

*Aerobic Microorganisms Survey of Mother-Offspring Pairs***Transmissibilidade da Microbiota Bucal
Entre Humanos**

Levantamento Microbiológico de Pares de Mãe-Filho em Aerobiose

INTRODUÇÃO

Em 1683, ANTONIE VAN LEEWENHOEK escreveu: "...peguei esta coisa da parte oca das raízes (dentais) e misturei com água de chuva limpa, colocando-a na lente ampliadora... Devo confessar que tudo me pareceu estar vivo... os animáculos, com suas fortes nadadeiras dentro da água, punham muitas partículas pequenas..." (ZAMBON, 1999, p. 147)²⁰. Desde VAN LEEWENHOEK, é incessante a busca por um maior conhecimento da microbiota bucal e sua relação com o hospedeiro.

A doença periodontal foi comprovadamente associada à presença de microorganismos no estudo de LÖE et al. (1965)¹¹, onde demonstraram que acúmulos de leves depósitos sobre os dentes estavam relacionados ao desenvolvimento de gengivite marginal, o que foi reafirmado por THEILADE et al. (1966)¹⁸.

Passou a ser aceita a hipótese da placa específica, que propunha que algumas espécies bacterianas na microbiota subgingival seriam responsáveis pelas diferentes formas de doença periodontal (ZAMBON, 1999)²⁰. Já que determinados microorganismos foram implicados como patógenos periodontais, houve um interesse crescente na fonte e via de infecção por essas bactérias. Foi sugerido, então, que elas não pertenceriam à microflora oral nativa e que a única fonte provável seria o contato com outros membros infectados da família (ZAMBON, 1999)²⁰. Muitos estudos destinaram-se a investigar a transmissibilidade da microbiota bucal entre humanos, já que é de interesse fundamental a não ocorrência da mesma, principalmente de adultos para crianças, pois, quanto mais precoce a colonização, maior é a oportunidade para os microorganismos estabelecerem-se naquele nicho ecológico (MORINUSHI et al., 2000)¹².

Uma pesquisa microbiológica com o objetivo de verificar a similaridade entre as microbiotas orais das mães e de seus filhos, em aerobiose, foi realizada em uma pequena amostra de 7 pares mãe-filho. As mães apresentaram-se para tratamento periodontal na clínica da Escola de Aperfeiçoamento Profissional da Associação Brasileira de Odontologia (ABO), seção Mato Grosso do Sul (MS), no primeiro semestre do ano de 2001. Este levantamento limitou-se à verificação dos morfotipos bacterianos de mães e filhos, buscando analisar a semelhança da colonização entre ambos.

REVISÃO DA LITERATURA

A etiologia bacteriana na doença periodontal

KORNMAN et al. (1991)⁹ realizaram um estudo de campo longitudinal das Periodontites do Adulto e Refratária, com o objetivo de determinar bases para o diagnóstico, o que pode ser de muito valor para o estabelecimento do alvo na terapia periodontal. Segundo os autores, o conceito de que certos tipos de bactérias estariam relacionados a determinados tipos de doença é difícil de ser passado à prática, com exceção da Periodontite Juvenil Localizada (fortemente relacionada ao *Actinobacillus actinomycetemcomitans* (A.a.)). Na Periodontite do Adulto, seria desejável identificar bactérias específicas para determinar o alvo da terapia e o prognóstico do tratamento, o que não foi possível no referido estudo porque pacientes com as mesmas caracterís-

- Flávia Aparecida Chaves Furlaneto

Aluna do Curso de Especialização em Periodontia da ABO/MS

- José Peixoto Ferrão Junior

Professor Responsável pela Disciplina de Periodontia da FO/Campo Grande/UFMS e Professor do Curso de Especialização em Periodontia da ABO/MS

- Nára Rejane Santos Pereira

Professora Assistente de Periodontia da FO/Campo Grande/UFMS

- Emerson Chaves Furlaneto

Mestre e Doutor em CTBMF

Os AA pesquisam a similaridade da microbiota que habita a cavidade bucal de mães com periodontite e seus filhos, realizando um levantamento microbiológico

Tabela 1

Distribuição da amostra de pacientes examinada, segundo a presença de crescimento de bactérias Gram-negativas em meio de MacConkey Agar, Campo Grande, 2002.

