevicular. Estas variações influenciam na composição da microbiota local, sendo a composição da placa dental de um sulco da superfície oclusal de um molar diferente da placa dental da superfície vestibular de um incisivo. A comunidade microbiana de superfícies dentárias supragengivais são também diferentes das superfícies dentárias adjacentes ao sulco gengival. Os diversos nichos da cavidade bucal oferecem portanto, condições favoráveis às exigências nutritivas, respiratórias e de aderência necessárias à colonização de grande variedade de microorganismos. Além disto, fatores comportamentais (ex., dieta e hábitos de higiene bucal) e condições de saúde do próprio hospedeiro (ex., fluxo salivar e condições do sistema imune adaptativo), exercem também grande influência nas comunidades bacterianas da boca.

A composição e diversidade da microbiota bucal pode variar de um indivíduo para outro. Entretanto, a despeito das variações entre indivíduos, alguns grupos de microrganismos estão presentes em nichos bucais específicos na maioria dos indivíduos. Estes são os microrganismos mais adaptados às características ambientais próprias de cada nicho, e compõem a **microbiota indígena**. Os microrganismos que compõem uma microbiota indígena, variam entretanto em proporção, sendo alguns presentes em níveis altos e outros em menor número. Outros microrganismos bucais estão apenas “de passagem” e não se estabelecem em um nicho ecológico específico. Estes são chamados de **microrganismos transitórios** e podem surgir de contatos salivares entre indivíduos ou pelo transporte de microrganismos presentes em outras mucosas, como a nasofaríngea.

Logo ao nascimento, inicia-se o desenvolvimento da microbiota bucal. A compreensão deste processo é muito importante para entendermos os mecanismos através dos quais cada

tipo de microrganismo se estabelece em um determinado nicho. Através destes conhecimentos, podemos então desenvolver estratégias para controlar a colonização por microrganismos potencialmente patogênicos.

A cavidade bucal compreende diversos tipos de bactérias, fungos e em menor proporção protozoários e vírus. A maior parte destes microrganismos são bactérias. Grupos específicos de microrganismos colonizam nichos distintos da cavidade bucal. Os nichos da cavidade bucal podem ser classificados em:

A) Sítios de superfícies duras (dentes):

1) placa supragengival (acima da margem gengival).

Variam quanto ao tipo superfícies supragengival: I) áreas de cicatrículas e fissuras, II) superfícies lisas vestibulares e linguais, III) superfícies interproximais.

2) placa subgengival (abaixo da margem gengival, no sulco gengival): o sulco gengival é formado pelas superfícies duras dos dentes e superfícies moles do epitélio do sulco gengival.

B) Sítios de superfícies moles descamativas:

1) mucosas com epitélio queratinizado.

2) mucosa com epitélio não-queratinizado: sulco gengival (epitélio juncional).

3) dorso da língua: também recoberta por epitélio queratinizado, mas considerada separadamente devido à alta retentividade das superfícies papilares.

Alguns exemplos de espécies bacterianas mais encontradas em alguns destes nichos são descritos na Tabela 1. A quantidade de microrganismos bucais é continuamente controlada pela ação mecânica da saliva e musculatura, durante a mastigação e deglutição, juntamente com a descamação das mucosas e da atuação constante de vários componentes do sistemas imunológicos inato e adaptativo. Estima-se pela diversidade microbiana e disponibilidade de nutrientes que, se não houvessem estes fatores de defesa, a cavidade bucal seria totalmente preenchida por uma massa microbiana dentro de um período de 3 horas (14). Células de defesa (leucócitos) e outras substâncias de imunidade (por exemplo, lisozima, sistema complemento e anticorpos), têm contínuo acesso à cavidade bucal através da saliva e fluído crevicular. Maiores detalhes sobre os mecanismos de defesa serão abordados posteriormente.

Tabela 1. Exemplos de espécies bacterianas mais comumente identificadas nos diferentes nichos ecológicos da cavidade bucal.

Nicho da cavidade bucal	Gêneros mais comuns	Espécies em maior proporção
Placa dental supragengival	<i>Streptococcus spp.</i> , <i>Actinomyces spp.</i> <i>Fusobacterium spp</i>	<i>S. sanguinis</i> , <i>S. gordonii</i> , <i>S. mutans</i> . <i>A. naeslundii</i> , <i>A. viscosus</i> <i>F. nucleatum</i>
Placa dental subgengival	<i>Actinomyces spp.</i> <i>Fusobacterium spp.</i> , <i>Porphyromonas spp</i> , <i>Treponemas</i> <i>spp.</i> e outros gêneros anaeróbios.	<i>A. naeslundii</i> , <i>A. viscosus</i> <i>F. nucleatum</i> , <i>P. gingivalis</i> , <i>T. denticola</i> , <i>Tannerella</i> <i>forsythensis</i> *, <i>Prevotella spp</i>
Dorso da língua	<i>Veillonella spp.</i> , <i>Streptococcus spp.</i> , <i>Actinomyces spp.</i> <i>Prevotella spp.</i>	<i>V. parvula</i> , <i>V. dispar</i> <i>S. salivarius</i> , <i>S. sanguinis</i> , <i>S.</i> <i>parasanguis</i> , <i>S. mitis</i> , <i>S. mutans</i> <i>A. odontolyticus</i> . <i>P. melaninogênica</i> .
Mucosa da bochecha, palato, assoalho bucal.	<i>Streptococcus spp.</i> <i>Veillonella spp.</i>	<i>S. mitis</i> , <i>S. oralis</i> , <i>S. constellatus</i> <i>V. parvula</i> .
Saliva	Reflete microbiota dos dentes e dorso da língua	

* Anteriormente denominada *Bacteroides forsythus*.

Fonte: Ref. (11)

Para pensar:

- ☺ Você acha que os diferentes nichos ecológicos estão expostos aos mesmos mecanismos de defesa do hospedeiro?
- ☺ Como a composição da microbiota poderia variar dependendo das características dos nichos bucais?

Aquisição e desenvolvimento da microbiota indígena

Logo após o nascimento, a criança entra em contato com diversos microrganismos presentes no ambiente em que vive, principalmente aqueles que colonizam a mãe e outras pessoas com quem mantém contato. Nos casos de parto normal, o primeiro contato com microrganismos maternos ocorre durante o parto, uma vez que a mucosa vaginal também apresenta sua microbiota indígena. Alguns dos microrganismos são transitórios, enquanto outros passam a colonizar a cavidade bucal. O termo **colonização** se refere à capacidade do microrganismo de se aderir a um determinado local e de se multiplicar neste local.

Ao contrário do que se possa imaginar em vista da fácil exposição da boca à atmosfera, a grande maioria dos microrganismos colonizadores bucais que se estabelecem no primeiro ano de vida são anaeróbios facultativos (microrganismos anaeróbios tolerantes ao oxigênio). Com a erupção dos dentes, há um crescente aumento dos números de bactérias anaeróbias estritas (não toleram oxigênio), isto porque surgem áreas menos expostas ao oxigênio. Alguns microrganismos aeróbios (crescem na presença de oxigênio) podem também ser encontrados, mas em níveis baixos. Grande parte dos microrganismos anaeróbios estritos (não toleram

oxigênio) que compõem a microbiota de adultos não são detectados na cavidade oral de crianças até o período inicial de erupção dentária, pois o sulco gengival, nicho mais colonizado por anaeróbios estritos, ainda não está presente. No entanto, alguns gêneros de bactérias anaeróbias, como por exemplo *Veillonella* spp., podem ser encontrados nas crianças edêntulas, provavelmente porque colonizam o dorso da língua. Com a erupção dentária e a conseqüente formação de ambiente anaeróbio favorável, ocorre aumento da concentração de microrganismos anaeróbios estritos.

Desenvolvimento da microbiota bucal do nascimento à idade adulta.

