

Marisa Manuela Pereira Rocha

Probióticos e a Doença Periodontal

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2013

Marisa Manuela Pereira Rocha

Probióticos e a Doença Periodontal

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2013

Marisa Manuela Pereira Rocha

Probióticos e a Doença Periodontal

A Aluna,

(Marisa Manuela Pereira Rocha)

“Trabalho apresentado à Universidade Fernando Pessoa
como parte dos requisitos para obtenção do grau
de Mestre em Medicina Dentária.”

Universidade Fernando Pessoa
Faculdade Ciências da Saúde

Porto, 2013

Resumo

Com o progresso da ciência nas últimas décadas, a Medicina Dentária tem evoluído de forma rápida, tendo vindo a assistir-se a um progressivo aumento e consequente utilização de novos produtos e métodos que visam otimizar e acrescentar soluções terapêuticas. Neste contexto, as bactérias, designadamente os “probióticos”, representam um campo de pesquisa promissor, além de um possível instrumento para auxílio na prática clínica diária. Ao lhes serem reconhecidas as suas capacidades de inibirem o crescimento de microrganismos patogénicos, os probióticos poderão ser, num futuro próximo, uma alternativa preventiva e de tratamento de múltiplas doenças, das quais a doença periodontal não é excepção.

A doença periodontal ainda permanece, em todo o mundo, com alta prevalência e incidência, sendo aliás considerada um problema de saúde pública, que afecta a qualidade de vida de muitas pessoas. É considerada uma doença de elevada complexidade quanto à natureza da sua etiologia, classificação das diferentes formas, tratamento e sua manutenção.

O objectivo deste trabalho foi avaliar, através de uma revisão bibliográfica, de que forma o uso de probióticos pode influenciar a condição periodontal.

Apesar dos dados promissores, não é ainda possível, dadas as limitações dos estudos disponíveis, tecer conclusões definitivas sobre a influência dos probióticos na condição periodontal, pelo que mais estudos são necessários.

Palavras-chave: doença periodontal, gengivite, periodontite, factores de risco, probióticos e microbiologia.

Abstract

With the progress of science in the last decades, Dentistry has evolved rapidly and it has been witnessed a progressive increase and consequent use of new products and methods in order to optimize and add new therapeutical solutions. In this context, bacteria, in particular probiotics, represent a promising search area besides being a possible instrument of aid in daily clinical practice. Being recognizable its capacities to inhibit pathogenic microorganisms' growth, they are able to be, in the near future, an alternative of prevention and treatment of multiple diseases of which periodontal disease is not an exception.

Periodontal disease still remains worldwide with high prevalence and incidence being in fact considered a public health problem which affects the quality of life of several people. It is considered a disease of high complexity relatively to its etiology, classification of its different forms, treatment and maintenance.

The aim of this work was to evaluate trough a bibliographic revision, the way that the use of probiotics may influence the periodontal condition.

Despite the promising data, it is not yet possible, given the limitations of the available studies, weaving definitive conclusions about the influence of probiotics in periodontal condition, so further studies are needed.

Keywords: periodontal disease, gingivitis, periodontitis, risk factors, probiotics and microbiology.

*Dedico esta monografia aos meus pais,
que nunca mediram esforços
para que pudesse realizar os
meus sonhos.*

Agradecimentos

À minha orientadora Dra. Patrícia Almeida Santos por toda a sua disponibilidade, empenho, compreensão e conhecimentos transmitidos.

A toda a minha família por todo o carinho e amor demonstrado desde sempre.

Ao meu namorado Tiago, por estar sempre presente e disponível para me apoiar em tudo.

A todos os meus amigos pelo apoio, carinho e amizade.

Aos docentes da Universidade Fernando Pessoa, por terem contribuído para a minha formação académica e pessoal.

A todos os meus sinceros agradecimentos

Índice

I – INTRODUÇÃO.....	1
II – ENQUADRAMENTO TEÓRICO	4
1. DOENÇA PERIODONTAL.....	4
1.1 Definição	4
1.2 Definição de Gengivite.....	4
1.3 Definição de Periodontite	5
1.4 Factores de risco da doença Periodontal.....	7
1.4.1 Fatores não modificáveis	8
1.4.1.1 Idade	8
1.4.1.2 Género	9
1.4.1.3 Raça/ Etnia	9
1.4.1.4 Polimorfismo genético	10
1.4.2 Fatores modificáveis, ambientais, adquiridos e comportamentais.....	13
1.4.2.1 Tabaco	13
1.4.2.2 Obesidade	15
1.4.2.3 Diabetes <i>mellitus</i>	16
1.4.2.4 Osteoporose.....	17
1.4.2.5 Stress.....	19
1.4.2.6 Microrganismos específicos	20
2. PROBIÓTICOS	23
2.1 Definição de Probióticos.....	23
2.2 Perspectiva histórica.....	23
2.3 Requisitos ideais dos probióticos	25
2.4 Mecanismo de acção dos probióticos.....	28
2.5 Potenciais riscos dos probióticos.....	30
2.6 Estirpes probióticas da cavidade oral	33
2.7 Probióticos comercialmente disponíveis para a doença periodontal.....	39
III. MATERIAIS E MÉTODOS	42
IV. RESULTADOS/DISCUSSÃO.....	43
IV. CONCLUSÃO	54
V. BIBLIOGRAFIA	56

Índice de tabelas

Tabela 1. Estudos clínicos de associação entre Probióticos e a Gengivite xi

Tabela 2. Estudos clínicos de associação entre Probióticos e a Periodontite xii

Siglas e Abreviaturas

BOP - Hemorragia à sondagem

DMO - Densidade mineral óssea

DP - Doença Periodontal

EPS- Substância polimérica extracelular

FAO - Organização das Nações Unidas da alimentação e agricultura

FCG- Fluido crevicular gengival

IgA - Imunoglobulina A

IL-1 β - Interleucina 1 beta

IL-6 - Interleucina 6

IL-1 - Interleucina 1

IL-10 - Interleucina 10

IL-1 α - Interleucina 1 alfa

IL-8 - Interleucina 8

LPS - Lipopolissacarídeos

MTC - Medicina tradicional chines

NFκB - Factor nuclear kappa B

OMS - Organização Mundial de Saúde

PAI-1 - Inibidor do ativador do plasminogénio tipo 1

PCR- Polymerase chain reaction

PS - Profundidade de sondagem

TGF-β - Factor de transformação do crescimento beta

TNF-α - Factor de Necrose Tumoral alfa

TNF-β - Factor de Necrose Tumoral beta

UFC - Unidades formadoras de colónias

I – INTRODUÇÃO

A doença periodontal é denominada como um conjunto de processos inflamatórios e infecciosos que envolvem os tecidos periodontais. Sendo de etiologia multifactorial, já foi considerada pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como uma das principais doenças de risco para a saúde oral. Esta patologia pode apresentar diversos estádios, com diferentes manifestações clínicas e distintos padrões de evolução (Alvear et al., 2010; Stamatova, 2009).

A doença periodontal caracteriza-se, na sua fase inicial, por processos inflamatórios reversíveis dos tecidos moles (gingivite), podendo evoluir para a destruição irreversível dos tecidos de suporte dentário, designadamente da gengiva, do ligamento periodontal, do cemento radicular e do osso alveolar (periodontite) (Gupta, 2011; Bonifait et al., 2009; Lawande, 2012; Allaker et al., 2009; Esfahanian et al., 2012; Johnston et al., 2013; Koushyar et al., 2010; Akcali et al., 2013).

As patologias periodontais – gengivite e periodontite - são essencialmente microbianas e a placa bacteriana é considerada o agente etiológico primário (Gupta, 2011; Abreu et al., 2010). Nesse sentido, o tratamento periodontal (não cirúrgico e/ou cirúrgico) passa pela redução ou eliminação da carga bacteriana, podendo ser acompanhado de terapêutica antibiótica (Gupta, 2011; Abreu et al., 2010).

Durante a última década, vários investigadores têm sugerido a utilização de probióticos no tratamento e/ou na prevenção de múltiplas doenças e a doença periodontal não é excepção (Bonifait et al., 2009; Devine et al., 2009; Mohanty et al., 2011; Munoz et al., 2010; Lawande, 2012; Koduganti et al., 2012).

Os probióticos são todos os microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios ao seu hospedeiro (Gupta, 2011; Narang et al., 2011; Mohanty et al., 2011; Singh, 2011; Fernández et al., 2010; Reddy et al., 2011; Stamatova, 2009; Lawande et al., 2012; Bonifait et al., 2009; Munoz et al., 2010; Slawik et al., 2011).

As estirpes probióticas mais comumente utilizadas são as bactérias lactoacidófilas do género *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (Reddy et al., 2011; Munoz et al., 2010).

Cada estirpe probiótica apresenta características específicas que devem ser tidas em consideração, dado que só assim é possível dar ao consumidor os efeitos benéficos decorrentes da sua administração (Lawande, 2012).

Mediante as inúmeras características tidas em consideração no processo de selecção de uma ou outra estirpe probiótica, a capacidade de adesão é considerada como sendo a que mais favorece a expressão da actividade probiótica (Agarwal et al., 2011; Lawande, 2012; Mohanty et al., 2011; Reddy et al., 2011; Pradeep et al., 2012; Narang et al., 2011; Bonifait et al., 2009; Bosch et al., 2012).

Os probióticos estão a emergir como um fascinante campo não só na Medicina, mas também na Medicina Dentária. Actualmente, diversos estudos têm sido realizados com o intuito de avaliar o efeito, mecanismos de acção e influência destes microrganismos no organismo humano, assim como dar a conhecer, através dos resultados obtidos nos diversos estudos, a opinião dos profissionais de saúde sobre este novo método terapêutico em múltiplas doenças, inclusivamente na doença periodontal. Este facto, aliado a um grande interesse pessoal pela área da Periodontia foram os incentivos na escolha do tema deste trabalho.

Este trabalho de revisão bibliográfica tem por objectivo avaliar de que forma o uso de probióticos pode influenciar a condição periodontal.

Efectuou-se uma revisão bibliográfica baseada em informação devidamente publicada. A pesquisa bibliográfica foi realizada no período decorrido entre os meses de Dezembro de 2012 e Fevereiro de 2013, utilizando os motores de busca da *PubMed*, *BIREME*, *Scielo* (Scientific Electronic Library Online), *b-on* (pertencente à FCCN - fundação para computação científica nacional), *Cochrane database*, *Science Direct* e Google académico.

Foram encontrados quarenta e oito artigos com a conjugação das diferentes palavras-chave. Destes, foram seleccionados nove artigos científicos, inicialmente pela relevância do título do artigo, de seguida, pelo conteúdo demonstrado no *abstract* e, por fim, pela leitura do artigo na íntegra.

Dadas as limitações dos (poucos) estudos disponíveis até à data, ainda não é possível tecer conclusões definitivas sobre a influência dos probióticos na condição periodontal. Apesar de alguns resultados promissores, há uma clara necessidade de mais estudos para confirmar os seus possíveis benefícios no âmbito da prevenção e/ou tratamento das doenças periodontais.

II – ENQUADRAMENTO TEÓRICO

1. DOENÇA PERIODONTAL

1.1 Definição

Em todo o mundo, a doença periodontal (DP) ainda permanece como uma das patologias mais prevalentes e complexas quanto à natureza da sua etiologia, classificação das diferentes formas, tratamento e sua manutenção (Alvear et al., 2010; Stamatova, 2009).

Actualmente, esta doença é considerada um problema de saúde pública que atinge de forma heterogénea diferentes regiões do mundo, havendo, no entanto, indicações que os países menos desenvolvidos apresentam uma maior prevalência da doença (Ababneh et al., 2012). Atinge preferencialmente os indivíduos adultos, podendo também afectar crianças e jovens (Esfahanian et al., 2012).

As doenças periodontais mais comuns podem ser agrupadas em dois grupos distintos: Gengivite e Periodontite (Gupta, 2011; Bonifait et al., 2009; Lawande, 2012; Madeiro et al., 2012).

1.2 Definição de Gengivite

A doença bacteriana mais comum no ser humano é, possivelmente, a gengivite. Com uma prevalência nos adultos acima dos 90%, pode ou não progredir para uma condição mais grave, denominada por Periodontite (Wade, 2012; Ababneh et al., 2012; Gupta, 2011; Bonifait et al., 2009; Lawande, 2012).

A patologia periodontal é iniciada por uma acumulação de bactérias ao longo da margem gengival, na interface entre o tecido gengival e a superfície dentária. Inicialmente, as células bacterianas colonizam a película adquirida salivar e, se não ocorrer uma rigorosa higiene oral, as bactérias irão crescer e proliferar, dando origem a uma estrutura complexa, denominada de biofilme bacteriano (Wade, 2012; Madeiro et al., 2008; Eberhard et al., 2013). À medida que o biofilme se desenvolve e amadurece,

uma sucessiva acumulação de bactérias ocorre, sendo responsável por uma mudança de patogenicidade na flora gengival/periodontal, proporcionando um aumento de bactérias anaeróbias gram-negativas, tais como, as estirpes *fusobacterium*, *treponema* e membros dos *phylum syrengistets* (Wade, 2012).

Posteriormente, os tecidos gengivais respondem a esta acumulação de bactérias e seus produtos, manifestando-se através de inflamação (Aarestrup et al., 2008). As alterações inflamatórias condicionam inicialmente os tecidos moles e envolvem alterações clínicas do volume tecidual, da forma, da morfologia e da textura, sendo frequentemente acompanhadas por hemorragia espontânea ou à sondagem (Abreu et al., 2010; Ababneh et al., 2012; Eberhard et al., 2013; Aarestrup et al., 2008). Este quadro clínico é denominado de gengivite e caracteriza-se por não estar associado nem com a migração apical do epitélio de união, nem com a destruição do osso e/ou das fibras do ligamento periodontal (Eberhard et al., 2013; Wade, 2012).

Como demonstrado por Wade, (2012), não existem bactérias específicas associadas à gengivite, mas a quantidade de placa bacteriana presente, a sua deposição, maturidade e correlação estão relacionadas com a severidade da doença.

É importante ressaltar que a gengivite é uma patologia de carácter reversível, pelo que a eficaz remoção de placa bacteriana promove o retorno dos tecidos gengivais à normalidade em poucos dias (Abreu et al., 2010).

1.3 Definição de Periodontite

A Periodontite, por seu lado, é uma doença inflamatória crónica, de carácter multifatorial, que se estabelece em resposta a antígenos periodontopatogénicos (Gandhi et al., 2012; Bindushree et al., 2013; Masamatti et al., 2011; Szpilman et al., 2012; Berezow et al., 2000; Mohanty et al., 2011).