PRESEÇA DE CRESCIMENTO BACTERIANO	NÚMERO DE PACIENTES EXAMINADOS
Sim	01
Não	13
TOTAL	14

FONTE: Dados da pesquisa

ticas clínicas mostraram grandes variações na composição da placa subgingival, enquanto pacientes com achados microbiológicos semelhantes apresentaram grandes variações nas apresentações clínicas.

As doenças periodontais são associadas principalmente a bactérias Gram-negativas, segundo IRFAN et al. (1999)⁷. Estes microorganismos iniciam uma série de eventos levando à perda de fixação periodontal e osso alveolar.

Gravidade da doença periodontal: virulência do patógeno e resistência do hospedeiro

BROWN et al. (1991)⁴ observaram que em alguns pacientes a quantidade de irritantes locais não era compatível com a quantidade de destruição periodontal presente. Concluíram, então, que possíveis razões para a resposta mínima à terapia periodontal convencional nos sítios com depósitos de cálculo subgingival indetectáveis incluiriam a colonização desses sítios por uma flora mais patogênica, a habilidade reduzida do hospedeiro em responder a certos microorganismos e a dificuldade de remover bactérias que possam ter invadido os tecidos gengivais.

BECK (1994)², ao escrever sobre métodos para a taxação de risco para a periodontite, comparou a mesma a algumas das condições médicas comuns, onde certas pessoas têm maior risco que outras, e esforços na prevenção e intervenção envolvem uma combinação do comportamento pessoal e práticas profissionais.

WOLFF et al. (1994)¹⁹ concluíram que os microorganismos, componentes essenciais de qualquer modelo de periodontite, deveriam ser focalizados em conjunto com padrões de comportamento (fumo e higiene oral) e resposta do hospedeiro (substâncias do fluido sulcular) na análise de fatores de risco para as doenças periodontais.

Evidências da transmissibilidade da microbiota bucal entre humanos

O estudo de OFFENBACHER et al. (1985)¹³, realizado com 14 casais para determinar o grau de similaridade da flora periodontal subgingival, revelou uma associação positiva para espiroquetas médias e filamentosos entre os pares. Os autores demonstraram, quanto aos morfotipos bacterianos, que a flora é significativamente mais semelhante entre cônjuges que co-habitam do que entre outros indivíduos, sugerindo um risco significativo de transmissão entre os casais por contato direto ou indireto. Também apontaram os hábitos de higiene bucal semelhantes como outra possível causa da similaridade entre as microbiotas dos casais.

ALALUUSUA et al. (1991)¹ realizaram um estudo comparativo entre a microbiota bucal de crianças com dentição primária e a de seus pais. Eles concluíram que, quando uma criança era positiva para o A.a., o pai ou a mãe também o eram. Através

Tabela 2

Distribuição da amostra de pacientes examinada, segundo a presença de crescimento de bactérias Gram-positivas em meio de Mueller Hinton Sangue, Campo Grande, 2002.

PRESEÇA DE CRESCIMENTO BACTERIANO	NÚMERO DE PACIENTES EXAMINADOS
Sim	14
Não	00
TOTAL	14

FONTE: Dados da pesquisa

da técnica da imunodifusão, verificaram que os A.a. tinham o mesmo sorotipo, indicando uma transmissão intrafamiliar dos mesmos.

Segundo ROSELL et al. (1999)¹⁵, a mãe seria a principal fonte de infecção de microorganismos relacionados à cárie e à doença periodontal, o que seria um fato muito importante, especialmente se a mãe apresentasse alto risco para alguma dessas enfermidades. Os autores defenderam a promoção de saúde bucal por meio da adoção de uma conduta preventiva que se iniciaria desde a gestação, possibilitando uma motivação da mãe, reduzindo a possibilidade de infecção precoce, devido à minimização da provável transmissibilidade de microorganismos bucais patogênicos para a criança.