A partir de 6-10 horas após o nascimento ocorre rápido aumento do número de espécies microbianas viáveis. Essa microbiota, no entanto, revela grande variabilidade em sua composição bacteriana nos primeiros dias de vida, podendo ser detectadas várias espécies do gênero estreptococos (incluindo pneumococos e enterococos), estafilococos, veillonelas, sarcinas, peptoestreptococos, lactobacilos e bacilos (12,18). Muitos dos microrganismos com os quais a criança entra em contato antes do desenvolvimento de uma microbiota bucal “estável” são transitórios. Por exemplo, as enterobactérias são transmitidas para as crianças através da cavidade bucal, mas somente vão se estabelecer no trato gastro-intestinal. Por outro lado, outras bactérias serão capazes de colonizar as mucosas bucais (ao nascimento, as crianças ainda não tem dentes irrompidos). Verifica-se, porém, que a maioria destes microorganismos é encontrada em concentrações baixas, em contraste com as proporções elevadas da microbiota do indivíduo adulto. Uma espécie bacteriana detectada regularmente a partir do primeiro dia de vida são os *Streptococcus salivarius*. *S. salivarius* colonizam principalmente o dorso da língua e outras superfícies da mucosa oral, não dependendo, portanto, da presença de dentes para sua colonização e implantação definitiva. Nas primeiras semanas após o nascimento, observa-se que as bactérias bucais são predominantemente do Gênero *Streptococcus*. Dentre este gênero, as espécies mais freqüentemente isoladas são *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis* e *Streptococcus salivarius* (9,20). Durante os primeiros meses de vida, a microbiota torna-se mais complexa, isto é, aumenta em quantidade e diversidade de microrganismos (20).

Com a erupção dos dentes decíduos, iniciada por volta dos 6 meses de idade, são fornecidos novos tipos de superfícies e microambientes. Entre as espécies que se aderem com grande afinidade aos dentes, encontramos *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus mitis* e *Streptococcus gordonii*. Os dentes passam a apresentar também algumas espécies do gênero *Actinomyces*, e há aumento gradativo do número de bactérias anaeróbias estritas (por exemplo dos gêneros *Fusobacterium* and *Prevotella*). As espécies *Streptococcus mutans* e *Streptococcus 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*, têm maior afinidade às superfícies dentárias recobertas pela película adquirida do esmalte (9).

A complexidade da microbiota aumenta até atingir relativa estabilidade nos adultos jovens. Diversos fatores contribuem para este aumento da complexidade da microbiota bucal, entre eles fatores sociais (contato com maior número de indivíduos), fatores ambientais (aumento da diversidade da dieta) e fatores fisiológicos (modificações das mucosas, erupção de maior número de dentes, aumento do fluxo e concentração de componentes salivares). A criança com todos os dentes decíduos irrompidos (aproximadamente entre os 2,5-3,0 anos de idade), adquirem uma microbiota mais “estável” em termos de composição e complexidade. A microbiota bucal inclui um grupo de gêneros e espécies bacterianas comum entre a maioria das pessoas, mas deve ser encarada como em equilíbrio dinâmico com o hospedeiro, alternando fases de maior ou menor estabilidade, dependendo das condições ambientais. Por exemplo, por volta do 5 a 12 anos de idade, com a troca dos dentes decíduos pelos dentes permanentes, novas superfícies virgens (não colonizadas) estarão disponíveis para colonização microbiana.

A composição da microbiota destes novos nichos dependerá das condições ambientais e do hospedeiro presentes durante a fase de estabelecimento desta nova microbiota. Por exemplo, alterações bruscas na dieta, observada em adolescentes em fase de vestibular, ou em universitários cursando o seu primeiro ano de faculdade, podem promover alterações na microbiota bucal. Outro exemplo de fatores que promovem a modificação da ecologia bucal, é quando há a perda de dentes em indivíduos idosos. A perda de dentes resulta em perda de microambientes e redução da microbiota (20). Por outro lado, as próteses dentárias podem substituir os dentes para aquelas bactérias que dependem das superfícies duras não descamativas para se estabelecer (20), embora as próteses não substituam completamente a relação entre tecidos moles e duros que estão presentes com os dentes (sulco gengival). De qualquer forma, a fase inicial de desenvolvimento da microbiota bucal é uma fase crucial para a saúde bucal do indivíduo durante toda a sua vida. Há inúmeras evidências científicas neste sentido como discutiremos em mais detalhes no decorrer do curso.

Influência dos fatores imunológicos do hospedeiro no desenvolvimento da microbiota bucal

Como dissemos anteriormente, se não houvesse os fatores de defesa, a proliferação de microrganismos seria tão rápida que em 3h teríamos a boca preenchida por uma massa microbiana (13). Duas classes de fatores imunológicos impedem que isto ocorra: 1) os fatores de defesa inatos; 2) os fatores de defesa adaptativos.

1) Fatores de defesa inatos: como o próprio nome diz se refere aos fatores do sistema imune que estão presentes já ao nascimento. Estes são fatores de defesa fundamentais à vida e compreendem:

- a) barreiras físicas das próprias células epiteliais que revestem as mucosas,
- b) glicoproteínas presentes na saliva e outras secreções mucosas, as quais englobam microrganismos facilitando sua deglutição e bloqueando sítios de adesão,
- c) células de defesa inata, principalmente macrófagos e neutrófilos,
- d) proteínas séricas de defesa que formam o sistema complemento,
- e) enzimas bactericidas e bacteriostáticas .

A Tabela 2 mostra os principais fatores de defesa do sistema imune inato que controlam a microbiota bucal.

Tabela 2. Fatores do sistema imune inato que atuam no controle da microbiota bucal.

Fatores de defesa inatos	Definição	Função de defesa da cavidade bucal
Mucinas e glicoproteínas inespecíficas	Glicoproteínas de alto peso molecular produzidas pelas glândulas salivares maiores e menores. Responsáveis pela viscosidade da saliva.	Envolvem microrganismos dificultando sua adesão aos tecidos bucais, bloqueia sítios de adesão, aglutinam bactérias (aglutininas), facilitando sua deglutição.
Lisozima	Pequena proteína catiônica presente na maioria das secreções. Produzidas por células dos ductos da glândulas e tb por macrófagos e PMN	Promovem a lise bacteriana através da hidrólise das ligações glicosídicas da parede celular.
Lactoferrina	Glicoproteína que se liga ao ferro produzida por células dos ductos das glândulas salivares	Seqüestra o ferro do ambiente, o qual é nutriente importante para microrganismos.
Lactoperoxidase e íon tiocianato (SCN)	Enzima e substrato secretados por glândulas salivares e acinares. Produzidos tb por macrófagos e PMN	Compõe um sistema anti-microbiano que envolve a oxidação do tiocianato a partir da H_2O_2 . ^a
Histatina	Peptídeos pequenos ricos no amino-ácido histidina. Produzidos por células acinares das glândulas salivares.	Inibem fungos como <i>Candida albicans</i> , inibem co-agregação bacteriana ^b
Cistatinas	Proteínas ricas no amino-ácido cisteína, produzidas por células acinares e também presentes no plasma.	Inibem proteases produzidas por bactérias periodontopatogênicas.
Sistema complemento	Proteínas séricas produzidas no fígado que atingem vários fluídos do corpo. Compreendem as proteínas C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7 C8 e C9. Atingem a boca através do fluido crevicular	Atuam em reação de cascata formando porinas que perfuram as membranas de microrganismos. Auxiliam no reconhecimento bacteriano por fagócitos, atuam como mediadores de inflamação
Leucócitos da linhagem mielóide	Compreendem os PMN ^c e macrófagos. Atingem a boca através do fluido crevicular. 90% dos leucócitos no fluido crevicular são PMN (neutrófilos)	Fagocitam e destroem microrganismos. Produzem citocinas que participam da inflamação.

^a Sistema antimicrobiano lactoperoxidase: o substrato da lactoperoxidase é o íon tiocianato (SCN^-). O tiocianato é oxidado pela lactoperoxidase, a partir de sua reação com H_2O_2 , gerando um agente oxidante, o hipotiocianato ($OSCN^-$), o qual é tóxico a bactérias. A lactoperoxidase e tiocianato são secretados na saliva, enquanto a H_2O_2 é na maior parte, produzida por bactérias. Baixas concentrações de H_2O_2 estão presentes na própria saliva.

^b Termo co-agregação será explicado nas próximas apostilas.

^c PMN: leucócitos **p**olimorfon**u**cleares (recordar aulas de imunologia – 2º. semestre).