Esta doença progressiva e destrutiva afecta, de forma irreversível, todos os tecidos de suporte dos dentes inclusive o ligamento periodontal e o osso alveolar (Zhão et al.,

2012; Mohanthy et al., 2011; Amit, 2012; Allaker & Douglas, 2009; Madeiro et al., 2008; Gandhi et al., 2012; Esfahanian et al., 2012).

Segundo alguns estudos, a periodontite é anunciada como a principal causa de perda de peças dentárias em todo o mundo. Este fenómeno ocorre como resultado da perda de inserção do ligamento periodontal, da reabsorção do osso alveolar e consequente aumento da mobilidade dentária (Wade, 2012; Tsubura et al., 2009; Madeiro et al., 2008; Gandhi et al., 2012).

A infecção periodontal é iniciada e sustentada por uma variedade de bactérias, principalmente gram-negativas, sendo que a defesa do organismo tem um papel fundamental na patogénese da patologia (Mohanty et al 2011; Wade, 2011; Manjunath, 2011).

As principais estirpes bacterianas associadas à periodontite são: *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* e *Prevotella intermedia* (Abreu et al., 2010).

Segundo Page et al. (1997a), apesar da presença de bactérias periodontopatogénicas ser fundamental, a sua presença não é, no entanto, suficiente para o estabelecimento e desenvolvimento da doença. Além disso, factores inerentes ao hospedeiro são igualmente importantes para o início, progressão e severidade da periodontite (Page *et al.*, 1997a).

De acordo com Kornman, (2008), a presença de bactérias e/ou dos seus produtos (nomeadamente de lipopolissacarídeos) leva à activação dos mecanismos de defesa do hospedeiro que, com o intuito de sustentar a infecção, estimulam a produção de enzimas, como as citocinas e outros mediadores pró-inflamatórios que, por sua vez, degradam o colagénio e induzem a activação de osteoclastos, levando à perda de inserção e de osso alveolar.

Clinicamente, a periodontite diferencia-se em alguns aspectos da gengivite, em virtude da presença de uma migração apical do epitélio de união a partir da junção amelo-

cementária, levando a um aumento da profundidade da bolsa. Acresce que, o aumento de profundidade das bolsas dificulta a remoção do biofilme, perpetuando a inflamação e a destruição de tecidos (Abreu et al., 2010).

Levando-se em consideração o que foi mencionado, a prevenção e tratamento da doença periodontal baseiam-se fundamentalmente na redução dos agentes patogénicos e fortalecimento da barreira epitelial, permitindo a diminuição da susceptibilidade à infecção (Sohi et al., 2011; Stamatova, 2009; Liu et al., 2010).

1.4 Factores de risco da doença Periodontal

A expressão factor de risco refere-se a qualquer comportamento pessoal ou estilo de vida, um ambiente de exposição ou uma característica inata ou inerente, que, segundo a evidência epidemiológica, incrementa a possibilidade de ocorrência de doença. Para isso tem de satisfazer dois critérios: ser biologicamente plausível como agente causal da doença e ser identificado em estudos longitudinais (Koshi et al., 2013; Carranza, 2007; Alvear et al., 2010; Trentin et al., 2007).

Os factores de risco são biologicamente relacionados com a manifestação de doença, no entanto, não implica necessariamente uma relação causa-efeito, ou seja, só porque um indivíduo possui um determinado factor de risco não significa que vá, necessariamente, desenvolver a doença (Koshi et al., 2013).

Ademais, os factores de risco da periodontite podem ser agrupados em factores de risco não modificáveis (idade, raça/etnia e polimorfismos genéticos) e factores ambientais, adquiridos e comportamentais (tabagismo, diabetes *mellitus*, obesidade, osteoporose, factores psicossociais, microrganismos específicos) (Alvear et al., 2010; Trentin et al., 2007).

1.4.1 Fatores não modificáveis

1.4.1.1 Idade

A associação entre a idade e a periodontite é uma relação bastante complexa (Lindhe et al., 2008).

É consensual que a periodontite apresenta maior prevalência nos indivíduos mais velhos. No entanto, esta prevalência, não resulta de uma deficiência intrínseca do envelhecimento ou de uma anormalidade imunológica que afecta a susceptibilidade à infecção periodontal, mas parece dever-se às destruições tecidulares cumulativas durante a vida (Silva et al., 2008; Peeran et al., 2012).

Em pacientes idosos verifica-se frequentemente uma exponente progressão da inflamação periodontal, e os tecidos demonstram uma diminuição da taxa de cicatrização (Silva et al., 2008; Peeran et al., 2012). Estes fenómenos são potencializados pela susceptibilidade do indivíduo à doença periodontal (Silva et al., 2008).

Peeran et al., em 2012, verificaram que a percentagem de indivíduos com hemorragia à sondagem e cálculo foi maior no grupo de 35-44 anos de idade, enquanto os sinais de destruição periodontal, com presença de bolsas profundas, era superior no grupo entre 45-54 anos de idade (Peeran et al., 2012).

Não devemos esquecer que com o envelhecimento existem determinadas variáveis que têm de ser tidas em conta, como a presença de doenças sistémicas, o consumo de múltiplas medicações e ainda as comorbilidades relacionadas a distúrbios nutricionais, as quais influenciam a saúde do indivíduo e que o podem tornar mais susceptível ao aparecimento de determinadas patologias (Lindhe et al., 2008).

1.4.1.2 Género

Segundo um estudo realizado por Reynolds & Shiau, (2010), os indivíduos do género masculino têm, de facto, uma maior prevalência de doença periodontal comparativamente a indivíduos do género feminino. Tudo leva a querer que o género feminino possui um efeito protector na presença de infecções, dado que este género possui uma resposta imuno-inflamatória mais equilibrada.

De salientar que a resposta imune inata desempenha um considerável papel na patogénese da doença periodontal. A elevada resposta imune no género masculino em comparação com o feminino, bem como a amplificação e inibição da inflamação, proporcionam a base biológica das diferenças sexuais na progressão da doença periodontal (Reynolds & Shiau, 2010).

O carácter do processo comportamental parece estar associado a alguns factores do foro genético. De acordo com o mesmo autor, os indivíduos do sexo masculino revelaram ter uma atitude menos positiva no que respeita à saúde oral, traduzindo-se numa higiene oral mais deficiente. Adianta ainda que os homens consideram existir uma menor necessidade de consultar o médico dentista. Todos estes aspectos podem promover e agravar a presença de doença periodontal (Reynolds & Shiau, 2010).

1.4.2.3 Raça/ Etnia

A Raça/Etnia, num enquadramento social, é considerado um marcador do estado de saúde oral de um indivíduo. Assim, tanto as crenças, como as práticas culturais subjacentes (dieta, comportamentos, remédios caseiros) influenciam não só as estruturas dentárias, como toda a cavidade oral (Butani et al., 2008; Gholami et al., 2012).

Contudo, é importante salientar que todos os grupos étnicos/raciais possuem diferenças substanciais, diferenças essas, frequentemente associadas com características demográficas (Butani et al., 2008; Abreu et al., 2010).

O contraste cultural é referido por Butani et al. (2008), ao considerarem que a medicina tradicional chinesa (MTC) elabora o plano de tratamento geral do paciente mediante a aparência do tecido periodontal do indivíduo. De acordo com a MTC, quando estamos na presença de hemorragia e inflamação gengival, supuração e halitose, esta combinação resulta de problemas de estômago. Por outro lado, se houver mobilidade dentária, presença de diastemas, recessão gengival, sensibilidade dentinária e ligeira inflamação gengival, o diagnóstico passa por uma insuficiência renal (Butani et al., 2008).

É importante salientar, que a situação sócio-económica e a raça/etnia apresentam uma forte co-relação, podendo acarretar possíveis equívocos quanto à sua influência no risco de vir a desenvolver doença periodontal (Grubb et al., 2011).

Tem sido demonstrado que a doença periodontal afecta de forma desproporcional os indivíduos de raça negra, indivíduos com baixas condições económicas e pouca escolaridade. Em certa parte, o aumento do risco pode ser atribuído à situação sócio-económica e aos aspetos comportamentais próprios do *status* social de uma determinada população (Grubb et al., 2011).

Mediante um estudo efectuado por Borrell et al., em 2009, a prevalência da doença periodontal entre os negros não-hispânicos era o dobro relativamente aos brancos não hispânicos. Além disso, o risco de desenvolvimento de periodontite foi duas vezes superior nos indivíduos negros não-hispânicos, com baixas condições económicas e baixa escolaridade (Borrell et al. *cit. in* Grubb et al., 2011).

1.4.1.4 Polimorfismo genético

Nos últimos anos, diversos marcadores genéticos têm sido amplamente estudados em diversas populações, no sentido de determinar a susceptibilidade de um indivíduo para a periodontite (Koshi et al., 2012; Hoçoya et al., 2010).

Sabe-se que, tanto os factores ambientais como os factores microbianos modulam e iniciam a doença periodontal. A resposta a um factor ambiental difere de indivíduo para

indivíduo. Assim, perante um mesmo factor ambiental, diferentes respostas são obtidas em indivíduos diferentes. Esta diversidade é influenciada pelo perfil genético do indivíduo. Logo, há evidências do papel que os factores genéticos desempenham na predisposição e na progressão da doença periodontal (Romero, 2008; Masamatti et al., 2011).

Um polimorfismo genético pode ser definido como uma variação genética na sequência de alelos, na estrutura cromossómica ou na sequência de bases nucleotídeas, que ocorre com uma frequência maior que 1% na população (Hoçoya et al., 2010; Romero, 2008; Masamatti et al., 2011).

O papel das citocinas na patogénese da doença periodontal vem sendo alvo de diversos estudos, visto que as citocinas, tais como IL-1 α , IL-1 β e TNF- α , são mediadores importantes da resposta inflamatória (Romero, 2008).

Em 1996, Offenbacher et al. (*cit in* Romero, 2008) realizaram o primeiro estudo que deduziu a existência de uma relação entre a interleucina 1 (IL-1) e a doença periodontal. Esta citocina pró-inflamatória está envolvida na progressão da destruição do tecido conjuntivo e ósseo, sendo considerada um potente estimulador da reabsorção óssea (Hoçoya et al., 2010).

Contudo, foi Korman, em 1997, que verificou que os pacientes caucasianos, não fumadores, com genótipo positivo da IL-1, são sete vezes mais propensos a ter periodontite severa, do que os pacientes que apresentam genótipo negativo (Romero, 2008; Hoçoya et al., 2010; Koshi et al., 2012).

Vários são os estudos, que utilizaram os polimorfismos de IL-1 como marcadores genéticos específicos associados com a gravidade da doença periodontal, em pacientes adultos não fumadores. Segundo diversas pesquisas, tem sido relatado que o polimorfismo no gene IL-1 ocorre um maior número de vezes no alelo 2 da IL-1 α e IL-1 β , ambos associados com pacientes com periodontite severa (Romero, 2008).

De acordo com Moreira et al. (2005), a relação existente entre o polimorfismo genético e a periodontite apresenta maior evidência quando os indivíduos fumadores são excluídos do estudo (Moreira et al. *cit. in* Hoçoya et al., 2010). Tal facto, também ocorre no estudo efectuado por Kornman (*cit in* Hoçoya et al., 2010), onde refere que o tabagismo pode promover uma ocultação da relação entre o polimorfismo genético e a doença periodontal.

Segundo Romero, (2008), o polimorfismo no gene da IL-1 tanto pode ser evidenciado na periodontite crónica, como na periodontite agressiva.

Em 2012, Karimbux et al. (*cit in* Gandhi et al., 2012) numa meta-análise, confirmaram que as variações genéticas associadas à IL-1 α e IL-1 β parecem ser contribuintes significativos para a periodontite crónica em indivíduos caucasianos.

O polimorfismo genético não deve, no entanto, ser considerado como diagnóstico para a doença periodontal, devendo apenas actuar como um indicador de prognóstico. Em breve, é provável que se determine a importância do polimorfismo genético como um factor de risco que promove um aumento da probabilidade de ocorrência de periodontite, mas não como um factor causal (Romero, 2008; Hoçoya et al., 2010).

O conhecimento crescente dos aspectos funcionais dos polimorfismos proporcionará um melhor entendimento da etiopatogenia e permitirá a criação de novas abordagens terapêuticas para o tratamento da doença periodontal, bem como, para a saúde em geral (Masamatti et al., 2011; Romero, 2008). Para além disso, os testes genéticos podem ser úteis para os pacientes mais propensos a desenvolver a doença periodontal, que sofrem de doença recorrente ou que já experimentaram a perda de dentes como resultado de periodontite (Gandhi et al., 2012).

Contudo, parece haver diferenças raciais com relação à ocorrência de polimorfismos. Armitage et al. (2000) demonstraram inclusivamente não existir relação entre o genótipo composto da IL-1 e a severidade da doença periodontal numa população de origem chinesa.

Também num estudo efectuado por Walker *et al.* (2000), numa população afro-americana e portadora de periodontite agressiva (antigamente designada por periodontite juvenil), verificou-se a presença de um alelo com alta prevalência, diferente daquele que foi relacionado à periodontite em indivíduos caucasianos.

1.4.2 Fatores modificáveis, ambientais, adquiridos e comportamentais

1.4.2.1 Tabaco

O fumo do tabaco é considerado como um importante factor de risco para diversas patologias que acometem o ser humano, inclusive para a periodontite. Sabe-se que o consumo de tabaco e os seus metabolitos influenciam desfavoravelmente a saúde do periodonto, provocando alterações nos tecidos, decorrentes de interferências tanto locais, quanto sistémicas (Madeiro *et al.*, 2008; Neto *et al.*, 2012; Koushyar *et al.*, 2010).

O hábito de fumar é, aliás, considerado o factor de risco modificável mais significativo na incidência das doenças periodontais, aumentando a sua severidade, incidência e dificultando o seu tratamento (Alvear *et al.*, 2010; Salum *et al.*, 2007; Koushyar *et al.*, 2010). O tabaco é então considerado um factor de risco independente para o início, extensão e gravidade da doença (Underner *et al.*, 2009; Hayman *et al.*, 2011; Matos *et al.*, 2011).

Além do mais, há evidências científicas que a progressão e a gravidade da periodontite são dependentes da dose de tabaco consumida (Alvear *et al.*, 2010; Koshi *et al.*, 2011; Trentini *et al.*, 2007; Koushyar *et al.*, 2010).