ZAMBON (1999)²⁰ relatou que houve um crescente interesse na fonte e via de infecção por certos microorganismos, implicados como patógenos periodontais. De acordo com o autor, o paciente, para manifestar a periodontite, precisa ficar infectado com patógenos específicos que são transmitidos por fontes externas, já que eles não fazem parte da microbiota local normal. Sugeri que a única fonte provável é o contato com outros membros infectados da família.

MATERIAL E MÉTODO

Foram selecionados 7 pares de mãe-filho, que se apresentaram para atendimento odontológico na clínica da Escola de Aperfeiçoamento Profissional da ABO, seção MS, no primeiro semestre do ano de 2001.

A mãe voluntária para o trabalho não poderia apresentar doenças sistêmicas que pudessem interferir na microbiota periodontal, como diabetes mellitus. Foram excluídas as mães que estivessem grávidas, ou que estivessem realizando tratamentos de reposição hormonal. Foi também questionado previamente às mães se nos últimos 6 meses haviam feito algum tipo de tratamento periodontal ou antibioticoterapia, não sendo escolhidas para o presente levantamento as que se apresentassem nestas condições. A idade das mães variou entre 22 e 36 anos.

Todas as mães incluídas no levantamento apresentaram, clinicamente, pelo menos 1 sítio com doença periodontal ativa, o que foi evidenciado através do sangramento à sondagem. As bolsas foram avaliadas clinicamente por meio da sondagem, desde que a profundidade das mesmas ultrapassasse 2 milímetros (mm) nas faces livres e 3 mm nas faces interproximais. Ao exame clínico, apenas uma das mães apresentou mobilidade dentária.

Também foram verificadas, nos(as) filhos(as), possíveis interferências sistêmicas na microbiota bucal, como diabetes mellitus e o tratamento com antibióticos nos últimos 6 meses.

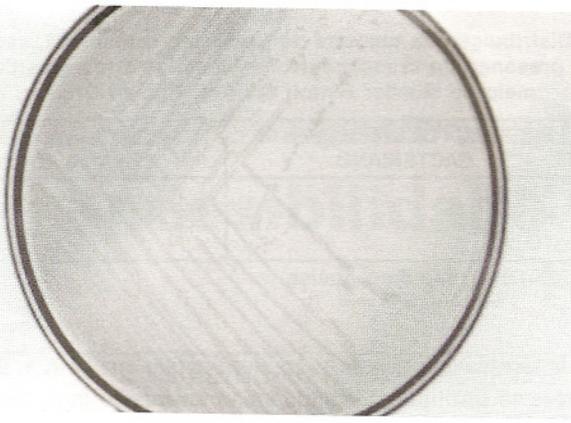


Fig. 1 - Placa contendo meio de MacConkey gar, onde se evidencia o desenvolvimento de colônias de bactérias Gram-negativas *Pseudomonas* sp.



Fig. 2 - Placa contendo meio de Mueller Hinton Sangue (Agar Sangue), onde se evidencia o crescimento de microorganismos Gram-positivos *Streptococcus B-hemolíticos*.

Dentre as 7 crianças participantes deste estudo, 5 eram do sexo feminino e 2 do sexo masculino. Elas deveriam ter idade máxima de 10 anos. Nesta pesquisa, a idade variou de 2 a 10 anos.

Ao exame clínico bucal, todas as crianças apresentaram normalidade periodontal. Para a coleta da placa subgengival, foi eleito o sulco lingual do segundo molar inferior decíduo do lado direito (dente 85), com exceção de 2 crianças, onde o mesmo já havia esfoliado. Nestas, a coleta foi realizada a partir do sulco méso-vestibular do incisivo inferior do lado direito (dente 42).

Foram esclarecidos os objetivos deste levantamento microbiológico, bem como a técnica que seria utilizada para tal. Depois do consentimento das mães em participar do estudo, procedeu-se o preenchimento das fichas clínicas da mãe e de seu(ua) filho(a).