Fonte: Ref.(12)

2) Fatores de defesa adaptativos: são fatores de defesa cuja resposta é intensificada e melhorada após o contato com o agente agressor. Este tipo de resposta é portanto aprimorada à cada contato com os antígenos. Os fatores de defesa adaptativos compreendem os anticorpos e linfócitos T e B (leucócitos originados da linhagem linfocítica na medula óssea). O principal isotipo de anticorpos presente na saliva é a IgAS (IgA secretora), cujas principais funções consistem em aglutinar microrganismos (facilitando sua remoção pela saliva), bloquear sítios de aderência bacteriana às mucosas ou aos dentes e inativar enzimas ou outras proteínas bacterianas extracelulares importantes para a virulência. No tópico de cárie dental, discutiremos melhor a importância da maturação do sistema adaptativo de mucosas no processo de aquisição de bactérias cariogênicas. Além da IgAS, outros dois isotipos séricos, a IgG e IgM, atingem a cavidade bucal através do exsudato da mucosa e fluido crevicular. Estes dois isotipos promovem opsonização microbiana e marcam bactérias para a fixação do

complemento, sendo importantes no controle de microrganismos da placa subgengival, a qual iremos estudar em mais detalhes.¹

Composição da microbiota bucal de indivíduos adultos

Como vimos no tópico de aquisição e desenvolvimento da microbiota bucal, sabe-se que determinados grupos de microrganismos são comumente detectados nos diferentes nichos da cavidade bucal na maioria das pessoas. A pergunta é, “Como isto foi determinado e como estes microrganismos comuns foram identificados?”. Na verdade, os pesquisadores têm dedicado muitos esforços para coletar, cultivar e classificar microrganismos dos diversos sítios da boca, em diferentes grupos de indivíduos. Assim, amostras de saliva, placa dental supragengival e subgengival e esfregaços das diversas áreas das mucosas são analisados através de diversas técnicas de cultivo microbiano e de técnicas moleculares.

As amostras bucais são cultivadas em diferentes meios de cultura bacteriana, sob diferentes condições de atmosfera e temperatura (normalmente cultivadas a 36-37°C). Após o crescimento, as colônias bacterianas com diferentes características são isoladas e analisadas microscopicamente e bioquimicamente. As características morfológicas e bioquímicas são então utilizadas para classificação dos microrganismos em gêneros, espécies e subespécies². Cada espécie ou grupo de espécies microbianas apresenta crescimento em meios sólidos (contendo ágar), formando colônias com morfologias distintas quanto à cor, tamanho, rugosidade, aderência ao ágar, produção de polissacarídeos extracelulares, entre outras características. A partir dos dados acumulados, os cientistas podem estimar como ocorre o desenvolvimento da microbiota nos diversos nichos de colonização bucal. A proporção em que as espécies são identificadas também é determinada, o que permite estimar, por exemplo, que a maior proporção de microrganismos bucais são espécies de estreptococos.

Todo o trabalho para isolamento, cultivo e classificação microbiana ainda não é suficiente para conhecermos, em detalhes, toda a composição da microbiota bucal. Isto porque não há um meio de cultura ideal para crescimento de todos os tipos de microrganismos. Espécies microbianas distintas requerem muitas vezes, nutrientes específicos para se desenvolver *in vitro*. Assim, é possível que muitas espécies microbianas presentes na boca ainda não tenham sido identificadas por falta de condições de cultivo ideais. Há evidências de que a composição da microbiota bucal foi subestimada nos estudos com culturas, uma vez que apenas os **microrganismos cultiváveis** nas condições laboratoriais usadas foram isolados. Em muitas comunidades microbianas, há indícios de que menos de 1% dos microrganismos são cultiváveis (15). Apesar disto, estima-se que cerca de 50% das espécies bacterianas bucais foi cultivada e identificada (16). Este é um conceito importante, porque é possível que alguns patógenos compreendam o segmento de **microrganismos não cultiváveis**, e ainda não tenham sido identificados. Sabe-se que microrganismos muito bem adaptados ao hospedeiro como o *Treponema pallidum* e *Mycoplasma pneumoniae* são extremamente difíceis de serem mantidos em culturas, porque perderam a habilidade de sintetizar muitas moléculas essenciais, que normalmente obtêm de seu hospedeiro (16). A partir da utilização de técnicas de genética molecular, novas espécies **não cultiváveis** foram identificadas, uma vez que estas técnicas utilizam-se do DNA extraído de amostras microbianas da boca, sendo que os microrganismos não precisam estar viáveis para que sejam identificados. Assim, mesmo que uma determinada espécie não cresça no meio de cultura escolhido, o seu material genético poderá ser identificado. Sabemos que no genoma dos diversos microrganismos, existem seqüências que

¹ verifique mais detalhes sobre como a IgA é produzida e atinge as secreções nas suas apostilas de imunologia! Recorde opsonização e sistema complemento.

² Vide glossário no final da apostila.

são universais, isto é estão presentes em todos os microrganismos. Uma destas seqüências, são as dos genes que codificam as moléculas de RNA ribossômico (RNAr). As seqüências que codificam a parte de **RNAr 16S** (que forma a subunidade 30S dos ribossomos) são muito úteis para classificação bacteriana³, pois além de estarem presentes em todas as bactérias (são seqüências conservadas), variam em alguns segmentos que são específicos para cada espécie. Os genes RNAr 16S são então seqüenciados, e comparados com as seqüências conhecidas como características de cada espécie microbiana conhecida. A análise das seqüências que codificam RNAr 16S são hoje muito utilizadas para classificar e identificar os diversos microrganismos da boca. Para isto, coletam-se amostras bucais e, ao invés de cultivá-las, extrai-se o material genético (DNA) e seqüenciam-se as partes que codificam o RNAr 16S. As análises genéticas são mais sensíveis, abrangentes e rápidas, mas ainda são muito trabalhosas, pois inúmeros fragmentos de DNA devem ser seqüenciados, suas seqüências organizadas e comparadas com bancos de dados que indicam o grupo de microrganismo correspondente (16).

Hoje se estima que a cavidade bucal humana de um indivíduo adulto hospede cerca de 700 espécies bacterianas distintas, sendo que 50% destas não são cultiváveis nos meios de cultura desenvolvidos até hoje (16). A maioria destas espécies são comensais, mas um subgrupo consiste de **patógenos oportunistas** que podem causar doenças bucais (principalmente a cárie dental e as doenças periodontais). Outros ainda podem estar envolvidos em doenças sistêmicas (7). Nesta apostila, vamos dar ênfase apenas a alguns dos gêneros bacterianos mais comumente identificados na boca. Para facilitar o seu estudo, vamos agrupá-los quanto à sua morfologia e sua coloração pelo método de Gram.⁴

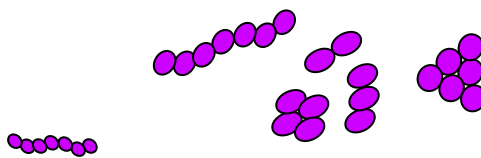
Assim os diversos gêneros bacterianos estudados serão divididos em cinco grupos distintos:

- A) Cocos Gram-positivos,
- B) Cocos Gram-negativos,
- C) Bacilos e filamentosos Gram-positivos,
- D) Bacilos e filamentosos Gram-negativos,
- E) Espiralados e curvos.

Outras classes de microrganismos com protozoários, fungos e vírus serão abordados no item F.

Cocos Gram-positivos

1) Gênero *Streptococcus*



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. Suas células são esféricas ou ovais, medindo 0,5-2,0µm de diâmetro e apresentando-se dispostas em pares ou cadeias. São imóveis, não formam esporos e, às vezes, encapsulados.⁵ Como todas as bactérias produtoras de ácido láctico (veremos outros gêneros)

³ Os ribossomos bacterianos são compostos por 2 subunidades compostas de proteína e RNA (RNAr): as subunidades 50S e 30S. A subunidade 50S é composta de duas partes de RNAr (23S e 5S) sendo o restante de proteína. Já a subunidade 30S tem uma parte de RNAr (16S), sendo o restante de proteína. Recordar matéria do primeiro semestre!

⁴ Nota: Recordar o princípio da coloração de Gram ensinado no primeiro semestre!

⁵ Recordar as aulas de morfologia e fisiologia de microrganismos do semestre passado para entender estas descrições.

são anaeróbicas. Entretanto, diferentes de muitos microrganismos anaeróbios, as bactérias produtoras de ácido láctico **não são sensíveis ao O₂**, portanto podem crescer na presença de oxigênio, sendo definidas como **anaeróbias facultativas**.

O gênero *Streptococcus* engloba um enorme número de espécies distintas, as quais ocupam diversos habitats no corpo humano e no ambiente. Neste gênero, há espécies que habitam predominantemente a cavidade bucal e as mucosas do trato respiratório superior de humanos. A maior parte destas espécies são comensais, mas há também **patógenos oportunistas**. O grupo de espécies que formam a microbiota da cavidade bucal é referido por muitos autores como do **grupo viridans**, mas este termo não será adotado nesta apostila.

A vasta maioria das espécies de estreptococos bucais é alfa-hemolítica. *Streptococcus spp.* podem ser classificados em três grupos segundo o padrão de hemólise analisado através de culturas em meios sólidos contendo sangue (ágar sangue):

1) *Streptococcus* **beta-hemolíticos**: produzem uma zona larga descorada correspondente à beta-hemólise. A **beta-hemólise** responde à hemólise completa de hemáceas decorrente da ação de streptolisinas O ou S, produzidas por estas bactérias.