A predisposição à periodontite é duas a seis vezes superior em fumadores comparativamente a indivíduos não fumadores (Johnson *et al.*, 2007; Matos *et al.*, 2011).

Diversas evidências científicas revelam que os indivíduos fumadores apresentam maior recessão gengival, maior perda de inserção clínica, maior profundidade de sondagem,

maior número de lesões de furca e maior perda dentária quando comparados com não fumadores (Trentini et al., 2007; Chambrone et al., 2009; Matos et al., 2011; Neto et al., 2012).

Saliente-se ainda, que o tabaco pode ser considerado um factor etiológico directo na transição de uma lesão estável de gengivite, para uma forma mais destrutiva de periodontite, em indivíduos susceptíveis (Alvear et al., 2010).

Alguns estudos microbiológicos evidenciaram que os indivíduos fumadores apresentavam maior prevalência de estirpes bacterianas associadas a localizações infectadas com periodontite (*Porphyromonas gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum*), em comparação com os indivíduos não fumadores (Neto et al., 2012).

Assim sendo, os fumadores apresentam um maior índice de bactérias patogénicas comparativamente com os não fumadores, sugerindo que as substâncias contidas no tabaco modulam directamente a microflora subgengival, favorecendo uma colonização por patógenos periodontais (Matos et al., 2011).

Por outro lado, os efeitos do tabaco no periodonto exercem-se a nível da hemodinâmica, por vasoconstrição periférica, com diminuição do edema tecidual, do fluxo do fluido crevicular gengival (FCG) e do aporte de oxigénio, dos mecanismos de defesa e da remoção dos produtos de degradação celular (Madeiro et al., 2008; Matos et al., 2011; Underner et al., 2009).

Quanto às defesas do hospedeiro, o tabaco é responsável pela diminuição da resposta celular e humoral. A diminuição da capacidade reparadora e regenerativa dos tecidos lesados é resultado da diminuição da proliferação, adesão e quimiotaxia dos fibroblastos, da diminuição da produção de colagénio e do aumento da sua degradação e ainda do aumento da produção de algumas citocinas pró-inflamatórias e imunorreguladoras (Koshi et al., 2013; Matos et al., 2011; Underner et al., 2009; Koushyar et al., 2010).

Para além de tudo o que já foi referido, verificou-se ainda que após a cessação tabágica, é possível deter a progressão da periodontite, promovendo uma melhor eficácia no tratamento e melhorando o prognóstico da doença (Alvear et al., 2010; Koushyar et al., 2010).

1.4.2.2 Obesidade

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a obesidade designa-se como uma doença multifactorial crónica, de carácter complexo. Cada vez mais, se torna evidente que a obesidade é um problema global, não só um problema de natureza individual e localizada (Ramos et al., 2013; Bertolini et al., 2010; Fadel et al., 2012).

Segundo Bertolini et al., (2010) os pacientes obesos apresentam um risco 3 vezes maior de desenvolver periodontite.

Vários são os estudos que relatam a existência de uma relação entre obesidade e a doença periodontal, independentemente do grupo etário (Ramos et al., 2013; Dahiya et al., 2012; Fadel et al., 2012).

Dahiya et al. (2012), verificaram que a prevalência da doença periodontal é 76% maior entre os indivíduos jovens obesos com idades entre 18-34 anos, do que em indivíduos com peso normal. Da mesma forma, o excesso de peso parece estar associado a um aumento do risco de periodontite em indivíduos com idades entre os 17-21 anos.

Saito et al. (*cit. in* Bertolini et al., 2010) verificaram uma alta correlação entre a obesidade abdominal, a alta taxa de gordura corporal e a presença de doença periodontal, quando comparados com pacientes com peso normal.

Em 2009, Haffajee e Socransky, determinaram que pacientes com excesso de peso ou obesos apresentavam um elevado risco de desenvolver perda de inserção conjuntiva e, para além disso, continham uma microflora oral peculiar, com níveis aumentados de algumas espécies anaeróbias, como é o caso da *T. forsythia* (Haffajee & Socransky *cit. in* Ramos et al., 2013).

Ainda não estão totalmente definidos os mecanismos subjacentes a esta fisiopatogenia entre obesidade e doença periodontal (Ramos et al., 2013; Dahiya et al., 2012; Fadel et al., 2012; Bertolini et al., 2010; Haffajee et al., 2009). Contudo, esta inter-relação vem sendo baseada na libertação de citocinas pelo tecido adiposo (Bertolini et al., 2010)

O efeito adverso da obesidade no periodonto pode ser mediado através de citocinas pró-inflamatórias (Leptina, IL-6, TNF- α e interferon) e anti-inflamatórias (adiponectina, TGF- β , IL-4 e PAI-1), actuando assim na regulação do sistema imunológico, indução de células neoplásicas e reacções alérgicas (Bertolini et al., 2010; Ramos et al., 2013; Dahiya et al., 2012; Haffajee et al., 2009).

Na presença de periodontite, a gordura corporal aumentada pode estimular a ocorrência de uma hiper-resposta inflamatória nos tecidos periodontais, mediada por uma quantidade aumentada de citocinas libertadas, contribuindo assim, para a exacerbação da doença (Bertoli et al., 2010; Dahiya et al., 2012).

Contudo, mais estudos são necessários para abordar a questão da causalidade e para determinar se a obesidade é um verdadeiro factor de risco para a doença periodontal, especialmente entre a população mais jovem (Dahiya et al., 2012).

1.4.2.3 Diabetes *mellitus*

As doenças periodontais estão bem estabelecidas como sendo uma repercussão da diabetes *mellitus* (tipo 1 e 2), o que sugere que os pacientes diabéticos são mais propensos a desenvolver estas doenças (Abreu et al., 2010; Ramos et al., 2013; Koshi et al., 2011; Madeiro et al., 2008; Alvear et al., 2010).

É consensual que os pacientes diabéticos são mais susceptíveis a infecções, devido às alterações vasculares no periodonto, podendo ser um problema de particular relevância em pacientes com a doença não controlada (Madeiro et al., 2008; Koshi et al., 2013; Ramos et al., 2013). Dessa forma, a baixa resistência aos processos infecciosos faz com que a destruição dos tecidos periodontais seja mais rápida (Madeiro et al., 2008; Alvear et al., 2010).

Uma modificação frequente no paciente diabético é o espessamento dos vasos do periodonto que, por sua vez, dificulta o transporte de elementos nutritivos à intimidade dos tecidos, a difusão do oxigénio, a eliminação de metabolitos, além de interferir na quimiotaxia leucocitária, especialmente de neutrófilos (Madeiro et al., 2008; Alvear et al., 2010).

Assim, estes factores tornam os pacientes diabéticos mais vulneráveis aos produtos de agressão microbiana e mais susceptíveis a periodontite severa (Madeiro et al., 2008; Soshi et al., 2011).

Não só as modificações na composição microbiana subgengival, mas também, as alterações no metabolismo do colagénio e o prejuízo funcional dos neutrófilos, estão incluídos nos factores associados à diabetes que aumentam a severidade da periodontite (Madeiro et al., 2008).

Por outro lado, de acordo com alguns estudos científicos, o controlo da doença periodontal pode ser uma variável importante no controlo glicémico dos diabéticos (Grossi et al., 1997; Kiran et al., 2005; Stewart et al., 2001). Esta relação estabelecida pode ser justificada pelo facto de, perante a existência de uma infecção bacteriana, se verificar um aumento da resistência à insulina. Tal facto deve-se a uma alta vascularização e ao estímulo da produção de mediadores inflamatórios como o TNF α , IL-1 e IL-6. Assim, o TNF- α vai interferir no metabolismo lipídico, enquanto a IL-1 e a IL-6 antagonizam indirectamente a ação da insulina (Soskolne & Klinger, 2001).

Em suma, tudo indica que existe uma forte relação bidirecional entre a doença periodontal e a diabetes.

1.4.2.4 Osteoporose

Embora a etiologia da osteoporose e da doença periodontal sejam diferentes, ambas são doenças de destruição óssea, que partilham várias características. Assim, tem-se colocado a hipótese que a osteoporose possa ser considerada um factor de risco para a

progressão da doença periodontal (Esfahanian et al., 2012; Lopes et al., 2008; Guiglia et al., 2012).

Se em alguns estudos clínicos não se verificou qualquer correlação entre a densidade mineral óssea (DMO) e a doença periodontal, em contrapartida, outros estudos revelaram uma significativa correlação ou correlação leve (Guiglia et al., 2012 Lopes et al., 2008).

Embora a periodontite seja localizada e a osteoporose uma condição sistémica, ambas apresentam uma característica em comum - a perda óssea. Contudo, há ainda necessidade de esclarecer a verdadeira influência da osteoporose/osteopenia sobre a perda óssea periodontal, pois muitos são os factores que podem contribuir para o desenvolvimento destas doenças, sendo difícil estabelecer uma correlação directa entre elas (Lopes et al., 2008; Guiglia et al., 2012).

Uma possível explicação apontada pelos estudos que encontraram uma correlação positiva ou leve entre osteoporose e perda óssea periodontal prende-se com a hipótese de que a deficiência de estrogénio influencia a remodelação óssea em locais com processos inflamatórios, como os observados na periodontite (Lopes et al., 2008).

Com efeito, a osteoporose não pode ser considerada como um factor exclusivo da doença periodontal. O aparecimento desta patologia não está dependente da osteoporose, mas após o seu aparecimento esta pode intervir como factor de predisposição na exacerbação e persistência da doença (Esfahanian et al., 2012).

Não obstante, por ser um assunto ainda bastante controverso mais estudos são necessários a fim de estabelecer conclusões categóricas sobre a possibilidade da osteoporose ser um factor importante no desenvolvimento da periodontite (Lopes et al., 2008; Passos et al., 2010; Guiglia et al., 2012).

1.4.2.5 Stress

Diversos estudos têm demonstrado a existência de uma relação entre o stress e a doença periodontal (Ayub et al., 2010; Koshi et al., 2011; Bindushree et al., 2013).

Segundo Hildebrand et al. (2000), indivíduos que apresentam stress físico ou psicológico são mais propensos a conter elevados níveis de placa bacteriana e gengivite (Hildebrand et al. *cit. in* Koshi et al., 2011). Além disso, o stress pode aumentar a vulnerabilidade às doenças infecciosas, devido a uma alteração do sistema imune do hospedeiro (Madeiro et al., 2008).

Também de acordo com Johannsen et al. (2010), o stress académico parece afectar a saúde periodontal dos indivíduos, provocando uma maior acumulação de placa bacteriana e inflamação gengival (Johannsen et al., 2010). Além disso, como resposta ao stress psicológico verifica-se um aumento da produção de IL-6 (Goyal et al., 2011; Akacli et al., 2013).

Como sabemos, os aspectos psicológicos são factores que podem afectar o estilo de vida de um indivíduo, o que se traduz muitas vezes numa higiene oral precária, em dietas ricas em gorduras e/ou no aumento do hábito tabágico em indivíduos fumadores (Offenbacher et al., 2008; Akacli et al., 2013).

No entanto, apesar de inúmeros estudos clínicos e epidemiológicos confirmarem a existência de uma associação entre stress e doença periodontal, os mecanismos biológicos envolvidos ainda não estão completamente compreendidos (Koshi et al., 2011; Goyal et al., 2011; Akacli et al., 2013).

Apesar disso, não devemos esquecer que o sistema nervoso simpático, bem como o eixo hipotálamo-hipófise-suprarrenal podem desempenhar um papel importante nos caminhos regulatórios entre cérebro-sistema imunológico, tornando esta relação biologicamente possível (Lindhe, 2010; Bindushree et al., 2013).

Nesse sentido, não é fácil trabalhar com variáveis psicológicas, visto não existirem variáveis biológicas quantitativas para as medir, tornando a sua avaliação menos rigorosa e mais difícil (Lindhe, 2010).

1.4.2.6 Microrganismos específicos

A cavidade oral é um *habitat* bastante complexo, que proporciona o estabelecimento de uma grande diversidade de espécies microbianas, podendo em determinado momento, induzir infecções polimicrobianas (Amel et al., 2010; Kuramitsu et al., 2007; Stamatova, 2009).

Visto que a cavidade oral é formada por uma flora comensal própria, torna-se uma constante a formação de um biofilme sobre os tecidos dentários. Estes biofilmes, em condições clínicas compatíveis com saúde, são compostos predominantemente por *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus anginosus*, *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus salivarius* e *Streptococcus sanguis*, *Lactobacillus spp.* e muitas outras espécies de bactérias, em torno do tecido dentário (Stamatova et al., 2009; Berezow & Darveau, 2011).

Em ambientes naturais, os biofilmes, por norma, adoptam a forma de comunidades polimicrobianas, ligados a superfícies bióticas e abióticas. Assim que uma determinada superfície é colonizada por células individuais, as bactérias que originam micro-colónias, secretam uma substância extracelular polimérica pegajosa (Berezow & Darveau, 2011).

A substância polimérica extracelular (EPS) (composta por polissacarídeos, proteínas, lípidos, ácidos nucleicos e outros polímeros) possui um efeito protector geral sobre os microrganismos do biofilme contra condições adversas (como exemplo, tem sido frequentemente observado que as células do biofilme podem tolerar altas concentrações de biocidas). Após a secreção extracelular da substância polimérica, o biofilme amadurece, tornando-se desta forma maior e assumindo uma arquitectura distinta (Berezow & Darveau, 2011; Simões et al., 2010).

Geralmente, esta estrutura envolve regiões separadas de células de crescimento rápido e canais de água onde circulam os metabolitos, permitindo o estabelecimento de gradientes de nutrientes. Assim sendo, o biofilme, mediante a sua complexa organização estrutural, permite exibir uma heterogeneidade estrutural (Berezow & Darveau, 2011).

Esta heterogeneidade estrutural e funcional permite que os biofilmes demonstrem uma grande flexibilidade metabólica e fenotípica, o que, naturalmente, lhes confere uma série de vantagens (Berezow & Darveau, 2011).

Esta estrutura elaborada atrasa ou impede que os agentes antimicrobianos penetrem no biofilme e consigam chegar a microrganismos alvo por limitação da difusão e/ou interacção química com as proteínas extracelulares e polissacarídeos (Nunes et al., 2007; Simões et al., 2010). Além disso, o biofilme proporciona uma grande vantagem às espécies colonizadoras, favorecendo uma protecção contra microrganismos competidores e factores do meio, como mecanismos de defesa do hospedeiro e substâncias potencialmente tóxicas (agentes químicos e antibióticos). Por outro lado, os biofilmes permitem que o processo de aproveitamento de nutrientes seja facilitado, que ocorra uma alimentação cruzada (uma célula fornece suprimento a outra), que metabolitos potencialmente prejudiciais sejam removidos (geralmente através da utilização por outra bactéria), que ocorra um desenvolvimento de um meio físico-químico apropriado, com um potencial de oxidação-redução negativo (Nunes et al., 2007).