Dentro de cada par mãe-filho, primeiramente foi realizada a coleta da placa subgengival de 1 sítio de periodontite ativa na mãe e depois a coleta da placa subgengival do sulco da criança.

Os dentes de onde seriam extraídas as amostras bacterianas foram isolados com rolinhos de algodão estéreis. A placa supragengival foi então removida com gaze esterilizada. Um cone de papel, também previamente esterilizado, foi introduzido na bolsa ou sulco e ali permaneceu por um período de 10 segundos. No caso das bolsas periodontais, o cone de papel absorvente penetrou até a profundidade de sondagem anteriormente verificada.

Imediatamente após removido do sítio em questão, o cone de papel foi levado por uma pinça clínica a um tubo de ensaio contendo o caldo Brain Heart Infusion (BHI), que foi utilizado como meio de cultura das amostras, sendo favorável para o crescimento de microorganismos aeróbios e anaeróbios facultativos Gram-positivos e Gram-negativos.

Posteriormente, os tubos de ensaio contendo as amostras microbiológicas foram processados para a identificação das culturas. As amostras foram introduzidas em estufa de cultura a 37 graus Celsius (°C) durante 24 horas. Todas as etapas de transferências foram executadas passado este tempo mínimo de 24 horas, para que se pudesse evidenciar o crescimento bacteriano.

A transferência das amostras a partir do meio líquido, com os microorganismos já desenvolvidos, foi realizada para dois meios de cultura em placas (meios sólidos). Para auxiliar na transferência para as placas, foi utilizada uma alça de platina, na

tentativa de isolamento dos microorganismos pesquisados. Os meios sólidos selecionados foram o de MacConkey Agar e o de Mueller Hinton Sangue (Agar Sangue). O primeiro foi utilizado com a intenção de verificação de bactérias Gram-negativas, pois ele é seletivo para o crescimento de tais microorganismos. E o segundo meio eleito teve a finalidade de identificação de bactérias Gram-positivas.

Depois de 24 horas de crescimento bacteriano nos meios sólidos, procedeu-se a leitura das culturas desenvolvidas nas placas.

RESULTADOS

Através da análise das amostras processadas para a pesquisa de microorganismos aeróbios e anaeróbios facultativos Gram-negativos, o que foi realizado no meio de MacConkey Agar, verificou-se que em 6 dos 7 pares mãe-filho não houve crescimento de tais bactérias. Apenas em uma dupla ocorreu a presença de microorganismos Gram-negativos, pertencentes ao grupo das *Pseudomonas* sp, na amostra recolhida do sulco gengival do molar decíduo da criança.

Na pesquisa por microorganismos aeróbios e anaeróbios facultativos Gram-positivos, realizada no meio de Mueller Hinton Sangue (Agar Sangue), em todas as amostras confirmou-se a presença de microorganismos componentes da microbiota indígena da cavidade bucal. Foram verificadas colônias de *Stafilococcus* sp hemolíticos e *Streptococcus* sp, tanto alfa (a) quanto beta (b) hemolíticos.

DISCUSSÃO

A transmissão da microbiota oral de pais para filhos, chamada por SOCRANSKY e HAFFAJEE (1999)¹⁶ de transmissão "vertical" foi um tema abordado por diversos estudiosos, como PINTO (1998)¹⁴, HARASZTHY et al. (2000)⁶ e IRFAN et al. (1999)⁷. Os últimos autores verificaram que crianças de até 3 anos de idade exibem uma microflora oral que não suporta a colonização por *A.a.* e *Porphyromonas gingivalis* (P.g), o que sugere uma susceptibilidade adquirida a estas bactérias na vida adulta. Já

ALALUUSUA (1991) apud PINTO (1998)¹⁴ demonstrou que a colonização pelo A.a. em crianças estabeleceu-se dos 5 aos 7 anos. De acordo com MORINUSHI et al. (2000)¹², quanto mais cedo a infecção é estabelecida, maior é a oportunidade para os periodontopatógenos permanecerem estáveis naquele nicho ecológico. Discordando dos últimos autores, KAMMA et al. (2000)⁸ afirmaram que os patógenos que são provavelmente transmitidos por meio do íntimo contato dos pais com a criança constituem uma flora passageira.