2) *Streptococcus* **alfa-hemolíticos**: ao contrário dos alfa-hemolíticos, não produzem hemolisinas, mas causam a formação de uma zona de esverdeada a marrom ao redor de suas colônias em ágar sangue, o que não é decorrente de uma hemólise verdadeira, mas sim da descoloração e perda de potássio das hemáceas (**alfa-hemólise**).

3) *Streptococcus* **gama-hemolíticos**: não produzem nenhum grau de hemólise.

Streptococcus são também classificados segundo critérios imunológicos com base na presença de antígenos de superfície celular (normalmente glicoproteínas). A pesquisadora Rebecca Lancefield, identificou diversos antígenos de superfície que caracterizavam grupos distintos de espécies de estreptococos. Os grupos de antigenicidade foram então denominados de **grupos de Lancefield**. Os grupos de Lancefield foram nomeados por letras, de “A” a “O”. *Streptococcus spp.* beta-hemolíticas apresentam antígenos do grupo A. Algumas espécies de estreptococos bucais não encaixam na classificação de Lancefield.

Espécies de *Streptococcus* da cavidade bucal podem ser subdividido em quatro grupos principais com base nas semelhanças das seqüências do gene RNAr 16S:

1) **Grupo salivarius**: inclui 2 espécies no homem, *Streptococcus salivarius* e *Streptococcus vestibularis*. Aproximadamente 50% das cepas deste grupo correspondem ao grupo K de Lancefield.

2) **Grupo mitis**: inclui 6 espécies, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus sanguinis*, *Streptococcus parasanguis*, *Streptococcus crista*, *Streptococcus pneumoniae*.

3) **Grupo mutans**: inclui 7 espécies distintas, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* e *Streptococcus rattus*, *Streptococcus cricetus*, *Streptococcus ferus*, *Streptococcus downei*, *Streptococcus macacae*. Apenas as 4 primeiras espécies são detectadas no homem. As espécies *S. mutans* e *S. sobrinus* são exclusivas de humanos. A espécie *S. rattus*, é raramente encontrada no homem, sendo seu habitat natural, a cavidade bucal de ratos. A espécie *S. cricetus* é também eventualmente detectada no homem, mas é primariamente colonizadora da cavidade bucal de *hamsters* e ratos selvagens.

As espécies *Streptococcus downei* e *Streptococcus macacae* colonizam macacos. A espécie *Streptococcus ferus* coloniza a boca de ratos selvagens. As espécies de humanos não são

susceptíveis ao antibiótico bacitracina, característica que facilita a sua diferenciação de outras espécies animais.

As espécies de estreptococos do grupo mutans não se enquadram na classificação de Lancefield, embora algumas cepas da espécie *S. mutans* pertençam ao grupo E. Entretanto, uma outra classificação sorológica foi desenvolvida para este grupo de microrganismos pelo pesquisador sueco Douglas H. Bratthall (2,3). Este pesquisador identificou 8 sorotipos distintos (*a, b, c, d, e, f, g, h*), nos quais se encaixam as 7 espécies distintas de estreptococos do grupo mutans:

- a) *S. mutans*: inclui os sorotipos *c, e e f*.
 - b) *S. sobrinus*: inclui os sorotipos *d e g*.
 - c) *S. rattus*: inclui o sorotipo *b*.
 - d) *S. cricetus*: inclui o sorotipo *a*.
 - e) *S. downei*: inclui o sorotipo *h*.
 - f) *S. ferus*: inclui o sorotipo *c*.
 - g) *S. macacae*: inclui o sorotipo *c*.
- O sorotipo *e* corresponde ao grupo E de Lancefield.

O grupo mutans será estudado com mais detalhes, quando discutirmos seu papel na patogênese da cárie dentária (Apostila 3).

- 4) **Grupo anginosus**: inclui as espécies *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus constellatus* e *Streptococcus intermedius*. Estas espécies colonizam a cavidade bucal e trato respiratório superior de humanos, sendo que algumas cepas estão associadas a infecções purulentas. São na maioria alfa-hemolíticos, não podendo ser identificados segundo a classificação de Lancefield, pois contém cepas do grupos A, C, F e G.

- 5) **Grupo piogênico**: embora *Streptococcus pyogenes* possa ser detectado na boca, esta espécie consiste em patógeno da mucosa do trato respiratório superior. Não pertence a nenhum dos grupos acima, mas sim ao **grupo piogênico**. *S. pyogenes* são beta-hemolíticos e pertencem ao grupo de Lancefield A, sendo comumente referidos como “estreptococos do grupo B”. Outra espécie também incluída no grupo piogênico, é a espécie *Streptococcus agalactiae*, a qual é do grupo B de Lancefield e muitas vezes citados como estreptococos do grupo B. *S. pyogenes* e *S. agalactiae* são raramente detectados na boca, mas seus genomas apresentam semelhanças ao genoma da espécie *S. mutans* em cerca de 70 e 68% da sua extensão, respectivamente (6).

Dentre as espécies bucais, há diversas comensais não patogênicas, enquanto outras são patógenos de uma das principais doenças de interesse da odontologia, a cárie dentária. As características das espécies de *Streptococcus* mais importantes detectadas na cavidade bucal estão resumidas na Tabela 3.

Tabela 3. Principais características das principais espécies do gênero *Streptococcus* que colonizam a cavidade bucal.

Espécie	Nicho ecológico	Características
	Principal	
<i>S. salivarius</i>	Mucosa bucal	Estão entre primeiros colonizadores da boca, persistem por toda a vida sofrendo pouca influência de fatores externos. Produzem polissacarídeos de frutose (frutanos) a partir da sacarose. Podem ser alfa ou beta-hemolíticos
<i>S. vestibularis</i>	Mucosa bucal	Não produzem polissacarídeos a partir da sacarose. α -hemolítico.
<i>S. sanguinis</i>	Alta afinidade às superfícies dentárias	São colonizadores primários dos dentes, aumentando em proporção com a erupção destes. São comensais, estando associados à placa de dentes hígidos. Produzem polissacarídeos de glicose (glucano) a partir da sacarose. Produzem enzimas que clivam anticorpos IgA, as IgA1-proteases. A maioria é do grupo de Lancefield H; α -hemolíticos.
<i>S. mitis</i>	Mucosas bucais principalmente.	Esta espécie pode ser dividida em <i>S. mitis</i> biovar 1 e 2. São detectados antes e após erupção dos dentes. Podem ser colonizadores primários dos dentes em condições de saúde, mas também em placas associadas a lesões de cárie. Variam quanto à produção de polissacarídeos a partir da sacarose. Algumas cepas produzem IgA1-proteases, mas isto é incomum. α -hemolíticos.
<i>S. oralis</i>	Mucosa bucal e dentes, mucosa faríngea	Díficeis de serem diferenciados bioquimicamente dos <i>S. mitis</i> . Características muito semelhantes. Produzem IgA1-proteases; α -hemolíticos.
<i>S. gordonii</i>	Superfícies dentárias, mucosa bucal e faríngea.	São do grupo H de Lancefield. Produzem polissacarídeos a partir da sacarose. Não produzem IgA1 proteases; α -hemolíticos.
<i>S. parasanguis</i>	Mucosa nasofaríngea e boca. Amostras de sangue e urina.	Não produzem polissacarídeos extracelulares a partir da sacarose. Gama-hemolíticos, podendo ser α -hemolíticos.
<i>S. crista</i>	Mucosa nasofaríngea e boca	Espécie variante, semelhante a <i>S. sanguinis</i> . Algumas cepas produzem polissacarídeo extracelular a partir da sacarose. α -hemolíticos. Não se enquadram na classificação de Lancefield.
<i>S. pneumoniae</i>	Mucosas do trato respiratório	Podem ser identificados na boca. Os sítios de colonização primária são as mucosas da orofaringe. Cepas variam quanto à virulência, podendo causar faringites, otite média, meningite. Produzem IgA1-protease. α -hemolítico.
<i>S. mutans</i> ^a	Superfícies dentárias	Embora não sejam colonizadores primários dos dentes, aumentam em proporção em placas dentais associadas à cárie, pois são altamente tolerantes a meio ácidos e apresentam grande capacidade de produzir diferentes tipos de glucano a partir da sacarose. Não produzem IgA1 proteases; α -hemolíticos.
<i>S. sobrinus</i>	Superfícies dentárias	Semelhantes a <i>S. mutans</i> em vários aspectos da patogênese da cárie dental. São menos prevalentes. Algumas cepas apresentam alta virulência. Não produzem IgA1 proteases. Maior parte é γ -hemolítica; algumas cepas são α -hemolíticas.
<i>S. constellatus</i> , <i>S. intermedius</i> , <i>S. anginosus</i> .	Mucosas bucais e trato respiratório	Podem estar associados à microbiota comensal das mucosas bucais e respiratórias ou a infecções purulentas. Podem ser dos grupos A,C, F ou C de Lancefield. Cepas variam entre α -, β - ou γ -hemólise.