Existe um consenso na literatura de que a presença de biofilme dentário é um pré-requisito para o início e progressão da periodontite, em indivíduos susceptíveis (Carvalho et al., 2007; Alvear et al., 2010). Este paradigma deve-se ao facto de que à medida que ocorre o desenvolvimento da periodontite, a microflora oral alterna de uma microflora maioritariamente composta por bactérias aeróbias gram-positivas para uma microflora com predominância de bactérias anaeróbias gram-negativas (Carvalho et al., 2007; Alvear et al., 2010), das quais se destacam *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Treponema denticola* e *Prevotella intermedia*, fortemente associadas à etiologia e patogenicidade da periodontite (*Consensus report*, 1996; Alvear et al., 2010; Abreu et al., 2010; Wade, 2012; Gupta,

2011; Mohanty et al., 2011; Bonifait et al., 2009; Lawande, 2012; Chatterjee et al., 2011; Bosch et al., 2012; Kuramitsu et al., 2007).

Deste modo, o complexo microbiano vai colonizar as regiões sulculares entre a superfície do dente e a margem gengival, mediante interações específicas de adesão e de acumulação, desencadeando alterações no sulco gengival, com perda de inserção e formação de uma bolsa periodontal (Carvalho et al., 2007; Alvear et al., 2010).

2. PROBIÓTICOS

2.1 Definição de Probióticos

O termo Probiótico, antónimo de “antibiótico”, deriva do grego e significa “*pró vida*” ou para a vida, tendo sido proposto, em 1965, por Lilly e Stillwell (Narang et al., 2011; Lawande, 2012; Pradeep et al., 2012; Bhuvaneshwarri et al., 2012; Gupta, 2011; Munoz et al., 2010; Bhushan et al., 2010; Agarwal et al., 2011; Reddy et al., 2011).

Segundo os investigadores, a designação de probiótico diz respeito a qualquer organismo, ou substância produzida por um microrganismo, que promove positivamente o crescimento de outros microrganismos (Narang et al., 2011; Lawande, 2012; Pradeep et al., 2012; Bhuvaneshwarri et al., 2012; Gupta, 2011; Munoz et al., 2010; Bhushan et al., 2010; Agarwal et al., 2011; Reddy et al., 2011).

A importância das células vivas em probióticos foi salientada no final da década de 80 por Roy Fuller, definindo probiótico como um suplemento alimentar, à base de microrganismos vivos, com efeitos benéficos no equilíbrio intestinal (Koduganti et al., 2012; Reddy et al., 2012; Bhuvaneshwarri et al., 2012).

Actualmente, a definição universalmente aceite pela Organização das Nações Unidas da Alimentação e Agricultura (FAO) e pela Organização Mundial de Saúde (OMS), considera como probióticos todos os microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios ao seu hospedeiro (Gupta, 2011; Narang et al., 2011; Mohanty et al., 2011; Singh, 2011; Fernández et al., 2010; Reddy et al., 2011; Stamatova, 2009; Lawande et al., 2012; Bonifait et al., 2009; Munoz et al., 2010; Slawik et al., 2011).

2.2 Perspectiva histórica

Os benefícios do uso de microrganismos na saúde remontam aos Romanos, onde os alimentos fermentados contendo microrganismos eram usados como agentes terapêuticos (Reddy et al., 2011; Bhuvaneshwarri et al., 2012).

As primeiras espécies probióticas a serem introduzidas nas investigações de interesse científico foram *Lactobacillus acidophilus*, por Hull et al., em 1984 e, posteriormente, *Bifidobacterium bifidum* proposta por Holcomb et al., em 1991 (Fernández et al., 2010; Mohanty et al., 2011; Lawande, 2012; Gupta, 2011; Munoz et al., 2010).

Ainda hoje, as estirpes probióticas que são frequentemente alvo de estudos são *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (Reddy et al., 2011; Munoz et al., 2010).

Na primeira década de 1900, Elie Metchnikoff recebeu o Prémio Nobel pela relação que estabeleceu entre o iogurte rico em *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococos* do grupo *termophilus* com a longevidade dos grupos étnicos da Europa Oriental (Narang et al., 2011; Agarwal et al., 2011; Stamatova et al., 2009). Segundo Metchnikoff, a estirpe bacteriana *Lactobacillus bulgaricus* pode neutralizar os efeitos nocivos dos patógenos intestinais (Reddy et al., 2011; Stamatova et al., 2009; Pradeep et al., 2012).

Ao longo dos anos, o interesse científico em estudar, avaliar e analisar o papel benéfico das espécies com propriedades probióticas abriu caminho para um novo conceito na Medicina que, mais recentemente, começa também a ganhar destaque na Medicina Dentária (Gupta, 2011; Stamatova, 2009).

Foi em 2002 que Grudianov et al. realizaram um dos primeiros estudos com probióticos na Medicina Dentária. Este estudo consistia na avaliação do efeito do uso de comprimidos probióticos contendo *Bifidobacterium spp.* no tratamento de indivíduos com gengivite e diferentes graus de periodontite. O tratamento dos pacientes no grupo de controlo consistia no uso de “Tantum verde”. Foi demonstrado que o uso de probióticos promoveu uma normalização da microflora oral eficaz em pacientes com gengivite e periodontite, quando comparado com o grupo que recebeu Tantum verde.

Mais tarde, Krasse et al. (2006), verificaram que a administração de *L. reuteri* provocava uma diminuição da hemorragia gengival e do índice de placa. Estes resultados abriram caminho para outros estudos mais recentes e com maior rigor científico (Bhuvaneshwarri et al., 2012; Iwamoto et al., 2010; Lawande, 2012; Chatterjee et al., 2012).

2.3 Requisitos ideais dos probióticos

As estirpes probióticas possuem características específicas que devem ser tidas em conta, pois só assim é possível dar ao consumidor os efeitos benéficos decorrentes da sua administração (Stamatova 2009).

Um microrganismo para ser considerado como sendo um probiótico, necessita de passar por um processo de caracterização rigorosa e de ser microbiologicamente submetido a diversos ensaios clínicos randomizados (Pradeep et al., 2012; Singh et al., 2011). Assim sendo, para os probióticos serem bem sucedidos nas suas funções, devem possuir determinadas características que resultem em efeitos benéficos mensuráveis na saúde do hospedeiro (Stamatova, 2009; Lawande, 2012).

Para que uma estirpe probiótica possa ser considerada ideal tem necessariamente que ser segura quando usada em humanos e ainda apresentar efeitos fisiológicos benéficos e cientificamente comprovados (Pradeep et al., 2012; Stamatova, 2009; Iwamoto et al., 2010; Shimauchi et al., 2008).

A capacidade de interagir ou enviar sinais para as células imunitárias e dessa forma aumentar a capacidade de despoletar uma resposta imune específica e não específica pelo hospedeiro, é outra vertente fundamental de um microrganismo probiótico (Stamatova, 2009; Lawande, 2012; Chatterjee et al., 2011).

Outro dos pré-requisitos é a sua fonte ser de origem humana, visto que as estirpes de maior sucesso são isoladas a partir de seres humanos (Bosch et al., 2012; Pradeep et al., 2012; Narang et al., 2011; Lawande, 2012; Iwamoto et al., 2010; Chatterjee et al., 2011; Shimauchi et al., 2008).

Por outro lado, é expectável que uma estirpe probiótica alcance um funcionamento mais eficaz num ambiente semelhante àquele do qual foi originalmente isolada. Tendo isto em conta, estirpes isoladas da cavidade oral de indivíduos saudáveis são preferíveis, uma vez que poderão ser usados na coexistência de patógenos orais e podem, além do mais, ter capacidade suficiente para aderir à cavidade oral (Bosch et al., 2012).

De entre as diversas características tidas em consideração no processo de selecção de uma ou outra estirpe probiótica, a capacidade de adesão é considerada como sendo a que mais favorece a expressão da actividade probiótica (Agarwal et al., 2011; Lawande, 2012; Mohanty et al., 2011; Reddy et al., 2011; Pradeep et al., 2012; Narang et al., 2011; Bonifait et al., 2009; Bosch et al., 2012).

A capacidade dos probióticos aderirem às superfícies da cavidade oral pode evitar, ou pelo menos reduzir, a sua rápida exclusão do meio oral (Stamatova, 2009). Além disso, confere-lhes a capacidade de se organizarem na forma de biofilme oral com outras bactérias não nocivas, o que lhes garante, conseqüentemente, uma elevada capacidade de sobrevivência no meio oral (Bosch et al., 2012; Schimauchi et al., 2008).

O mecanismo de adesão é, então, uma questão de ampla relevância no possível efeito a longo prazo dos microrganismos probióticos (Agarwal., 2011; Bosch et al., 2012).

Um outro requisito favorável para estes microrganismos é a sua capacidade de sobrevivência a mecanismos de defesa humanos durante o trânsito oro-gastro-intestinal, resistindo ao pH ácido e à acção biliar do organismo (Narang et al., 2011; Singh, 2011; Chatterjee et al., 2011; Lawande, 2012; Stamatova, 2009; Shimauchi et al., 2008; Pradeep et al., 2012).

Cada estirpe probiótica deve ser capaz de produzir substâncias antimicrobianas, com capacidade de competir contra agentes patogénicos (Reddy et., 2011; Stamatova, 2009). Além do mais, é necessário, que as suas propriedades se mantenham ao longo do tempo, sem perda de viabilidade e funcionalidade (Narang et al., 2011; Singh, 2011; Lawande, 2012).

Um dos requisitos preferenciais centra-se na necessidade da estirpe bacteriana exercer um efeito benéfico sobre o hospedeiro, permitindo promover a supressão de determinadas doenças (Narang et al., 2011; Singh, 2011).

A viabilidade de um probiótico está subordinada à necessidade dos microrganismos vivos manifestarem determinadas características, como a sua actividade antagónica

contra patógenos nocivos e a sua substituição por bactérias não nocivas, além disso, não devem ostentar história prévia de patogenicidade e/ou de toxicidade (Narang et al., 2011; Singh, 2011; Chatterjee et al., 2011; Lawande, 2012; Bosch et al., 2012). Por outro lado, o probiótico deve primar pela ausência de genes determinantes na resistência aos antibióticos (Bosch et al., 2012; Reddy et al., 2011). Do mesmo modo, é relevante descartar todas as bactérias que produzam mau odor, uma vez que estas estirpes bacterianas vão colonizar a cavidade oral (Bosch et al., 2012).

Actualmente e pelos motivos supracitados, as estirpes de probióticos mais frequentemente utilizadas são as bactérias lactoacidófilas do género *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (Pradeep et al., 2012; Lawande, 2012; Singh, 2011; Gupta, 2011; Haukioja, 2010; Mohanty et al., 2011; Munoz et al., 2010; Stamatova, 2009; Agarwal et al., 2011; Reddy et al., 2011; Bhardwaj, 2012; Singh, 2011).

Regra geral, as bactérias do género *Bifidobacterium* são denominadas como sendo microrganismos gram-positivos, desprovidos de flagelos, sem capacidade de formação de esporos, catálase negativos e anaeróbios. Relativamente à sua morfologia, podem apresentar diferenciadas formas desde bacilos curtos e curvados, a bacilos com forma de cacete e ainda bacilos bifurcados (Crociani et al., 1994).

Sabemos hoje em dia, que o género *Bifidobacterium* conta já com 30 espécies, 10 das quais são de origem humana (cáries dentárias, fezes e vagina), 17 de origem animal, 2 de águas residuais e 1 de leite fermentado (Crociani et al., 1994).

Por seu lado, as bactérias do género *Lactobacillus* são normalmente caracterizadas como gram-positivas, incapazes de formar esporos, desprovidas de flagelos, podendo apresentar forma bacilar ou cocobacilar e aerotolerantes ou anaeróbias. Actualmente, este género compreende 56 espécies oficialmente reconhecidas, sendo a *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* e *L. casei* as mais utilizadas para fins dietéticos (Crociani et al., 1994).

2.4 Mecanismo de acção dos probióticos

Os mecanismos de acção dos probióticos variam de acordo com a escolha da estirpe específica ou da combinação de estirpes a ser utilizada, bem como a fase do processo da doença em que o probiótico é administrado (Gupta, 2011; Devine et al., 2011).

Por norma, existe uma variedade de mecanismos de acção, o que explica a diversidade de efeito dos probióticos na cavidade oral (Pradeep et al., 2012; Bonfait et al., 2009; Devine et al., 2009; Lawande, 2012).

De um modo geral, os mecanismos de acção dos probióticos podem ser divididos em três categorias distintas: (1) normalização da microflora, (2) modulação da resposta imunitária e (3) efeitos metabólicos.

Os mecanismos de acção dos probióticos na cavidade oral parecem ser análogos aos descritos para a flora intestinal (Puri et al., 2011; Haukioja, 2010; Sohi et al., 2011), que dizem respeito, designadamente, à produção de substâncias bacteriostáticas (bacteriocinas, ácido e peróxido de hidrogénio), bem como, à inibição competitiva da adesão epitelial. Além disso, em alguns casos, os probióticos têm a capacidade de desalojar bactérias patogénicas e suas toxinas, previamente aderidas ao epitélio (Candela et al., 2005).

É importante salientar que os probióticos podem contribuir para a prevenção e tratamento de determinada patologia, através de numerosos mecanismos, que incluem a interacção directa, a exclusão competitiva e a modulação do sistema imune do hospedeiro (Lawande, 2012; Manjunath, 2011).

No que diz respeito às doenças periodontais, as estratégias de tratamento conferidas pelos probióticos baseiam-se fundamentalmente em dois aspectos: na inibição de agentes patogénicos específicos ou através da alteração da resposta do sistema imune do hospedeiro (Bhuvaneshwarri et al., 2012; Lawande, 2012).

Relativamente à inibição de microrganismos específicos, esta passa por uma interação de diversos mecanismos, sendo eles:

- Inibição da adesão do agente patogénico, colonização e formação de biofilme (Gupta, 2011; Lawande, 2012; Bhuvanesarri et al., 2012; Devine et al., 2011; Koduganti et al., 2012; Stamatova, 2009).
- Inibição do crescimento do patógeno por diversas substâncias, tais como, ácidos orgânicos, peróxido de hidrogénio e bacteriocinas contra patógenos orais (Bhuvanesarri et al., 2012; Bonifait et al., 2009; Devine et al., 2011; Gupta, 2011; Koduganti et al., 2012; Lawande, 2012; Stamatova, 2009).