A metodologia utilizada no presente trabalho escolheu pares mãe-filho para verificar a similaridade das floras bacterianas, coincidindo com os estudos de ROSELL et al. (1999)¹⁵, SOCRANSKY e MANGANIELLO (1971)¹⁷ e BERKOWITZ et al. (1975)³, que consideraram a mãe como a principal fonte de transmissão da microflora oral. A amostra englobada neste estudo foi pequena (apenas 7 pares mãe-filho) se comparada à amostra do trabalho de CHEN et al. (1997)⁵, com 24 duplas de mãe e filho, mas a faixa etária das crianças foi a mesma em ambos (2 a 10 anos).

Assim como OFFENBACHER et al. (1985)¹³, na presente pesquisa foram examinadas as amostras bacterianas por meio da análise dos morfotipos bacterianos. De acordo com os últimos autores citados, os estudos morfológicos não podem claramente identificar microorganismos, ou seja, o que foi identificado como uma espiroqueta em um sítio pode não ser a mesma espiroqueta observada em outro sítio, o que representa uma limitação de todos os estudos morfológicos. Este tipo de levantamento difere do apresentado por LI e CAULFIELD (1995)¹⁰, que utilizou técnicas de biologia molecular mais sensíveis, mostrando a diversidade genética no ácido desoxirribonucléico (DNA) cromossômico onde cepas de pares de mãe-filho apresentaram perfil idêntico, o que pode realmente sugerir transmissão de microorganismos a partir da mãe.

Streptococcus sp e *Actinomyces* sp são os colonizadores mais precoces da superfície dos dentes e importantes componentes da placa dental associada à manutenção da saúde periodontal, segundo CHEN et al. (1997)⁵. Estes autores observaram que os *Streptococcus* sp constituem 76,3 por cento (%) da flora bucal cultivável das 24 crianças pesquisadas. Estes resultados assemelham-se aos do presente trabalho, onde todas as amostras bacterianas dos filhos e também das mães apresentaram este grupo de microorganismos, além dos *Staphylococcus* sp.

Alguns dos periodontopatógenos suspeitos foram isolados em poucas crianças, no trabalho de KAMMA et al. (2000)⁸. No presente estudo, apenas em 1 das 7 crianças foi encontrado um microorganismo periodontal suspeito, *Pseudomonas* sp. KAMMA et al. (2000)⁸ também afirmaram que o ambiente criado nos molares favorece a colonização por periodontopatógenos, que foram encontrados mais frequentemente e em maior número nesta região, que abriga uma flora Gram-negativa mais complexa. Na pesquisa atual, o único achado de bactérias Gram-negativas também ocorreu na placa subgingival do molar decíduo da criança.

Com base em nossos achados, cremos que seria importante a realização de estudos complementares enfocando a transmissibilidade da microbiota bucal entre mães e filhos, utilizando metodologia baseada em técnicas de biologia molecular mais sensíveis, por meio das quais seria possível verificar a

diversidade genética no DNA cromossômico de cepas bacterianas, preferencialmente com a utilização de uma amostra maior do que a apresentada no presente estudo.

CONCLUSÕES

Após o trabalho realizado, é possível concluir que:

1. Mães e filhos apresentaram uma colonização bacteriana semelhante nas placas dentais subgingivais da amostra pesquisada;

2. Ainda são complexas e controversas as modalidades de transmissão da microbiota bucal entre humanos, mas é importante a realização do diagnóstico e plano de tratamento da doença periodontal associados a uma abordagem familiar;

3. É necessário ter cautela ao informar à população leiga sobre a possibilidade de transmissão da microbiota oral, já que a presença de patógenos não desencadeia necessariamente a doença, existindo dependência das condições do hospedeiro;

4. Devem ser estabelecidos programas preventivos para um controle clínico dos microorganismos naqueles pais portadores de uma microflora oral evidentemente patogênica, incluindo as gestantes, realizando uma promoção de saúde bucal voltada para toda a família.