Fonte: (22)

2) Gênero *Enterococcus*



Enterococcus são estreptococos de origem fecal do grupo D de Lancefield. São α -hemolíticos. Os *enterococcus* têm sido encontrados em baixas concentrações nas diversas áreas da cavidade oral; a espécie mais isolada é o *Enterococcus faecalis* que, por ser mais resistente aos agentes antimicrobianos, pode estar relacionado a processos infecciosos dos canais radiculares dentários e bolsas periodontais (21).

3) Grupo de Cocos anaeróbios Gram-positivos



A nomenclatura dos gêneros de cocos Gram-positivos anaeróbios estritos é ainda discutida. A espécie antes reconhecida como do gênero *Peptostreptococcus*, *Peptostreptococcus micros*, atualmente é considerada como do gênero *Micromonas*, sendo a espécie renomeada para *Micromonas micros*. A espécie *Peptostreptococcus magnus* foi também recentemente reclassificada como *Fingoldia magna* (19).

Estes gêneros incluem cocos Gram-positivos anaeróbios estritos, apresentando-se dispostos em cadeias longas ou curtas, cachos irregulares, tétrades e dois a dois. Espécies deste gênero são comumente detectadas na cavidade bucal. São considerados como parte da microbiota bucal comensal. A espécie *Peptostreptococcus micros* é considerada comensal, sendo identificada como compreendendo até 3% da microbiota da placa dental subgingival de indivíduos com periodonto saudável. Entretanto, estes microrganismos podem agir como patógenos oportunistas e parecem aumentar em proporção em amostras microbianas associadas a infecções bucais como doença periodontal, abscessos endodônticos e periodontais (13).

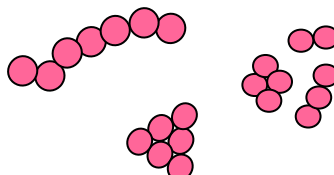
4) Gêneros *Micrococcus* e *Staphylococcus*



Staphylococcus e *Micrococcus* são raramente identificados na cavidade bucal de indivíduos saudáveis, portanto são considerados como parte da microbiota indígena normal da boca. *Micrococcus* podem ser isolados da pele, embora sejam mais comumente identificados em objetos inanimados. No entanto, *Staphylococcus aureus* pode ser isolado de quadros de faringite, amigdalite, sinusite, osteomielite da face e abscessos dentários (13).

Micrococcus são aeróbios obrigatórios. Apresentam forma de cachos irregulares, tétrades, ou agrupados de dois a dois. Assim como as bactérias do gênero *Staphylococcus* (mais raramente detectados na boca), são catalase-positivos, isto é, produzem a enzima catalase, a qual degrada o peróxido de hidrogênio em água e oxigênio. Esta característica é utilizada para diferenciar estes dois gêneros de outros gêneros de cocos gram-positivos bucais, como *Streptococcus* (13). Para isto, goteja-se H_2O_2 sobre colônias de culturas em placa de Petri e verifica-se se há ou não a liberação de “bolhinhas de ar”.

B) Cocos Gram-negativos



1) Gênero *Veillonella*

São anaeróbios estritos que se apresentam em arranjo de grandes massas e ou de cadeias curtas. As *Veillonellas spp.* colonizam as mucosas do trato respiratório superior e da boca. A espécie mais comum na boca é *Veillonella parvula*. Esta espécie coloniza principalmente o dorso da língua, mas pode estar associada à placa dental, crescendo em

proporção na placa cariogênica. Isto porque as *Veillonella spp.* utilizam ácido láctico como fonte de energia. Assim, quando o biofilme dental tem mais bactérias acidogênicas (como *S. mutans*), mais substratos são produzidos para as *Veillonelas* e estas passam a proliferar. Além disto, uma placa cariogênica, como vamos ver a seguir, apresenta maior espessura, diminuindo a exposição dos microrganismos do seu interior ao oxigênio, o que favorece as *Veillonella spp.* Este é um bom exemplo de como a interação entre diferentes espécies de bactérias pode influenciar na composição da comunidade microbiana, como veremos na Apostila 2.

2) Gênero *Neisseria*



O gênero *Neisseria* compreende bactérias aeróbicas, que crescem melhor na presença de CO₂ e que podem crescer lentamente em anaerobiose. Não são móveis, como formato de cocos. As mucosas do trato respiratório e cavidade bucal apresentam baixos níveis de bactérias deste gênero. Entretanto, algumas espécies, como a *Neisseria sicca*, são isoladas do dorso da língua, outras áreas das mucosas bucais e saliva. A espécie *Neisseria mucosa* pode ser detectada em altas proporções na placa dental associada a superfícies hígidas e também em placas subgengivais associadas ou não à doença periodontal (16). Algumas espécies de *Neisseria* são sacarolíticas e produzem polissacarídeos extracelulares. As *Neisseria spp.* podem contribuir para a formação de condições de anaerobiose nos estágios iniciais da placa dental, favorecendo a sucessão de microrganismos anaeróbios (13).

A espécie patogênica, *Neisseria gonorrhoeae*, patógeno da gonorréia, pode ser também identificada em indivíduos infectados com faringite (21).

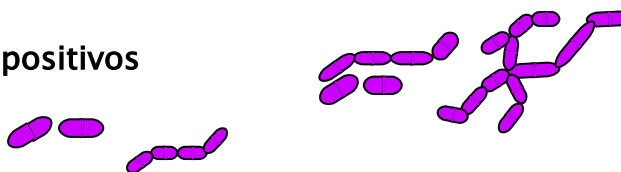
3) Gênero *Moraxella*



Podem ser isolados na forma de cocos ou bacilos Gram-negativos, aeróbios. Consiste em gênero semelhante ao gênero *Neisseria*, comumente isolados do homem. Algumas espécies deste gênero são comensais e outras patogênicas. A espécie *Moraxella catarrhalis* (previamente designada como *Branhamella catarrhalis*) é um patógeno do trato respiratório associado à otite média em crianças e infecções do trato respiratório inferior em adultos. Estes microrganismos podem ser identificados na cavidade bucal, mas com baixa frequência e baixos níveis (13,21).

C) Bacilos e filamentosos Gram-positivos

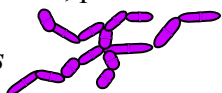
1) Gênero *Lactobacillus*



Compreende várias espécies de microrganismos anaeróbios facultativos (às vezes microaerófilos) e são também produtoras de ácido láctico através da fermentação. Os *Lactobacillus* foram divididos em três grupos principais, e compreendem cerca de 70 espécies distintas. As espécies de lactobacilos podem ser classificadas como homofermentativas, isto é, produzem principalmente ácido láctico, ou como heterofermentativas, devido a produção de vários ácidos orgânicos, etanol e gás carbônico. Os lactobacilos são colonizadores das mucosas bucais, principalmente do dorso da língua, assim como outras mucosas do corpo humano. São as bactérias mais resistentes a baixos pHs, podendo crescer bem em meios com pH de 4.0 (10). Os lactobacilos são importantes para a produção de diversos produtos que consumimos diariamente, principalmente derivados da fermentação do leite como iogurte, “Yakult”, além em alguns processos de conservação (sua capacidade fermentativa associada à resistência a baixos pH inibe o crescimento de outros microrganismos). Por causa desta alta tolerância a ácidos os lactobacilos são facilmente isolados através da utilização de meios de cultura ricos com pH entre 5.0 e 4.0.

Embora os lactobacilos sejam microrganismos comensais de mucosas do nosso corpo (verificar exemplos), na cavidade bucal, estão associados à placa dental cariogênica, sendo considerados patógenos da cárie. Em condições de saúde, lactobacilos são detectados em baixas proporções. As espécies mais comuns na cavidade bucal são *Lactobacillus casei* e *Lactobacillus acidophilus*, ambas homofermentativas. Espécies heterofermentativas como *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus cellobiosus*, *Lactobacillus brevis*, também podem ser detectadas na cavidade bucal, porém com menor frequência (10)

2) Gênero *Actinomyces*



Os *Actinomyces* fazem parte dos colonizadores primários das superfícies dentárias, sendo predominantes tanto na placa supragengival como na placa subgengival (1,10,16).