No que diz respeito às alterações da resposta do sistema imune do hospedeiro, os mecanismos de acção são:

- Indução da expressão de proteínas citoprotectoras na superfície das células hospedeiras (Gupta, 2011; Lawande, 2012).
- Inibição das colagenases e redução da inflamação associada a moléculas (Gupta, 2011; Lawande, 2012; Stamatova, 2009).
- Estimulação e modulação do sistema imune das mucosas, por exemplo, reduzindo a produção de citocinas pró-inflamatórias através de acções sobre as vias NFkB, aumentando a produção de citocinas anti-inflamatórias, tais como a IL-10 e os péptidos de defesa do hospedeiro, reforçar as defesas de IgA e influenciar a maturação de células dendríticas (Koduganti et al., 2012; Lawande, 2012; Devine et al., 2011; Gupta, 2011).
- Modulação da proliferação celular e da apoptose, induzidas por respostas celulares (Lawande, 2012; Devine et al., 2011; Gupta, 2011).
- Modificação do ambiente envolvente, através da modulação do pH e/ou do potencial de oxidação-redução, que pode comprometer a capacidade dos agentes

patogénicos de se estabelecerem (Bonifait et al., 2009; Bhushan et al., 2010; Gupta, 2011).

2.5 Potenciais riscos dos probióticos

Nos últimos anos, a crescente diversidade de produtos alimentares contendo probióticos tem aumentado as preocupações no que concerne à segurança do seu uso (Lawande, 2012; Narang et al., 2012; Reddy et al., 2011; Agarwal et al., 2011).

Além do mais, os probióticos são frequentemente regulamentados como suplementos dietéticos e não como produtos farmacêuticos ou biológicos (Narang et al., 2011).

Sendo os probióticos microrganismos vivos, o seu uso deve obedecer a determinados princípios com a finalidade de prevenir o risco de potenciais infecções no hospedeiro (Puri et al., 2011; Koduganti et al., 2012).

Cada espécie de probióticos possui propriedades específicas, devendo estas ser devidamente consideradas antes da sua utilização em pacientes (Lawande, 2012).

A base de selecção de probióticos deve ser rigorosa, dado que, nem todas as estirpes possuem as características necessárias para o seu consumo (Gupta, 2011; Devine et al., 2009; Puri et al., 2011; Koduganti et al., 2012). Contudo, existe uma vasta gama de probióticos que tem vindo a ser utilizada nos últimos anos com excelentes resultados (Gupta, 2011; Devine et al., 2009; Koduganti et al., 2012).

Aliado a isso, a escolha da estirpe probiótica a ser administrada numa doença em particular deve ter em conta o modo e o tempo de administração, bem como a idade e a saúde do indivíduo (Gupta, 2011; Deidre et al., 2009; Koduganti et al., 2012).

Os microrganismos vivos são geralmente seguros e bem tolerados, quando ingeridos por via oral, apresentando um baixo risco de causar infecções e de propiciar a geração de

patógenos mais agressivos e resistentes, podendo por outro lado, interagir com a saúde sistêmica do indivíduo (Lawande, 2012; Teughes et al., 2011).

Do ponto de vista da segurança, é fundamental que os microrganismos probióticos não apresentem patogenicidade, não possuam efeitos estimulantes do crescimento de bactérias que causem transtornos como por exemplo a diarreia, e que não tenham a capacidade de transferência de genes de resistência antibiótica. Por outro lado, é necessário que consigam manter a integridade genética na microflora oral (Agarwall et al., 2011; Pradeep et al., 2012; Narang et al., 2011; Reddy et al., 2011).

De acordo com alguns autores, a maioria das bactérias probióticas têm baixa função proteolítica, como por exemplo, *Lactobacillus bulgaricus* que mostrou ser incapaz de degradar alguns componentes do tecido hospedeiro (Gupta, 2009; Koduganti et al., 2012).

Os efeitos adversos mais frequentemente associados ao consumo de probióticos são a distensão abdominal e a flatulência (Lawande, 2012; Teughes et al., 2011).

Compreender os mecanismos que estão na origem destes efeitos adversos permitirá um uso mais adequado destes agentes. Assim, é necessário considerar uma monitorização mais cuidadosa no futuro (Agarwal et al., 2011; Pradeep et al., 2012; Narang et al., 2011).

Uma preocupação teórica associada ao uso de probióticos inclui a potencialidade destes microrganismos alcançarem a corrente sanguínea e, conseqüentemente, poderem provocar infecções sistêmicas (Teughels et al., 2011). De facto, infecções sistêmicas incluindo sepsis, abscessos hepáticos por *Lactobacillus*, endocardite por *Lactobacillus spp*, foram já descritas e directamente relacionadas com o uso destes probióticos (Teughels et al., 2011; Chatterjee et al., 2011).

De acordo com Puri et al. (2011), há relatos de casos de sepsis secundária por *Lactobacillus rhamnosus* ou *Lactobacillus casei* (Puri et al., 2011). Um desses casos refere-se a um indivíduo que se encontrava a tomar uma preparação de probióticos

contendo *L.rhamnosus* e que, após tratamento dentário, desenvolveu endocardite por *Lactobacillus* (Gupta, 2011; Devine et al., 2009; Chatterjee et al., 2011; Koduganti et al., 2012).

Estima-se que o risco de desenvolver bacteriemia provocada por *Lactobacillus spp.* é inferior a 1/1000000 (Teughels et al., 2011). Nos últimos 30 anos, cerca de 180 casos foram notificados (Teughels et al., 2011; Pradeep et al., 2012; Agarwal et al., 2011; Narang et al., 2011; Reddy et al., 2011).

Clinicamente, as características de bacteriemia por *Lactobacillus* são altamente variáveis, desde formas assintomáticas até sintomas semelhantes ao choque séptico (Teughels et al., 2011; Pradeep et al., 2012; Agarwal et al., 2011; Narang et al., 2011; Reddy et al., 2011).

De acordo com a literatura consultada, os casos que merecem especial atenção, no que respeita a um aumento da predisposição para bacteriemia, referem-se a pacientes imunocomprometidos, a casos de pré-hospitalização, determinadas co-morbilidades a intervenções cirúrgicas anteriormente realizadas, e ainda a casos em que foi realizada pré-antibioterapia (Teughes et al., 2011; Pradeep et al., 2012).

No que diz respeito aos doentes a fazer tratamento com imunossuppressores, nomeadamente com ciclosporina A, com tacrolimus, com azatioprina e ainda com agentes quimioterapêuticos, os estudos clínicos controlados revelam que o uso de probióticos neste tipo de pacientes deve ser feito com precaução, tendo em conta o risco aumentado de infecções ou de colonização patogénica (Gupta, 2011; Chatterjee et al., 2011; Narang et al., 2011; Teughels et al., 2011).

Actualmente, estão também descritos casos de bacteriemias associados a estirpes de probióticos *Lactobacillus* em pacientes com síndrome de intestino curto, possivelmente porque ocorreu uma alteração da integridade intestinal (Gupta, 2011; Chatterjee et al., 2011; Narang et al., 2011; Teughels et al., 2011).

De uma maneira geral, em pacientes com hipersensibilidade à lactose, a administração de *Lactobacillus* está contra-indicada (Teughels et al., 2011).

Até à data, não existem relatos de sépsis provocada por *Bifidobacterium spp.*, o que pode dever-se à baixa patogenicidade e toxicidade desta espécie (Teughes et al., 2011).

Recentemente, factores de risco *major* ou *minor* relacionados com a toma de probióticos têm sido referenciados. Como factores de risco *major*, podemos apontar a imunossupressão e a prematuridade dos recém-nascidos. Os factores de risco *minor*, por seu lado, envolvem a disfunção da barreira epitelial, a doença cardíaca valvular, a presença de um cateter venoso central, a administração de antibióticos de largo espectro e a administração de probióticos por meio de um tubo via jejunostomia (Lawande, 2012; Teughels et al., 2011).

De um modo geral, os probióticos devem ser usados com precaução em pacientes que apresentem pelo menos um factor de risco *major* ou mais de que um factor de risco *minor* (Lawande, 2012; Teughels et al., 2011).

2.6 Estirpes probióticas da cavidade oral

A cavidade oral é um sistema ecológico complexo, proporcionando uma elevada diversidade de espécies microbianas. O ambiente não é uniforme, podendo ser distinguidos diversos *habitats*, cada um deles com características próprias, o que torna possível a colonização por diferentes comunidades de microrganismos (Stamatova, 2009; Reddy et al., 2011; Munoz et al., 2010).

Numa tentativa de determinar a diversidade bacteriana na placa subgingival humana, Paster et al., em 2001, utilizando uma cultura independente e recorrendo a métodos moleculares, estimaram que a diversidade total de espécies na cavidade oral variava entre 500 a 600 espécies (Reddy et al., 2012; Agarwal et al., 2011).

Mais tarde, Kazor et al (2003), no decurso das suas investigações prolongaram esta diversidade, constatando a existência de 200 espécies adicionais desconhecidas na

região do dorso da língua, fazendo o número de espécies na cavidade oral atingir as 700 espécies (Agarwal et al., 2011; Reddy et al., 2012; Gupta, 2011; Deidre et al., 2009; Lawande, 2012; Koduganti et al., 2012).

Não obstante o referido, Stamatova et al., em 2009, consideraram que a variabilidade de espécies bacterianas presentes na cavidade oral reúne cerca de 1000 espécies (Stamatova, 2009).

Existem determinadas espécies bacterianas indígenas (e respectivos produtos) que são considerados benéficos para um periodonto saudável. Esta designação deve-se ao facto de possuírem determinados mecanismos específicos e não-específicos que lhes permite antagonizar espécies patogénicas. Mecanismos como a concorrência por (ou exclusão de) receptores de adesão, a competição por nutrientes e a produção de antimicrobianos ou surfactantes, são exemplos dos efeitos protetores das bactérias benéficas (Essche et al. (2013).

De facto, Hillman et al. demonstraram que a prevalência de espécies capazes de antagonizar os agentes patogénicos orais difere entre indivíduos saudáveis e com doença. Estes autores verificaram que há uma maior prevalência de espécies capazes de antagonizar os agentes patogénicos em indivíduos periodontalmente saudáveis (Hillman et al., 1985).

Além do mais, em amostras de placa subgingival de localizações afectadas com periodontite agressiva e com periodontite refratária, verificou-se a total inexistência dessas bactérias benéficas ou inibidoras. Curiosamente, ao analisarem amostras de placa subgingival de localizações clinicamente saudáveis desses mesmos pacientes com periodontite, verificaram a existência de bactérias inibidoras/benéficas em proporções semelhantes às encontradas na placa subgingival de indivíduos saudáveis (Hillman et al., 1985).

Da mesma forma, mais recentemente, Essche et al. (2013) constataram que a prevalência de estirpes antagónicas de *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* e *F. nucleatum* são mais prevalentes em indivíduos saudáveis do que em indivíduos com

periodontite. Isto sugere o envolvimento dos microrganismos benéficos na protecção da saúde oral.

Além disso, com o surgimento das resistências generalizadas a antibióticos, uma nova alternativa para a terapia convencional periodontal é necessária (Essche et al., 2013).

Assim, o recurso à introdução dos microrganismos como ferramenta terapêutica na prevenção e tratamento da doença periodontal pode ser muito útil, passando possivelmente por interacções directas e indirectas (Allaker & Douglas, 2009).

De acordo com Allaker & Douglas, 2009, os probióticos permitem criar uma interacção directa com a placa bacteriana. Assim, seria possível criar uma ruptura do biofilme da placa por competição, ao ligar locais nos tecidos do hospedeiro e outras bactérias. Por outro lado, a produção de componentes antimicrobianos que inibem as bactérias orais poderá também ser um mecanismo significante (Allaker & Douglas, 2009).

No que respeita às acções probióticas indirectas na cavidade oral, estas incluem a modulação de aspectos da função imunitária inata e específica (Allaker & Douglas, 2009).

Os microrganismos geralmente considerados probióticos, podem não ter a cavidade oral como o seu *habitat* inerente e, subsequentemente, a possibilidade de conferirem benefícios à saúde oral é, logo à partida, questionável (Pradeep et al., 2012; Lawande, 2012; Agarwal et al., 2011; Reddy et al., 2011; Narang et al., 2011).

Uma condição essencial para um microrganismo probiótico ser denominado com sendo de interesse para a saúde oral de um indivíduo, é a capacidade de aderir e colonizar inúmeras superfícies da cavidade oral (Mohanty et al., 2011; Lawande, 2012; Reddy et al., 2011; Agarwal et al., 2011; Pradeep et al., 2012; Bonifait et al., 2009; Narang et al., et al., 2011).

Actualmente, as estirpes de probióticos que mais frequentemente são utilizadas são, como já foi referido, as bactérias lactoacidófilas do género *Lactobacillus* e

Bifidobacterium (Pradeep et al., 2012; Lawande, 2012; Singh, 2011; Gupta, 2011; Haukioja, 2010; Mohanty et al., 2011; Munoz et al., 2010; Stamatova, 2009; Agarwal et al., 2011; Reddy et al., 2011; Bhardwaj, 2012; Singh, 2011).

Com efeito, estudos baseados em culturas bacterianas sugerem que as *Bifidobacterium* encontram-se entre as primeiras bactérias anaeróbias da cavidade oral (Haukioja, 2010; Puri et al., 2011).

Na mucosa oral os *Lactobacillus* compreendem aproximadamente 1% da microflora oral cultivável em seres humanos (Agarwal et al., 2011; Reddy et al., 2012; Bonifait et al., 2009; Haukioja, 2010; Bhardwaj, 2012; Puri et al., 2011; Mohanty et al., 2011; Puri et al., 2011).

Estudos clínicos controlados referem que os *Lactobacillus* podem desempenhar um papel preponderante no equilíbrio micro-ecológico da cavidade oral (Lawande, 2012; Narang et al., 2011; Bonifait et al., 2009; Reddy et al., 2011; Agarwal et al., 2011). Os *Lactobacillus* possuem a capacidade de produzir diferentes componentes antimicrobianos, incluindo peróxido de hidrogénio, ácidos orgânicos, substâncias antimicrobianas de baixo peso molecular, bacteriocinas e inibidores de adesão (Gupta, 2011).