RESUMO

Desde a comprovação de que a etiologia das doenças periodontais está estreitamente relacionada à presença de microorganismos, muitos estudos têm buscado conhecimento sobre a composição das placas bacterianas subgingivais, a fonte e a via de infecção por periodontopatógenos específicos. A etiologia bacteriana na doença periodontal, bem como os fatores relacionados ao hospedeiro, foram revisados na literatura, enfatizando o que foi sugerido sobre a transmissibilidade da microbiota bucal entre humanos. Com o objetivo de verificar a similaridade da microbiota que habita a cavidade bucal de mães com periodontite e seus filhos, foi realizado um levantamento microbiológico em aerobiose, a partir das placas bacterianas subgingivais de 7 pares de mãe-filho, onde todas as mães sofriram de periodontite e os(as) filhos(as) encontravam-se na faixa etária de 2 a 10 anos. As amostras foram cultivadas em meios sólidos para que se pudesse evidenciar o crescimento de microorganismos Gram-negativos (meio de MacConkey Agar) e Gram-positivos (meio de Mueller Hinton Sangue). Constatou-se uma similaridade na colonização entre as mães e seus(uas) respectivos(as) filhos(as) e a presença de periodontopatógenos suspeitos (*Pseudomonas* sp) em apenas uma amostra, pertencente a uma criança. Concluiu-se ser de fundamental importância a promoção de saúde bucal voltada para pais portadores de uma microbiota evidentemente patogênica, com o estabelecimento de programas preventivos, assim como o diagnóstico e plano de tratamento das doenças periodontais ser associado à abordagem familiar.

NOTA

Resumo da monografia apresentada à Escola de Especialização Odontológica da ABO/MS para obtenção do Título de Especialista em Periodontia.