Actinomyces são bactérias sacarolíticas e crescem na forma de cadeias filamentosas ramificadas que são denominadas micélio. Os micélios destas bactérias são análogos aos micélios formados por fungos filamentosos. Algumas espécies também crescem na forma de bacilos curtos. São anaeróbios facultativos, mas se desenvolvem melhor na presença de gás carbônico, tanto em aerobiose quanto em anaerobiose.

Actinomyces são geralmente microrganismos não patogênicos e seis espécies deste gênero já foram identificadas na placa dental (Tabela 4). As espécies mais prevalentes na placa dental bacteriana são *Actinomyces naeslundii* genoespécie 2 (previamente denominado *Actinomyces viscosus* sorotipo II), *Actinomyces naeslundii* sorotipo II e III e *Actinomyces* sorotipo IV.

Este gênero foi associado ao desenvolvimento de lesões de cárie radicular, mas seu papel na patogenicidade de doenças bucais, como a cárie e doença periodontal é controverso.

Tabela 4. Principais espécies do gênero *Actinomyces* detectadas na cavidade bucal

Espécie	Classificação anterior
<i>Actinomyces georgiae</i>	<i>Actinomyces</i> sp. subgengival atípico
<i>Actinomyces gerencseriae</i>	<i>A. israelii</i> sorotipo II
<i>A. israelii</i>	<i>A. israelii</i> sorotipo I
<i>A. odontolyticus</i>	<i>A. odontolyticus</i>
<i>A. naeslundii</i> genoespécies 1	<i>A. naeslundii</i> sorotipo I
<i>A. naeslundii</i> genoespécies 2	<i>A. naeslundii</i> sorotipo II e III, <i>A. viscosus</i> sorotipo II,
	<i>A. meyeri</i>

Fonte: (13)

3) Gênero *Corynebacterium*

Este gênero envolve um grupo diverso de espécies anaeróbias facultativas encontrados em animais e plantas. Em crescimento normal *Corynebacterium* têm uma extremidade mais bojuda o que lhe dá um formato semelhante a uma clava, o que determinou o nome deste gênero (do Grego: korinu = clava). A espécie *Corynebacterium matruchotii* é detectada exclusivamente na cavidade bucal, mas em baixos níveis (13). São freqüentemente encontrados na placa dental supragengival e subgengival, normalmente associada à saúde (16).

4) Gênero *Eubacterium*

Esse gênero ainda não está bem definido e inclui microorganismos filamentosos anaeróbios estritos que se apresentam variáveis quanto à coloração pelo método de Gram.

Compreende espécies sacarolíticas (por exemplo, *E. saburreum* e *E. yurii*) e assacarolíticas (*E. nodatum*, *E. saphenum*, *E. brachy*). As espécies assacarolíticas têm sido identificadas na placa associada a bolsas periodontais profundas (13,16).

D) Bacilos e filamentosos Gram-negativos

1) Gênero *Fusobacterium*



A maior parte das espécies deste gênero são anaeróbios estritos. Sua forma mais comum é a fusiforme, sendo bem alongados (5 a 25 µm de comprimento), delgados e com as extremidades pontiagudas. Entretanto, algumas espécies podem apresentar forma mais bacilar. Produzem ácido butírico e ácido acético a partir da fermentação de amino-ácidos e açúcares. Também removem enxofre dos amino-ácidos cisteína e metionina, produzindo ac. butírico, amônia, sulfeto de hidrogênio e metilmercaptana. Estes compostos produzem mal odor, estando associados à halitose (8).

Algumas espécies são móveis, outras não. A espécie mais comum na cavidade bucal é o *Fusobacterium nucleatum* (não móvel), sendo parte da microbiota comensal. Entretanto, a classificação desta espécie tem sido revista e subdividida em diferentes subespécies, as quais podem estar associadas à saúde ou doença. Assim, a subespécie *polymorphum* está associada a condições de saúde, enquanto a subespécie *nucleatum* é mais comumente associada a bolsas periodontais.

Fusobacterium spp. desempenham papel importante no desenvolvimento de placa dental bacteriana, pois funcionam como uma ponte entre os colonizadores primários e secundários dos dentes, através de co-agregação/adesão com diversos microrganismos comensais e/ou patogênicos (vide Apostila 2). Embora não sejam considerados patogênicos isoladamente, as subespécies associadas à doença têm capacidade de co-agregar a patógenos da placa subgingival, como *Porphyromonas gingivalis* e *Tannerella forsythensis*, o que pode favorecer a colonização por estes patógenos.

A espécie *Fusobacterium animalis* encontra-se em maior proporção nas placas dentais cariogênicas (1) e associada à doença periodontal (16). Cepas de *F. nucleatum* aumentam em proporção também em outras infecções de cabeça e pescoço, tórax, pulmão, fígado e abdômen (13).

2) Gênero *Bacteroides*



A maioria dos bacilos Gram-negativos anaeróbios eram anteriormente classificados como do gênero *Bacteroides*. *Bacteroides* são microrganismos anaeróbios estritos, sacarolíticos. A maioria das espécies de Bacteróides são comensais, sendo colonizadores predominantes do trato intestinal.

Atualmente, poucas espécies bucais estão incluídas neste gênero, sendo *Bacteroides fragilis* a mais comum, embora esta espécie seja mais comumente detectada no intestino. A espécie *B. forsythus*, associada à doença periodontal é hoje denominada *Tannerella forsythensis* (13).

3) Gênero *Porphyromonas*



Representam os bastonetes Gram-negativos anaeróbios estritos, não-móveis e assacarolíticos. A principal fonte de carbono e energia destas bactérias são as proteínas, razão

pela qual este gênero está envolvido na destruição dos tecidos do hospedeiro. Hemina é um substrato essencial para crescimento de *Porphyromonas* spp. Uma característica típica destes microrganismos é a produção pigmento preto, quando cultivados em meio ágar sangue, promovendo o crescimento de colônias bacterianas negras. Por isto, estas bactérias são comumente referidas como do **grupo negro**. Esta pigmentação ocorre devido à aquisição de ferro, com acúmulo de hemina (13).

A espécie *Porphyromonas gingivalis* é altamente patogênica, sendo detectada comumente na placa subgingival em bolsas periodontais, em periodontites agudas e crônicas. *P. gingivalis* produz um grande número de proteases, hemolisinas e produtos metabólicos tóxicos que lesam os tecidos bucais. São capazes de invadir e destruir células e matriz extracelular dos tecidos gengivais e proteínas importantes do sistema imunológico como citocinas. Sua capacidade de invadir células epiteliais as protegem da ação de fagócitos (leucócitos do sistema imune inato: macrófagos e neutrófilos). Também degradam anticorpos e proteínas do complemento. Apresentam cápsula, o que dificulta o reconhecimento e destruição por fagócitos e fímbrias que estão envolvidas na adesão à película adquirida do esmalte (vide Apostila 2) e às células epiteliais. Além disto, apresentam tolerância ao oxigênio podendo resistir a exposições dos sítios subgingivais. Outras espécies, como a *Porphyromonas endodontalis*, estão associadas a infecções para-endodônticas (13). Apesar da sua patogenicidade estar associada à colonização das áreas subgingivais, espécies de *Porphyromonas*, assim como as espécies de *Prevotella*, podem ser detectadas em amostras de saliva (11).

4) Gênero *Prevotella*

Bactérias deste gênero são bastonetes anaeróbios estritos, sacarolíticos (fermentam fortemente ou fracamente carboidratos). Algumas espécies são produtoras de pigmento negro sendo, juntamente com *Porphyromonas*, comumente referidas como do grupo de **bactérias negras**. Entretanto, outras espécies de *Prevotella* não produzem pigmentos negros.

Quatro espécies são encontrados em maior proporção na placa subgingival associada à doença periodontal e são todas espécies negras: *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Prevotella melaninogenica* e *Prevotella loescheii*. A diferenciação destas espécies é difícil e sua classificação está sendo modificada. Entre as espécies bucais não pigmentadas encontram-se *Prevotella buccae*, *Prevotella oralis*, *Prevotella dentalis*, *Prevotella veroralis*.

Espécies deste gênero podem ser identificadas na placa subgingival, abscessos dento-alveolares e infecções para-endodônticas. Espécies como *P. melaninogenica* podem também são detectadas com frequência no dorso da língua e saliva (13).

4) Gênero *Leptotrichia*

São bactérias filamentosas anaeróbicas, que produzem grandes quantidades de ácido láctico, sem a produção de ácido butírico. A espécie mais encontrada na boca é a *Leptotrichia buccalis* encontrada em grande proporção na placa dental supragengival e subgingival (1,13,16,21). Acredita-se que seja parte da microbiota comensal.