Em 2006, Haukioja et al. avaliaram a sobrevivência na saliva e a capacidade de adesão às superfícies orais de vários probióticos usados em produtos diários (especificamente espécies de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*). Todas as estirpes testadas sobreviveram bem na saliva, mas variaram largamente na sua capacidade em aderir à superfície dos dentes e da mucosa oral. Os dados do estudo revelaram que o género *Lactobacillus* possui uma marcada capacidade de adesão, superior ao *Bifidobacterium* (Haukioja et al. *cit. in* Bonifait et al., 2009).

Tanto *Lactobacillus* como *Bifidobacterium* podem ser encontrados no leite materno, sujeitando a cavidade oral a uma exposição precoce a estas bactérias. As espécies *Bifidobacterium* isoladas em amostras orais incluem a *B. bifidum*, *B. infantis*, *B. dentium* e *B. longum* (Haukioja, 2010; Gupta, 2011; Lawande, 2012; Reddy et al., 2011; Puri et

al., 2011). Por outro lado, Teanpais e Dahlen (2006) salientaram, através das suas investigações, que as principais espécies de *Lactobacillus* que coexistiam na saliva são a *L.fermentum*, *L. rhamnosus*, *L. salivarius*, *L.casei*, *L.acidophilus* e *L. plantarus* (Agarwal et al., 2011; Reddy et al., 2012; Mohanty et al., 2011; Bonifait et al., 2009; Reddy et al., 2011).

É importante referir que as estirpes probióticas *L.fermentum*, *L. rhamnosus*, *L.casei* e *L.acidophilus* são espécies que são empregues em diversos produtos de uso diário, como, por exemplo, os produtos lácteos (Agarwal et al., 2011; Reddy et al., 2012; Bonifait et al., 2009; Mohnaty et al., 2011). Porém, não há evidência que estas espécies estejam presentes na cavidade oral como resultado de um consumo frequente de produtos diários, levando a uma colonização temporária, ou se o ambiente oral é o seu *habitat* permanente (Lawande, 2012; Narang et al., 2011; Bonifait et al., 2009; Reddy et al., 2011; Agarwal et al., 2011).

Mediante alguns estudos, verificou-se que *Lactobacillus* e *Streptococcus* parecem ser capazes de colonizar a cavidade oral de alguns indivíduos durante o tempo em que os produtos que os contêm estão a ser usados (Haukioja, 2010).

Uma diversidade semelhante da flora de *Lactobacillus* orais foi observada por Colloca et al. (2000) que consideraram *L.fermentum*, *L.plantarum*, *L.salivarius* e *L.rhamnosus* como sendo as estirpes predominantes na cavidade oral de um indivíduo saudável (Reddy et al., 2012; Iwamoto et al., 2010; Agarwal et al., 2011; Puri et al., 2011; Iwamoto et al., 2011).

Num estudo que comparou a variabilidade de espécies na mucosa oral e rectal, revelou que as espécies mais frequentes nestas regiões são a *L.plantarum* e *L.rhamnosus*, estando presentes em 52% e 26% dos indivíduos, respectivamente (Stamatova, 2009). Contudo, este estudo não pretendia definir se essas espécies são colonizadores permanentes destas zonas e/ou se a cavidade oral é o seu *habitat* natural (Stamatova, 2009).

Em estudos mais recentes, tem sido reportado que indivíduos que consumiram diariamente iogurtes contendo *L. rhamnosus*, o seu organismo alojava estes microorganismos por mais 3 semanas após ter terminado o período de consumo (Bonifait et al., 2009; Mohanty et al., 2011).

Por outro lado, resultados contraditórios foram obtidos por Yli-Knuutila et al., em 2006, que revelaram que a estirpe *L.rhamnosus* colonizou a cavidade oral apenas temporariamente e que um consumo mais consistente do probiótico seria necessário para efeitos benéficos a longo prazo (Agarwall et al., 2011).

A estirpe bacteriana *L. rahnmosus* e duas estirpes diferentes de *L.reuteri* têm sido referidas como colonizadoras da cavidade oral em 48-100% dos voluntários que consomem produtos que as contêm (Haukioja, 2011).

Uma descoberta promissora revela que a população de *Lactobacillus* difere entre indivíduos saudáveis e indivíduos com comprometimento periodontal (Stamatova, 2009; Haukioja, 2010), relataram que as estirpes presentes em indivíduos saudáveis são a *L.gasseri* e *L. fermentum*. Em contrapartida, a estirpe de relevo em indivíduos com periodontite é a *L. plantarum* (Stamatova, 2009; Gupta, 2009; Iwamoto et al., 2010; Reddy et al., 2011).

Outro promissor candidato a probiótico oral é a estirpe *Streptococcus salivarius*, um colonizador inicial das superfícies orais, encontrando-se entre os membros numericamente mais presentes na microflora de indivíduos saudáveis (Pradeep et al., 2012; Liu et al., 2010). Esta estirpe é conhecida por produzir uma bacteriocina, o que pode contribuir para a redução do número de bactérias produtoras de compostos sulfurados voláteis (Liu et al., 2010).

Sookkhe et al., em 2001, isolaram 3,790 estirpes de bactérias de ácido láctico de 130 indivíduos, determinando que as espécies isoladas referiam-se a *Lactobacillus paracasei* e *L. rhamnosus*, tendo uma alta capacidade de antagonizar patógenos orais importantes, incluindo *Streptococcus mutans* e *Porphyromonas gingivalis* (Bonifait et al., 2009).

De acordo com a literatura científica consultada, as outras estirpes probióticas que podem ser consideradas como sendo probióticos da cavidade oral incluem *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. casei shirota*, *L. paracasei*, *L. reuteri*, *L. johnsonii* e *W. cibaria* (Gupta, 2011; Pradeep et al., 2012; Lawande, 2012; Agarwal et al., 2011; Reddy et al., 2011).

Por último, das espécies clinicamente relevantes destaca-se a *Weissella cibaria* (previamente classificada no género *Lactobacillus*). Trata-se de uma bactéria gram-positiva, anaeróbia facultativa, produtora de ácido láctico. Tem sido consistentemente isolada de seres humanos e está presente em comidas fermentadas, sendo considerada um potencial agente probiótico (Bonifait et al., 2009; Mohanty et al., 2011).

Esta estirpe bacteriana secreta uma quantidade significativa de peróxido de hidrogénio, assim como uma bacteriocina que actua contra bactérias gram-positivas. Além disso, possui a capacidade de coagregação com *Fusobacterium nucleatum* e de adesão às células epiteliais. As suas propriedades podem permitir que *W. cibaria* efectivamente colonize a cavidade oral e possa, de algum modo, limitar a proliferação de bactérias patogénicas (Bonifait et al., 2009; Agarwal et al., 2011; Mohanty et al., 2011; Devine et al., 2009; Liu et al., 2010; Singh, 2011).

2.7 Probióticos comercialmente disponíveis para a doença periodontal

Hoje em dia, ainda são poucos os produtos comercialmente disponíveis contendo probióticos que visam a prevenção e o tratamento da doença periodontal (Mohanty et al., 2011; Bonifait et al., 2009; Gupta, 2011; Lawande, 2012; Victor et al., 2010).

Os laboratórios Sunstar (Eto, Suíça) foram os primeiros a iniciar a comercialização de probióticos formulados especificamente para o tratamento da doença periodontal. O PerioBalance GumTM é constituído por uma combinação de duas estirpes de *L. reuteri*, fundamentalmente seleccionadas pelas suas propriedades sinérgicas no combate de bactérias cariogénicas e periodontogénicas. A dose de cada pastilha contém, pelo menos, 2×10^8 células vivas de *L. reuteri prodentis*. Os usuários são aconselhados a consumir uma pastilha elástica todos os dias, depois de uma refeição ou à noite, após

escovar os dentes, de forma a permitir que os probióticos se difundam pela cavidade oral e colonizem as várias superfícies dentárias (Mohanty et al., 2011; Bonifait et al., 2009; Gupta, 2011; Lawande, 2012; Victor et al., 2010).

Mais tarde, a empresa *Designs for Health, Inc.*, lançou no mercado um novo produto probiótico, denominado *PerioBiotic™*. Este consiste numa pasta dentífrica exclusivamente natural, com um suplemento de flúor. É importante referir que o probiótico funcional *Lactobacillus paracasei* não é encontrado em qualquer outra pasta dentífrica (Mohanty et al., 2011; Lawande, 2012).

Outro produto inovador designado *Acilact™* foi comercializado pela empresa *Alfarm Ltd.*, Rússia. Esta preparação probiótica consiste num complexo de cinco bactérias vivas de ácido láctico liofilizadas. De acordo com o fabricante, este produto melhora tanto os parâmetros clínicos como os microbiológicos, em pacientes com gengivite e periodontite leve. O *Acilact™* deve ser utilizado após desbridamento mecânico, com uma dosagem de dois comprimidos dissolvidos na boca, três vezes ao dia, durante vinte a trinta dias (Lawande, 2012; Chatterjee et al., 2011).

Também a empresa *Wakamoto pharmaceutical Co.*, Japão, foi o potenciador da comercialização do *Wakamate D™*. Este comprimido probiótico contém $6,5 \times 10^8$ unidades formadoras de colónias (UFC), por comprimido, de *Lactobacillus salivarius WB21* e xilitol (280mg/ comprimido). Este produto foi originalmente preparado para contribuir para o equilíbrio microbiano intestinal, perante o fornecimento de ácido tolerante *L. salivarius WB21*, sendo mais tarde utilizado na terapia periodontal (Lawande, 2012; Iwamoto et al., 2010).

Em Dezembro de 2008 deu-se início à comercialização de um novo produto no mercado designado por *ProBiora 3™* (*Oragenics, EUA*). Este probiótico consiste num anti-séptico oral, que contém uma mistura de três estirpes probióticas devidamente selecionadas (*S. oralis* KJ3sm, *S. uberis* KJ2sm e *S. ratus* JH145). De acordo com o fabricante, cada estirpe probiótica possui uma função específica que permite manter uma microflora oral saudável. Cada recipiente contém aproximadamente 10^6 ou 10^8

unidades formadoras de colónias (UFC) de cada uma das três estirpes probióticas (Zahrdnik et al., 2009).

Recentemente surgiram no mercado as pastilhas probióticas Prodentis™ (BioGaia, Suécia), que possuem uma conjugação de duas estirpes de *Lactobacillus reuteri* com um teor mínimo de 1×10^8 unidades formadoras de colónias (UFC) para cada uma das estirpes DSM 17938 e ATCC PTA 5289 (Lawande, 2012; Vivekananda et al., 2010).

III. MATERIAIS E MÉTODOS

A presente revisão bibliográfica foi baseada em informação devidamente publicada. A pesquisa bibliográfica foi realizada no período decorrido entre os meses de dezembro de 2012 e Fevereiro de 2013, utilizando os motores de busca da *PubMed*, *BIREME*, *Scielo* (Scientific Electronic Library Online), *b-on* (pertencente à FCCN - fundação para computação científica nacional), *Cochrane database*, *Science Direct* e Google académico.

Recorreu-se às seguintes palavras-chave: *doença periodontal*, *gingivite*, *periodontite*, *factores de risco*, *probióticos* e *microbiologia*.

Devido ao limitado conteúdo bibliográfico sobre o tema, não foi estabelecido qualquer limite temporal.

Os artigos científicos seleccionados referem-se, na sua totalidade, a artigos publicados em Português, Inglês e Espanhol. Os estudos realizados em animais foram excluídos.

Foram encontrados quarenta e oito artigos com a conjugação das diferentes palavras-chave. Destes, foram seleccionados nove artigos científicos, inicialmente pela relevância do título do artigo, de seguida, pelo conteúdo demonstrado no *abstract* e, por fim, pela leitura do artigo na íntegra.

IV. RESULTADOS/DISCUSSÃO

O objectivo deste trabalho de revisão bibliográfica era avaliar de que forma o uso de probióticos pode influenciar a condição periodontal. Nesse sentido e, de acordo com a metodologia proposta, foram selecionados nove estudos: quatro ensaios clínicos randomizados (Twetman et al., 2009; Krasse et al., 2006; Mayanagi et al., 2009; Shimauchi et al., 2008), dois estudos de coorte (Matsuoka et al., 2006; Sugano et al., 2007), dois estudos de caso-controlo (Staab et al., 2009; Ishikawa et al., 2003) e um estudo longitudinal prospectivo (Zahradnik et al., 2009). Para uma melhor sistematização dos resultados obtidos pelos diferentes estudos, optámos por efectuar a sua análise de um ponto de vista microbiológico, clínico e imunológico. Assim sendo, os parâmetros analisados foram a microflora oral, o índice de placa, o índice gengival, o índice de hemorragia, a profundidade de sondagem e alguns marcadores inflamatórios.

É importante referir que, dos nove estudos seleccionados, três avaliaram o possível impacto dos probióticos em situações clínicas de gengivite (Krasse et al., 2006; Staab et al., 2009 e Twetman et al., 2009) e seis a sua influência em casos de periodontite (Mayanagi et al., 2009; Zahradnik et al., 2009; Sugano, 2007; Ishikawa et al., 2003; Matsuoka et al., 2006; Schimauchi et al., 2008) (**Anexo 1 e 2**).

De seguida passaremos a analisar, para os diferentes estudos, cada um dos parâmetros supracitados.

Microflora oral

Dos estudos realizados em humanos, que estabelecem a associação entre periodontite e probióticos, cinco deles (Ishikawa et al., 2003; Matsuoka et al., 2006; Mayanagi et al., 2009; Zahradnik et al., 2009; Sugano, 2007) demonstraram mudanças significativas na microflora oral.

Nos restantes estudos avaliados, as possíveis variações na contagem de bactérias periodontogénicas na microflora oral após a administração de probióticos não

constavam dos critérios de avaliação (Krasse et al., 2006; Staab et al., 2009; Twetman et al., 2009; Schimauchi et al., 2008).

Ishikawa et al. (2003) realizaram um estudo de caso-controlo, em 78 indivíduos. O estudo pretendia avaliar a quantidade de bactérias patogénicas periodontais e a sua possível supressão após a administração de *Lactobacillus salivarius* T1 2711 (LS1) (5 comprimidos por dia, durante oito semanas). Com esse intuito foram constituídos 3 grupos de estudo: um grupo controlo (n=21) e dois grupos probióticos - grupo probiótico A (n=28) e grupo probiótico B (n=29). Ao fim de oito semanas, os autores verificaram uma redução significativa na quantidade de bactérias *P. intermedia* e *P. nigrescens* presentes na saliva nos grupos probióticos.