SUMMARY

Since it is known that the etiology of periodontal disease is closely related to microorganisms, many works have been looking for the composition of the subgingival plaque, as well as the source and means of infection by periodontal-specific microorganisms. We review the literature on the bacterial etiology of the periodontal disease and factors related to the host, focusing the transmission between humans. In this paper, an aerobic microbe survey was done, in order to compare the flora of mothers affected by periodontitis and their respective siblings. The material used was obtained from subgingival plaque from seven couples (mother-offspring). All mothers suffered from periodontal disease and their offsprings were between the ages of 2 and 10. The samples were cultivated in solid environment to look for Gram-negative (MacConkey Agar plate) and Gram-positive (Mueller Hinton Blood plate) microorganisms. There was similarity in the colonization between mothers and respective offsprings. In only one sample - from a child - a suspected microbe (*Pseudomonas* sp) was found. We concluded that it's necessary to emphasize oral health in parents affected by pathogenic flora, with the establishment of preventive programs, as well as include the family in the treatment plan of periodontal diseases.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALALUUSUA, S.; ASIKAINEN, S.; LAI, C. H. Intrafamilial transmission of *Actinobacillus Actinomycetemcomitans*. *J Periodontol*, v. 62, n. 3, p. 207-210, Mar. 1991.
2. BECK, J. D. Methods of assessing risk for periodontitis and developing multifactorial models. *J Periodontol*, v. 65, n. 5, p. 468-478, May 1994. Suplemento.
3. BERKOWITZ, R. J.; JORDAN, H. V.; WHITE, G. The early establishment of *Streptococcus mutans* in the mouths of infants. *Arch Oral Biol*, v. 20, n. 171, 1975.
4. BROWN, C. M.; HANCOCK, E. B.; O'LEARY, T. J.; MILLER, C. H.; SHELDRAKE, M. A. A microbiological comparison of young adults based on relative amounts of subgingival calculus. *J Periodontol*, v. 62, n. 10, p. 591-597, Oct. 1991.
5. CHEN, C.; ASHIMOTO, A.; SANGSURASAK, S.; FLYNN, J. M.; SLOTS, J. Oral food consumption and subgingival microorganisms: subgingival microbiota of gastrostomy tube-fed children and healthy controls. *J Periodontol*, v. 68, p. 1163-1168, 1997.
6. HARASZTHY, V. I.; HARIHARAN, G.; TINOCO, E. M. B.; CORTELLI, J. R.; LALLY, E. T.; DAVIS, E.; ZAMBON, J. J. Evidence for the role of highly leukotoxic *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in the pathogenesis of Localized Juvenile and other forms of early-onset periodontitis. *J Periodontol*, v. 71, n. 6, p. 912-922, June 2000.
7. IRFAN, U. M.; DAWSON, D. V.; BISSADA, N. F. Assessment of familial patterns of microbial infection in periodontitis. *J Periodontol*, v. 70, n. 11, p. 1406-1418, Nov. 1999.
8. KAMMA, J. J.; DIAMANTI-KIPIOTI, A.; NAKOU, M.; MITSIS, F. J. Profile of subgingival microbiota in children with primary dentition. *J Periodont Res*, v. 35, n. 1, p. 33-41, Feb. 2000.
9. KORNMAN, K. S.; NEWMAN, M. G.; ALVARADO, R.; FLEMMIG, T. F.; NACHNANI, S.; TUMBUSCH, J. Clinical and microbiological patterns of adults with periodontitis. *J Periodontol*, v. 62, n. 10, p. 634-642, Oct. 1991.
10. LI, Y.; CAULFIELD, P. W. The fidelity of initial acquisition of mutans *Streptococci* by infants from their mothers. *J Dent Res*, v. 74, n. 2, p. 681-685, Feb. 1995.
11. LÖE, H.; THEILADE, E.; JENSEN, S. B. Experimental gingivitis in man. *J Periodontol*, v. 36, n. 3, p. 177-187, Mar. 1965.
12. MORINUSHI, T.; LOPATIN, D. E.; POPPERIN, N. V.; UEDA, Y. The relationship between gingivitis and colonization by *Porphyromonas gingivalis* and *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in children. *J Periodontol*, v. 71, n. 3, p. 403-409, Mar. 2000.
13. OFFENBACHER, S.; OLSVIK, B.; TONDER, A. The similarity of

periodontal microorganisms between husband and wife cohabitants. Association or transmission? *J Periodontol*, v. 56, n. 6, p. 317-323, June 1985.

14. PINTO, J. A. S. Transmissão de patógenos periodontais entre membros da família. *Rev Ass Paul Cirurg Dent*, v. 52, n. 2, p. 163-164, mar./abr. 1998.

15. ROSELL, F. L.; MONTANDON-POMPEU, A. A. B.; VALSECKI Jr., A. Registro periodontal simplificado em gestantes. *Rev Saúde Pública*, São Paulo, v. 33, n. 2, p. 1-11, abr. 1999.

16. SOCRANSKY, S. S.; HAFFAJEE, A. D. Microbiologia da doença periodontal. In: LINDHE, J. *Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral*. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. cap. 4, p. 92-126.

17. SOCRANSKY, S. S.; MANGANIELLO, A. D. The oral microbiota of man from birth to senility. *J Periodontol*, v. 42, n. 485, 1971.

18. THEILADE, E.; WRIGHT, W. H.; JENSEN, S. B.; LÖE, H. Experimental gingivitis in man II. A longitudinal clinical and bacteriological investigation. *J Periodont Res*, v. 1, p. 1-13, 1966.

19. WOLFF, L.; DAHLÉN, G.; AEPPLI, D. Bacteria as risk markers for periodontitis. *J Periodontol*, v. 65, n. 5, p. 498-510, May 1994. Suplemento.

20. ZAMBON, J. J. Microbiologia da doença periodontal. In: GENCO, R. J.; GOLDMAN, H. M.; COHEN, D. W. *Periodontia Contemporânea*. 3. ed. São Paulo: Editora Santos, 1999. cap. 11, p. 147-160.