5) Gênero *Actinobacillus*

São bacilos anaeróbios facultativos, embora sejam também referidos como coco-bacilos devido ao aspecto de bacilo curto. Em placas de cultura, formam colônias com aspecto de estrela. A espécie bucal mais estudada é o *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (Aa), pois

esta espécie é comumente detectada em pacientes com periodontites agudas agressivas, como a periodontite juvenil localizada (PJJ). Maior atenção a esta espécie tem sido dada recentemente pela sua possível participação nas placas de gordura nas vasos sanguíneos, abscessos cerebrais, endocardite bacteriana e osteomielite. Aa produzem diversas proteases como as collagenases e IgG-proteases. Aa têm capacidade de “despistar” o sistema imunológico, resistindo à fagocitose e à destruição por neutrófilos e produzindo substâncias tóxicas aos leucócitos denominadas de leucotoxinas. Cepas distintas de Aa variam quanto à produção de leucotoxinas, sendo as cepas mais leucotóxicas associadas às periodontites agudas. Por outro lado, cepas menos leucotóxicas estão mais frequentemente associadas às periodontites crônicas (4). A prevalência de Aa na cavidade bucal parece ser maior nas populações brasileiras, sendo esta espécie detectada em cerca de 75 e 40% dos indivíduos com periodontites agressivas e crônicas, respectivamente.

6) Gênero *Capnocytophaga*

Anaeróbias facultativas móveis, as espécies deste gênero identificadas na boca incluem *Capnocytophaga sputigena*, *Capnocytophaga gingivalis*, *Capnocytophaga haemolytica*, *Capnocytophaga ochracea*. *Capnocytophaga gingivalis* e *C. sputigena* têm sido associada à doença periodontal (16). Produzem IgA1-proteases (13).

7) Gênero *Haemophilus*

Este gênero compreende a maioria dos bacilos Gram-negativos anaeróbios facultativos da boca. Anteriormente não eram detectados através de cultura bacteriológica, pois somente mais recentemente descobriu-se que estas bactérias necessitam de dois nutrientes essenciais para seu crescimento *in vitro*, hemina e adenina nicotinamida (dinucleotídeo). Têm formato bacilar e estão presentes tanto nas mucosas bucais como na saliva e superfícies dentárias. Algumas espécies detectadas na boca são *Haemophilus parainfluenzae* biótipos I, II e III, *Haemophilus segnis* e *Haemophilus haemolyticus*.

Haemophilus influenzae é um patógeno comum da mucosa naso-faríngea, mas é raramente isolado da boca (13).

8) Gênero *Eikenella*

São anaeróbios facultativos. As principais espécies deste gênero são a *Eikenella saburreum* e *Eikenella corrodens*. Colonizam principalmente o dorso da língua e outras áreas da mucosa, sendo detectadas em baixos níveis na placa dental (13).

E) Microorganismos espiralados e curvos

1) Gênero *Treponema*

São espiroquetas, o que se entende por bactérias Gram-negativas, móveis, espiraladas. Espiroquetas envolvem outros gêneros além de treponemas, incluindo-se o gênero *Borrelia*, *Leptospira*, *Cristipira* e *Spirochaeta*, os quais não abordaremos nesta apostila. Espiroquetas estão espalhados em diversos habitats aquáticos e em animais, sendo alguns causadores de importantes doenças, como a espécie *Treponema pallidum*, patógeno da sífilis. *Treponema spp.* inclui espécies patogênicas e comensais em humanos. Diferentemente de outros espiroquetas, as espécies de *Treponema* têm morfologia não de uma hélice acentuada, mas de

hélice “esticada”, formando curvas mais rasas. Apresentam flagelos responsáveis por sua motilidade.

Todos os espiroquetas presentes na cavidade bucal são do gênero *Treponema*. Estima-se que a cavidade bucal abriga cerca de 60 espécies distintas de *Treponema* (16). Os *Treponemas* são numerosos na placa subgengival (16), sendo facilmente detectados em campo escuro. Algumas espécies são assacarolíticas (por exemplo *T. denticola*), enquanto outras são capazes de fermentar carboidratos (*T. socranskii*). São difíceis de serem cultivados *in vitro* (13).

Na cavidade bucal, algumas espécies de *Treponema* são isolados de placas dentais subgengivais associadas à doença periodontal. Estas compreendem *Treponema denticola*, *Treponema socranskii* subespécie *buccale*, *Treponema maltophilum*, e *Treponema medium*. O *T. pallidum* pode ser encontrado na cavidade oral, principalmente em indivíduos com lesões primárias (cancro duro) ou secundárias de sífilis (13,21).

2) Gêneros *Campylobacter*, *Wolinella* e *Selenomonas*

São descritos como bastonetes curvos, em espiral, móveis. São microaerófilos. As espécies *Wolinella curva* e *Wolinella recta* foram mais recentemente reclassificadas com *Campylobacter curvus* e *Campylobacter rectus*, respectivamente. Entre as espécies detectadas na placa dental subgengival associadas à doença periodontal estão *C. gracilis*, *C. concisus*, *C. rectus* (16). São difíceis de serem cultivados (13).

As espécies de *Selenomonas* associadas à doença periodontal incluem *S. sputigena*, *S. noxia*, *S. infelix* (16).

Estes microrganismos são difíceis de serem cultivados.

Microrganismos bucais eucarióticos

Além das bactérias (microrganismos procariotos), microorganismos eucarióticos também colonizam a cavidade bucal. Estes últimos incluem os fungos (leveduras) e protozoários.

A) Fungos - Gênero *Candida*

O gênero *Candida* é o mais comumente identificado na boca. Cerca de 50% dos adultos saudáveis apresentam espécies de *Candida* na boca. São considerados parte da microbiota comensal, mas são microrganismos oportunistas, causando a candidíase, quando a microbiota comensal é desestabilizada, ou em indivíduos com deficiência do sistema imunológico. A espécie mais comum na boca é a *Candida albicans*, mas outras espécies são também comumente detectadas, como *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. dubliniensis* e *C. krusei*.

Candida spp. crescem tanto na forma unicelular (forma de levedura), como na forma filamentar (formando hifas e/ou pseudo-hifas). A forma filamentar está normalmente associada à virulência, sendo identificada em casos de candidíase. *Candida spp.* crescem preferencialmente em meios ácidos, estando associadas a bactérias produtoras de ácido láctico nos dentes e mucosas. Por isto, os níveis destes fungos são muitas vezes analisados na cavidade bucal como indicadores da atividade de cárie, onde prevalecem as bactérias acidogênicas⁶.

B) Protozoários

⁶ Recordar a patogenia das espécies de *Cândida* descrita no primeiro semestre.

Não fazem parte da microbiota comensal, embora possam ser detectados em algumas situações. Os Gêneros mais comumente identificados na boca incluem (1) *Entamoebas* e (2) *Trichomonas*. O primeiro gênero inclui a espécie *Entamoeba gingivalis*, identificada nos tecidos periodontais de indivíduos que receberam radioterapia. O segundo, inclui a espécie *Trichomonas tenax*, identificada no sulco gengival, com patogenicidade desconhecida (13).

Vírus

Os vírus podem ser detectados na boca, mas são considerados transitórios, com exceção do vírus herpes simplex tipo I, pois estes podem ser frequentemente identificados em pequena proporção da saliva de indivíduos assintomáticos. Os vírus atingem a boca através da saliva ou fluido crevicular, em indivíduos infectados em outras regiões do organismo. O vírus da hepatite B podem ser detectados na saliva, assim como o vírus HIV (13).

Genoma dos principais patógenos da boca.

Os genomas de diversas espécies comensais e patogênicas da cavidade bucal foram sequenciados, ou seus projetos de sequenciamento estão em andamento (5). Através do sequenciamento destes genomas, pode-se estimar/identificar os diversos genes bacterianos, obter informações sobre suas seqüências regulatórias (promotoras e outras) e sua organização genômica. Os dados do genoma são importantes para o estudo dos mecanismos que regulam a expressão gênica e identificação de genes de virulência, os quais podem ser alvos para diversas terapias antimicrobianas. A comparação de genomas entre espécies bucais e outras espécies patogênicas em humanos tem sido importante para a compreensão dos mecanismos moleculares de virulência e da transferência genética entre as espécies. Mais de 250 projetos de sequenciamento de espécies microbianas distintas têm sido desenvolvidas no *The Institute for Genomic Research* (TIGR) e depositadas no banco de dados TIGR-Microbial Database, disponíveis através do site <http://www.tigr.org/>. Os genomas são também depositados no *GenBank*, banco de dados público do *National Center for Biotechnology Information*, E.U.A., cujo acesso pode ser feito através do site do NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genomes/>). O total de 11 espécies distintas da cavidade bucal tem os seus genomas completos ou em fase de finalização (Tabela 5).