Mais tarde, Matsuoka et al. (2006), efectuaram um estudo de coortes, duplamente cego em 87 pacientes com periodontite. O objetivo do estudo consistia na determinação da eficácia dos probióticos na doença periodontal. Nesse sentido, os participantes foram distribuídos em três grupos de estudo – dois grupos probióticos (n=49) e um grupo placebo (n=38). Durante 12 semanas os indivíduos dos grupos probióticos ingeriram *L. salivarius* T1 2711 (Grupo probiótico A - 2×10^8 e Grupo probiótico B – 2×10^7) por dia. Os parâmetros clínicos tidos em consideração foram a profundidade de sondagem, a hemorragia à sondagem e o índice de placa. Foram ainda recolhidas amostras de placa bacteriana subgingival no sentido de avaliar a quantidade de *Porphyromonas gingivalis* e de *L. salivarius* através de PCR (polymerase chain reaction). Estes parâmetros clínicos foram avaliados na baseline (dia 0), na 4ª semana, na 12ª semana e após o fim da administração de *L. salivarius* T1 2711 (na 16ª semana). No que respeita às alterações ao nível da microflora, verificou-se que, nos grupos probióticos, a quantidade de *P.gingivalis* sofreu uma redução na 12ª semana quando comparado com os valores da baseline (dia 0). No que diz respeito ao número de *L. salivarius*, verificou-se um aumento na 4ª e 12ª semana, decrescendo até à 16ª semana. Quanto ao grupo placebo, não ocorreu nenhuma mudança significativa no número de bactérias *L. salivarius*.

Posteriormente, Sugano et al., em 2007, efectuaram um estudo de coortes, duplamente cego, com um *follow-up* de dezasseis semanas, que pretendia avaliar o efeito dos probióticos *L.reuteri* (ATCC 55730 e ATCC PTA 5289) na doença periodontal. Os

autores verificaram que o uso destes probióticos (cinco comprimidos, durante cinco dias, ao longo de doze semanas) promoveu uma redução significativa no total de bactérias na décima segunda e na décima sexta semana. Da mesma forma, verificou-se uma redução significativa na contagem de *P. gingivalis* na décima segunda semana. Além disso, os autores verificaram um aumento significativo na décima segunda e na décima sexta semana de *Lactobacillus* subgingivais.

Por outro lado, Mayanagi et al. (2009) efectuaram um ensaio clínico randomizado, com o objectivo de avaliar se a administração oral de *Lactobacillus* pode modificar a população bacteriana na placa infra e supragengival. Os setenta e seis voluntários saudáveis, sem periodontite severa, foram randomizados em dois grupos: o grupo teste (n=34) recebeu $2,01 \times 10^9$ UFC/ dia de *Lactobacillus salivarius* WB21 e xilitol em comprimidos, o grupo controlo (n=32) recebeu placebo com xilitol. A administração do probiótico era realizada por via oral (três comprimidos por dia, durante oito semanas). As amostras da placa supra/subgingival foram coletadas no início do estudo e após quatro semanas. A quantidade de bactérias presente nas amostras foi analisada através de PCR (polymerase chain reaction) em tempo real.

Não foi possível verificar uma redução directa e estatisticamente significativa na contagem das bactérias periodontogénicas em estudo, designadamente *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola* e *Prevotella intermedia*. Contudo, os autores relataram que o somatório numérico das bactérias periodontogénicas no grupo probiótico foi significativamente diminuído na placa subgingival após quatro semanas, com tendência a diminuir a partir das oito semanas, quando comparado com o grupo teste.

No mesmo ano, foi efectuado um estudo piloto a vinte jovens saudáveis, realizado por Zahradnik et al. (2009). Apenas foram seleccionados indivíduos sistemicamente saudáveis, com idades compreendidas entre os vinte e um e os trinta e cinco anos. Este estudo destinava-se a avaliar a segurança e a eficácia do uso de um probiótico contendo uma mistura de três estirpes de *Streptococcus* – ProBiora 3™ (*S.oralis* KJ3sm, *S.uberis* KJ2sm e *S. ratus* JH145), através de bochechos com solução oral, duas vezes ao dia, durante quatro semanas.

De acordo com o seu critério de avaliação (número de bactérias na placa subgingival e saliva), foi detectado um decréscimo, em duas ordens de magnitude, para *C.retus* e *P.gingivalis* na placa subgingival. Embora os dados não tenham sido fornecidos, os autores mencionam que a mistura probiótica não influenciou a contagem de *P. intermedia* subgingival. Ademais, verifica-se uma redução na ordem dos 0,8 graus de magnitude de *Streptococcus mutans* na saliva, sem que, no entanto, os resultados tenham alcançado significância estatística, muito provavelmente devido ao reduzido tamanho da amostra.

Índice de placa

São apenas três os estudos na literatura científica consultada (Krasse et al., 2006; Staab et al., 2009; Schimauchi et al., 2008), que revelam dados sobre a evolução do índice de placa, após os indivíduos serem submetidos à utilização de probióticos.

Krasse et al., (2006) efectuaram um ensaio clínico, duplamente cego e prospectivo randomizado em indivíduos com gengivite moderada a severa. O objectivo do estudo foi avaliar se o probiótico *Lactobacillus reuteri* (administrado através de pastilha elástica, 2 vezes por dia) poderia ser eficaz no tratamento da gengivite e, por outro lado, avaliar a sua influência na placa e na população de lactobacilos na saliva. Os 59 participantes no estudo foram aleatoriamente distribuídos em três grupos, designadamente um grupo placebo (n=18) e dois grupos com formulações distintas de *L. reuteri* (LR-1 e LR-2, com n=20 e n=21, respectivamente).

Na *baseline* (dia 0), foram mensurados o índice gengival e o índice de placa em duas localizações e foi recolhida saliva para determinação de lactobacilos. Os pacientes foram instruídos a escovar e usar o fio dentário de forma eficiente e deu-se início ao estudo. Os pacientes regressaram no dia 14 para a avaliação final da gengivite e da placa bacteriana e foram recolhidas amostras de saliva.

No que respeita ao índice de placa verificou-se uma redução estatisticamente significativa na quantidade de placa bacteriana entre o dia 0 e o dia 14, mas sem alterações significativas no grupo placebo. Além disso, verificou-se que ao 14º dia, 65%

dos pacientes no grupo LR-1 e 95% no grupo LR-2 foram colonizados com *Lactobacillus reuteri*.

Mais tarde, em 2008, Shimauchi et al. realizaram um estudo clínico randomizado, duplamente cego, em 66 voluntários que não tivessem periodontite severa. O estudo pretendia avaliar o efeito de um probiótico contendo *Lactobacillus* (três comprimidos por dia, durante oito semanas) na condição periodontal. Com esse intuito foram constituídos 2 grupos de estudo – um grupo placebo (xylitol, 840mg/dia, n=32) e um grupo de teste (*L. salivarius* WB21+xylitol 840mg/dia, n=34). Os participantes foram instruídos a não alterarem os seus hábitos de higiene oral ou a tomarem produtos probióticos de outro tipo durante o período de estudo. Não foram dadas quaisquer instruções de higiene oral e nenhuma destarização foi realizada antes ou durante o período experimental. Os parâmetros clínicos periodontais tidos em consideração foram o índice de placa, o índice gengival e a profundidade de sondagem. Foram igualmente recolhidas amostras de placa bacteriana supra e infragengival e de saliva para quantificar os níveis de *Lactobacillus* e os níveis de lactoferrina, no caso das amostras de saliva. As avaliações foram realizadas nos dias 0 (*baseline*), 29 (4 semanas) e 57 (8 semanas).

No que diz respeito ao índice de placa, os autores constataram que houve uma redução estatisticamente significativa do índice de placa em ambos os grupos às 4 e às 8 semanas, quando comparado com os valores iniciais. Nesta fase optaram por separar, em ambos os grupos, os participantes em fumadores e em não-fumadores e efectuar nova avaliação estatística. Foi possível verificar que, no grupo de fumadores a tomar probióticos, houve uma redução estatisticamente significativa do índice de placa às 4 e 8 semanas, comparativamente ao grupo placebo.

Staab et al., em 2009, efectuaram um estudo de caso-controlo em 50 estudantes de Medicina Dentária, sistémica e periodontalmente saudáveis. O objetivo do estudo foi determinar o efeito de uma bebida láctea probiótica na saúde gengival e no desenvolvimento de gengivite experimental. Nesse sentido, os participantes foram aleatoriamente distribuídos em dois grupos de estudo – teste e controlo, com igual número de ocorrências. Durante 8 semanas de estudo, apenas os indivíduos no grupo de

teste ingeriram diariamente 65ml de um leite probiótico com *Lactobacillus casei shirota*. Após as 8 semanas do estudo, os participantes foram instruídos a suspender todas as medidas de controlo mecânico de placa bacteriana durante um período de 96 horas.

Os parâmetros avaliados foram o índice de hemorragia papilar, o índice de placa interproximal e o índice de placa de Turesky. Foram ainda recolhidas amostras de fluido crevicular gengival que seriam posteriormente testadas quanto às actividades da elastase de polimorfonucleares, mieloperoxidases e metaloproteinases da matriz-3 (MMP-3). Todos os participantes foram avaliados na *baseline*, às 8 semanas e 4 dias após o período de gengivite experimental.

Se, por um lado não se verificaram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos quando considerado o índice de placa interproximal em todos os momentos de avaliação, por outro lado quando foi avaliado o índice de placa de Turesky os autores verificaram um maior aumento no índice de placa nos indivíduos sujeitos ao probiótico, com diferenças estatisticamente significativas no período de gengivite experimental. Os autores apontam como possível explicação a ingestão adicional de hidratos de carbono (leite) no grupo de teste.

Índice gengival

Alterações nos valores respeitantes ao índice gengival foram relatadas em apenas três dos estudos científicos consultados (Krasse et al., 2006; Staab et al., 2009; Schimauchi et al., 2008). No entanto, os resultados são contraditórios.

Krasse et al. (2006) e Schimauchi et al. (2008), constataram uma diminuição estatisticamente significativa do índice gengival em todos os grupos de estudo, às duas e oito semanas, respectivamente. Em contrapartida, Staab et al. (2009) verificaram um aumento significativo nos parâmetros clínicos inflamatórios ao longo do estudo, comparativamente com os valores iniciais (*baseline*), mas sem diferenças estatisticamente significativas entre os grupos.

Dos dois estudos que efectuaram uma análise estatística inter-grupo, somente o estudo realizado por Krasse et al. (2006) mostrou diferenças significativas entre o grupo placebo e um dos grupos probióticos (*L. reuteri* 1×10^8 UFC – formulação 1), com melhorias mais significativas no grupo probiótico.

Hemorragia à sondagem

Em todos os estudos consultados que analisaram a variação ocorrida no índice de hemorragia após sondagem perante a terapia probiótica (Matsuoka et al., 2006; Twetman et al., 2009; Schimauchi et al., 2008), foi possível verificar que este parâmetro clínico diminuiu significativamente, quando comparado com os valores iniciais.

Twetman et al. (2009), realizaram um ensaio clínico randomizado controlado, duplamente cego, em 42 indivíduos com inflamação gengival moderada. O objetivo do estudo consistia na avaliação dos efeitos de uma pastilha elástica probiótica contendo 2×10^8 UFC de *Lactobacillus reuteri Prodentis* (ATCC 55.730 + ATCC PTA 5289). Os indivíduos foram divididos aleatoriamente em três grupos de estudo: grupo A/P (n = 13) – ao qual foi administrado diariamente uma pastilha elástica activa e uma com placebo; grupo A/A – que recebeu diariamente duas pastilhas elásticas activas e grupo P/P - cuja toma diária era de duas pastilhas elásticas placebo. Os sujeitos foram instruídos a mastigar as duas pastilhas elásticas, durante dez minutos, ao longo de duas semanas.

Os parâmetros avaliados ao longo do estudo, com duração de 2 semanas, foram o índice de hemorragia e os níveis de IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8 e IL-10 no fluido crevicular gengival. Todos os parâmetros mencionados foram avaliados na *baseline* e após 1, 2 e 4 semanas.

Os resultados do estudo revelam que os valores referentes ao índice de hemorragia gengival melhoraram e o volume de FCG diminuiu em todos os grupos durante o período de mastigação, mas os resultados foram apenas estatisticamente significativos nos grupos A/P e A/A que receberam *Lactobacillus reuteri Prodentis*. Os autores observaram ainda que, logo após a conclusão do uso de probiótico, a percentagem de hemorragia gengival voltou a aumentar.

Nos estudos clínicos efectuados por Matsuoka et al., em 2006 e por Shimauchi et al., em 2008 foi igualmente possível verificar uma diminuição do índice de hemorragia ao longo do estudo, ainda que sem diferenças estatisticamente significativas entre os grupos.

Profundidade de sondagem (PS)

No estudo de coortes, duplamente cego, realizado por Matsuoka et al. (2006) em 87 paciente com periodontite, não foram encontradas mudanças significativas no que diz respeito à profundidade de sondagem das bolsas periodontais (PS).

Da mesma forma, Shimauchi et al. (2008) não encontraram diferenças estatisticamente significativas entre os grupos de teste e de controlo no que respeita à redução da profundidade de sondagem, às 4 e 8 semanas de estudo. Todavia, ao separarem os indivíduos fumadores dos não fumadores foi possível detectar uma redução bastante significativa da profundidade de sondagem no grupo a tomar probiótico, mas apenas nos indivíduos fumadores.

Marcadores inflamatórios

No estudo efectuado por Twetman et al. (2009), o foco era predominantemente a avaliação da inflamação gengival e a produção de citocinas anti-inflamatórias (IL-1 β , TNF- α , IL-6, IL-8 e IL10). Durante as duas semanas de intervenção, o fluido crevicular gengival diminuiu significativamente nos grupos de probióticos (Grupo A/P e Grupo A/A), ao passo que não foram observadas alterações no grupo placebo (Grupo P/P).

Os níveis de TNF- α e de IL-8 diminuíram significativamente no grupo A/A (*L. reuteri* ATCC 55730 e ATCC PTA 5289, com concentração de 2×10^8 CFU/dia), em comparação com os valores da *baseline*, após a primeira e a segunda semana, respectivamente. Além disso, foi observada uma tendência para a diminuição dos níveis de IL-1 β durante o período de mastigação no grupo probiótico (grupo A/A), mas sem alcançar significância estatística. Os níveis de IL-6 e IL-10 não foram afectados em todos os grupos, após a primeira e segunda semana. Tendo em conta os resultados

obtidos, os autores concluem que a redução dos níveis de citocinas pró-inflamatórias no FCG pode constituir prova do papel dos probióticos no combate da inflamação na cavidade oral.