Tabela 5. Genomas de bactérias bucais completos ou em fase de conclusão.

Espécie	Cepa	Tamanho do genoma (Mb*)	Instituições envolvidas	Web sites para pesquisa
<i>Actinobacillus actinomycetemcomitans</i>	HK1651	2,2	Universidade de Oklahoma, E.U.A.	www.genome.ou.edu , NCBI
<i>Bacteróides forsythus</i> ^a	ATCC 43037		TIGR, NCBI	www.genome.ou.edu , NCBI
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	ATCC 25586	2,17	TIGR, The Forsyth Institute, E.U.A.	www.TIGR.org , NCBI
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	ATCC10953	2,4	Baylor College of Medicine UCLA, E.U.A.	www.hgsc.tmc.edu/microbial/Fnucleatum
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	W83	2,34	TIGR, The Forsyth Institute, E.U.A.	www.TIGR.org , NCBI
<i>Prevotella intermedia</i>	17	2,8	TIGR, The Forsyth Institute, E.U.A.	www.TIGR.org , NCBI
<i>Streptococcus gordonii</i>	Challis	2,2	TIGR, E.U.A.	www.TIGR.org
<i>Streptococcus mitis</i>	NCTC 12261	2,2	TIGR, E.U.A.	www.TIGR.org , NCBI
<i>Streptococcus mutans</i>	UA159	2,2	Universidade de Oklahoma, E.U.A.	www.genome.ou.edu , NCBI
<i>Streptococcus sanguinis</i>	SK36		Virginia Commonwealth University, TIGR, E.U.A.	www.TIGR.org , NCBI
<i>Streptococcus sobrinus</i>	6715		TIGR, E.U.A.	www.TIGR.org
<i>Treponema denticola</i>	ATCC 35405	3,0	TIGR, E.U.A.	www.TIGR.org

^a Recentemente reclassificado com *Tannerella forsythensis*.

Fontes: (5); TIGR Database, NCBI Database.

Agradecimentos

A elaboração desta apostila contou com a colaboração do aluno do Curso de Graduação em Odontologia da FOP-UNICAMP, **Leandro Moraes Furlan** (RA 24277).

Referências

1. **Becker, M. R., B. J. Paster, E. J. Leys, M. L. Moeschberger, S. G. Kenyon, J. L. Galvin, S. K. Boches, F. E. Dewhirst, and A. L. Griffen.** 2002. Molecular analysis of bacterial species associated with childhood caries. *J.Clin.Microbiol.* **40**:1001-1009.
2. **Bratthall, D.** 1969. Immunodiffusion studies on the serological specificity of streptococci resembling *Streptococcus mutans*. *Odontol.Revy.* **20**:231-243.
3. **Bratthall, D. and B. Kohler.** 1976. *Streptococcus mutans* serotypes: some aspects of their identification, distribution, antigenic shifts, and relationship to caries. *J.Dent.Res.* **55 Spec No**:C15-C21.
4. **Cortelli, J. R., S. C. Cortelli, S. Jordan, V. I. Haraszthy, and J. J. Zambon.** 2005. Prevalence of periodontal pathogens in Brazilians with aggressive or chronic periodontitis. *J.Clin.Periodontol.* **32**:860-866.
5. **Duncan, M. J.** 2003. Genomics of oral bacteria. *Crit Rev.Oral Biol.Med.* **14**:175-187.
6. **Ferretti, J. J., D. Ajdic, and W. M. McShan.** 2004. Comparative genomics of streptococcal species. *Indian J.Med.Res.* **119 Suppl**:1-6.
7. **Hahn, C. L., H. A. Schenkein, and J. G. Tew.** 2005. Endocarditis-associated oral streptococci promote rapid differentiation of monocytes into mature dendritic cells. *Infect.Immun.* **73**:5015-5021.
8. **Kazor, C. E., P. M. Mitchell, A. M. Lee, L. N. Stokes, W. J. Loesche, F. E. Dewhirst, and B. J. Paster.** 2003. Diversity of bacterial populations on the tongue dorsa of patients with halitosis and healthy patients. *J.Clin.Microbiol.* **41**:558-563.
9. **Kolenbrander, P. E. and J. London.** 1993. Adhere today, here tomorrow: oral bacterial adherence. *J.Bacteriol.* **175**:3247-3252.
10. **Madigan, M. T., J. M. Martinko, and J. Parker.** 2000. *Brock Biology of Microorganisms*. Prentice-Hall, Inc, New Jersey.
11. **Mager, D. L., L. A. Ximenez-Fyvie, A. D. Haffajee, and S. S. Socransky.** 2003. Distribution of selected bacterial species on intraoral surfaces. *J.Clin.Periodontol.* **30**:644-654.
12. **Marcotte, H. and M. C. Lavoie.** 1998. Oral microbial ecology and the role of salivary immunoglobulin A. *Microbiol.Mol.Biol.Rev.* **62**:71-109.

13. **Marsh, P. and M. V. Martin.** 2005. Microbiologia Oral. Livraria Santos Editora, São Paulo.
14. **Marsh, P. D.** 2003. Are dental diseases examples of ecological catastrophes? Microbiology **149**:279-294.
15. **Pace, N. R.** 1995. Opening the door onto the natural microbial world: molecular microbial ecology. Harvey Lect. **91**:59-78.
16. **Paster, B. J., S. K. Boches, J. L. Galvin, R. E. Ericson, C. N. Lau, V. A. Levanos, A. Sahasrabudhe, and F. E. Dewhirst.** 2001. Bacterial diversity in human subgingival plaque. J.Bacteriol. **183**:3770-3783.
17. **Sanders, W. E. and C. C. Sanders.** 1984. Modification of normal flora by antibiotics: effects on individual and environment., p. 217-241. *In* M. A. Sande and R. K. Koot (eds.), New dimensions in antimicrobial chemotherapy. Churchill Livingstone, New York.
18. **Smith, D. J., J. M. Anderson, W. F. King, J. van Houte, and M. A. Taubman.** 1993. Oral streptococcal colonization of infants. Oral Microbiol.Immunol. **8**:1-4.
19. **Song, Y., C. Liu, M. McTeague, A. Vu, J. Y. Liu, and S. M. Finegold.** 2003. Rapid identification of Gram-positive anaerobic coccal species originally classified in the genus Peptostreptococcus by multiplex PCR assays using genus- and species-specific primers. Microbiology **149**:1719-1727.
20. **Thylstrup, A. and O. Fejerskov.** 1995. Cariologia clínica. Editora Santos, São Paulo.
21. **Uzeda, M.** 2005. A microbiota da cavidade oral, p. 1-32. *In* Microbiologia oral: etiologia da cárie, doença periodontal e infecções endodônticas.
22. **Whiley, R. A. and D. Beighton.** 1998. Current classification of the oral streptococci. Oral Microbiol.Immunol. **13**:195-216.

Glossário

Microorganismos comensais: microrganismos que vivem em equilíbrio com o hospedeiro, não causam doenças e são importantes para a manutenção da saúde.

Microorganismos oportunistas: microrganismos que não causam patologias em condições normais, mas que se tornam invasivos quando as defesas naturais são comprometidas.

Microorganismos parasitas: microrganismos que crescem no interior ou em um hospedeiro

Microorganismos patogênicos (patógenos): microrganismos que causam uma doença no hospedeiro

Gênero: uma coleção de espécies bacterianas que compartilham um grupo de características

Espécie: em microbiologia se refere ao conjunto de cepas que compartilham as mesmas propriedades, mas que diferem em uma ou mais propriedades significativas de um outro grupo de cepas; duas espécies de procariotos geralmente diferem em 3% das suas seqüências do RNAr 16S (Brook, pág. 423).

RNAr 16S: polinucleotídeo (aprox. 1500 bases) que funciona como parte da subunidade menor do ribossomo de procariotos. São seqüências conservadas que utilizadas para análise evolutiva de procariotos. Corresponde ao RNAr 18S dos eucariotos.

Microbiota indígena: conjunto de microrganismos que formam uma comunidade microbiana associada aos tecidos saudáveis. A maior parte dos microrganismos da microbiota indígena são comensais, mas também podem existir microrganismos oportunistas e até mesmo alguns microrganismos patogênicos em baixos níveis.