Shimauchi et al. (2008) também avaliaram os níveis de lactoferrina na saliva tendo verificado, às 8 semanas, uma redução estatisticamente significativa apenas no grupo de teste.

Staab et al. (2009) quando investigavam o efeito de um leite probiótico comercialmente disponível contendo *L. casei shirota* na saúde gengival verificaram que ao fim de 8 semanas, a actividade da elastase dos polimorfonucleares, para além de ter diminuído ao longo desse período, foi significativamente menor no grupo probiótico, quando comparado com o grupo controlo. No entanto, após o período de gengivite experimental, verificou-se um aumento significativo da sua actividade em ambos os grupos. Apenas no grupo de controlo se verificou um aumento da quantidade da mieloperoxidases durante o período de gengivite experimental, com diferenças estatisticamente significativas em relação ao grupo de teste. A quantidade de metaloproteinases da matriz (MMP-3) diminuiu significativamente no grupo de teste, imediatamente após a toma do probiótico.

Em suma, os estudos apresentados revelam dados promissores em relação à possível utilização de probióticos na melhoria da condição periodontal. Ishikawa et al. (2003), Matsuoka et al. (2006), Zahradnik et al. (2009) e Sugano et al. (2007) concluíram que a toma de probióticos confere uma diminuição na contagem de bactérias periodontogénicas na microflora oral.

Além disso, os dados demonstrados por Krasse et al. (2006) e Shimauchi et al. (2008), revelam que os probióticos parecem dar um importante contributo na melhoria do índice de placa e do índice gengival.

Da mesma forma, Twetman et al., em 2009, verificaram uma diminuição do volume do fluido crevicular gengival nos grupos a tomar probióticos. Contudo, o estudo de Staab et al. (2009), não encontrou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos,

verificando-se inclusivamente um aumento significativo dos parâmetros clínicos inflamatórios e do nível de placa bacteriana. Também no estudo efectuado por Mayanagi et al. (2009) não foi possível verificar uma redução directa e estatisticamente significativa na contagem das bactérias periodontogénicas.

Apesar dos resultados promissores, os estudos clínicos apresentados apresentam algumas limitações metodológicas. Este facto advém da reduzida quantidade e qualidade das amostras, do diminuto tempo de *follow-up* das várias investigações e da própria selecção dos probióticos. Exemplos disto são os estudos efectuados por Krasse et al. (2006) e por Zahradnik et al. (2009), com períodos de *follow-up* de apenas duas e quatro semanas, respectivamente. Também Shimauchi et al. (2008), Mayanagi et al. (2009), Ishikawa et al. (2003) e Matsuoka et al. (2006) apresentam *follow-ups* igualmente restritos. Assim, estas limitações devem ser tidas em conta, sendo necessária uma rigorosa e cuidada interpretação dos resultados, até porque, na literatura consultada, estes nem sempre foram consensuais.

Outro grande problema que se coloca na interpretação dos resultados assenta no reduzido número de estudos que apresenta uma análise estatística inter-grupos e intra-grupos. A maioria dos estudos (Ishikawa et al. 2003, Matsuoka et al. 2006, Zahradnik et al. 2009, Sugano et al. 2007 e Twetman et al. 2009) baseia-se meramente numa análise estatística intra-grupos, levando a uma interpretação dos resultados nem sempre muito válida e/ou rigorosa.

De salientar ainda, a importância da análise dos veículos de administração dos probióticos, visto a sua influência no potencial terapêutico e na colonização oral de um probiótico. Contudo, a inconstância e a heterogeneidade (comprimidos, soluções de bochecho, pastilha elástica e leite) são um obstáculo, o que torna impossível neste momento, retirar conclusões irrevogáveis, dadas todas as limitações metodológicas que existem.

Outro factor interessante prende-se com a inexistência de estudos clínicos randomizados que avaliem o uso de probióticos em associação ao tratamento periodontal propriamente dito (cirúrgico e/ou não cirúrgico).

Tendo em conta o diminuto número de estudos disponíveis acerca desta temática e com base em tudo o que foi referido, há uma clara necessidade de mais estudos para clarificar e confirmar os possíveis benefícios dos probióticos no âmbito da prevenção e/ou tratamento das doenças periodontais.

IV. CONCLUSÃO

Os probióticos estão a emergir gradualmente na comunidade científica e o interesse despoletado tende conseqüentemente a crescer, abrindo caminho a mais investigações e à consolidação de conhecimentos sobre o seu modo de actuação e influência na saúde geral do indivíduo. Sendo a doença periodontal um problema de saúde pública que continua à procura de um maior leque de opções de tratamento, esta vertente – dos probióticos - permite explorar novas possibilidades no âmbito da prevenção e do tratamento da patologia.

É importante referir que não é possível classificar uma bactéria como sendo probiótica se não for feito um estudo exaustivo sobre o comportamento da mesma em determinado meio do organismo humano e sua interacção no mesmo. A classificação de uma bactéria probiótica não deve ser entendida como um termo genérico e amplo que leva a induzir que uma bactéria é favorável (seja em que condições for), mas sim que, particularmente, num determinado contexto terapêutico e face a determinada patologia, num determinado local do organismo humano, uma bactéria pode ser de elevada utilidade e viabilidade, ao passo que noutra local do organismo pode ser de grande prejuízo para o equilíbrio microbiológico do indivíduo.

Desta forma, não se pode classificar de forma leviana uma bactéria como probiótica até ao momento que se conheça detalhadamente a sua influência no meio, subentendendo-se então, que cada bactéria tem as suas próprias características e comportamentos, não podendo ser categorizada dentro de um grupo pouco específico. Deduz-se então que o termo “probiótico” não deve ser entendido de forma ampla mas sim específica e individualmente para cada microrganismo e local de acção.

A única classificação ampla que deve ser retirada do termo reside na base do seu mecanismo de acção, isto é, são bactérias que, em determinado contexto, competem directamente com agentes patogénicos, interagindo com os factores de virulência e desta forma estimulam uma resposta imune do hospedeiro.

Não sendo possível, ainda, concluir muito assertivamente sobre os efeitos a longo prazo destes microrganismos, os estudos referidos nesta revisão bibliográfica demonstraram, de uma forma geral, uma melhoria nos parâmetros clínicos, microbiológicos e imunológicos periodontais.

É, no entanto, importante referir que os estudos consultados apresentam limitações metodológicas, sobretudo no que concerne à qualidade e quantidade da amostra, à análise estatística dos dados, à selecção probiótica e também à duração da investigação, entre outros, advindo desses factos resultados insuficientes e/ou não consensuais. Os resultados revelam que os probióticos podem proporcionar efeitos benéficos na saúde periodontal, contudo, futuramente uma investigação científica mais rigorosa é necessária, para permitir avaliar, a longo prazo, a eficácia e segurança dos probióticos.

V. BIBLIOGRAFIA

Aarestrup, B. J. V., Sales, L. A. R. e Aarestrup, F. M. (2008). Periodontal disease: Natural history and influence of pregnancy. *Bol Cent Biol Reprod*, 27(2), pp. 41-47.

Ababneh, K. T., Hwajj, Z. M. F. A. e Khader, S. Y. (2012). Prevalence and risk indicators of gingivitis and periodontitis in a Multi-Centre study in North Jordan: a cross sectional study. *BMC Oral Health*, 12(1), pp.1-8.

Abreu, L. M. G., Lopes, F. F. e Pereira, A. F. V. (2010). Doença periodontal e condições sistêmicas: mecanismos de interação. *Rev Pesq Saúde*, 11(2), pp. 52-56.

Agarwal, E. et alii. (2011). Probiotics: A novel step towards oral health. *AOSR*, 1(2), pp. 108-115.

Akali, A. et alii. (2013). Periodontal diseases and stress: a brief review. *JOR*, 40, pp. 60-68.

Allaker, R. P. e Douglas, C. W. I. (2009). Novel anti-microbial therapies for dental plaque-related diseases. *Int J Antimicrob Agents*, 33, pp. 8-13.

Alvear, F. S. Vélez, M. E. e Botero, L. (2010). Factores de riesgo para las enfermedades periodontales. *Rev Fac de Odontol Univ de Antioq*, 22(1), pp. 109-116.

Amel, A. et alii. (2010). Microbiological Study of Periodontitis in the West of Algeria. *World J Med Sci*, 5(1), pp. 7-12.

Armitage, G. C., Yafei W. e Hwa-Ying W. (2000). Low prevalence of a periodontitis-associated interleukin-1 composite genotype in individuals of Chinese heritage. *J Periodontol*, 71, pp. 164-171.

Ayub, L. G. et alii. (2010). Estresse como possível fator de risco para a doença periodontal. *Rev. Period*, 20(3), pp. 28-36.

Berezow, A. B. e Darveau, R. P. (2011). Microbial Shift and Periodontitis. *Periodontol* 2000, 55(1), pp. 36–47.

Bertolini, P. F. R. (2010). Medicina periodontal e a mulher: a importância do seu conhecimento para uma abordagem preventiva por ginecologistas/obstetras e cirurgiões-dentistas. *Rev ciênc méd biol* 6(3), pp. 175-185.

Bhardwaj, A. e Bhardwaj, S. V. (2012). Role of Probiotics in Dental Caries and Periodontal Disease. *Arch Clin Exp Surg*, 1(1), pp. 45-49.

Bhushan, J. e Chachra, S. (2010). Probiotics – Their Role in Prevention of Dental Caries. *J Oral Health Comm Dent*, 4(3), pp. 78-82.

Bhuvanesarri, J. et alii. (2012). Probiotics and Its Implications In Periodontal Therapy – a review. *JDMS*, 2(5), pp. 11-15.

Bindushree, A. R. et alii. (2013). Evaluation of the association between stress, depression and periodontitis a clinicobiochemical study. *Int Biol Med Res*, 4(1), pp. 2884-2888.

Bonifait, L., Chandad, F. e Grenier, D. (2009). Probiotics for Oral Health: Myth or Reality?. *JCDA*, 75(8), pp. 585-589.

Bosch, M. et alii. (2012). Isolation and characterization of probiotic strains for improving oral health. *Arch Oral Biol*, 57, pp. 539-549.

Candela M. et alii (2005). Real-time PCR quantification of bacterial adhesion to Caco-2 cells: competition between bifidobacteria and enteropathogens. *ResMicrobiol*, 156, pp. 887 – 95.

Carvalho, C. e Cabral, C. T. (2007). Papel da *Porphyromonas Gingivalis* na Doença Periodontal. *Rev Port Estomatol Cir Maxilofac*, 48(3), pp. 167-171.

Chambrone, L. et alii. (2009). The influence of tobacco smoking on the outcomes achieved by root-coverage procedures. *J Am Dent Assoc*, 140(3), pp. 294-306.

Chatterjee, A., Bhattacharya, H. e Kandwal, A. (2011). Probiotics in periodontal health and disease. *J Indian Soc Periodontol*, 15(1), pp. 23-28.

Crociani, F. et alii. (1994). Degradation of complex carbohydrates by *Bifidobacterium* spp. *Int J food Microbiol*, 24 (2), pp. 199-210.

Devine, D. A. e Marsh, P. D. (2009). Prospects for the development of probiotics and prebiotics for oral applications. *J Oral Microbiol*, pp. 1-11.

Dhingra, K. (2012). Methodological issues in randomized trials assessing probiotics for periodontal treatment. *J Periodont Res*, 47, pp. 15-26.

Eberhard, J. et alii. (2013). Experimental Gingivitis Induces Systemic Inflammatory Markers in Young Healthy Individuals: A Single-Subject Interventional Study. *PLOS one*, 8(2), pp. 1-10.

Esfahanian, V., Shamami, M. e Shamami, M. (2012). Relationship Between Osteoporosis and Periodontal Disease. *JDT*, 9(4), pp. 256-262.

Essche, M. V. et alii. (2013). Bacterial Antagonism Against Periodontopathogens. *J Periodontol*, 84(6), pp. 801-811.

Fadel, H. T. et alii. (2013). Clinical and biological indicators of dental caries and periodontal disease in adolescents with or without obesity. *Clin Oral Invest*, pp. 1-10.

Fernández, A. J. et alii. (2010). Probiotics treatment in the oral cavity: an update. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 15(5), pp. 677-680.

Gandhi, M. e Kothiwale, S. (2012). Association of Periodontal Disease with Genetic Polymorphisms. *Genet Eng Biotechnol J*, 2(3), pp. 19-27.

Gholami, M., Pakdaman, A. e Virtanen, J. I. (2012). Common Perceptions of Periodontal Health and Illness among Adults: A Qualitative Study. *ISRN Dentistry*, pp. 1-6.

Goyal, S. et alii. (2011). Estimation of relationship between psychosocial stress and periodontal status using serum cortisol level: a clinico-biochemical study. *Indian J Dent Res*, 22, pp. 6-9.

Grossi, S. G. et alii.(1997). Treatment of periodontal disease in diabetics reduces glycated hemoglobin. *J Periodontol*, 68, pp. 713-9.

Grubbs, V. et alii. (2011). Vulnerable Populations and the Association between Periodontal and Chronic Kidney Disease. *Clin J Am Soc Nephrol*, 6, pp. 711–717.

Grudianov, A. I., Dmitrieva N. A. e Fomenko E. V. (2002). Use of probiotics Bifidumbacterin and Acilact in tablets in therapy of periodontal inflammations. *Stomatologiya (Mosk)*, 81(1), pp. 39-43.

Guiglia, R. et alii. (2013). Osteoporosis, jawbones and periodontal disease. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, 18(1), e93- e99.

Gupta, G. (2011). Probiotics and periodontal health. *J Med Life*, 4(4), pp. 387-394.

Haffajee, A. D. e Socransky, S. S. (2009). Relation of body mass index, periodontitis and *Tannerella forsythia*. *J Clin Periodontol*, 36, pp. 89-99.

Haukioja, A. (2010). Probiotics and Oral Health. *Eur J Dent*, 4, pp. 348-355.

Hayman, L. et alii. (2011). Smoking and periodontal disease: discrimination of antibody responses to pathogenic and commensal oral bacteria. *Clin Exp Immunol*, 164(1), pp. 118-126.

Hillman, J. D., Socransky, S. S. e Shivers, M. (1985). The relationships between streptococcal species and periodontopathic bacteria in human dental plaque. *Arch Oral Biol*, 30, pp. 791-795.

Hoçoya, L. e Jardini, M. (2010). Polimorfismo genético associado à doença periodontal na população brasileira: revisão de literatura. *Rev Odontol UNESP*, 39(5), pp. 305-310.

Ishikawa, H. et alii. (2003). Suppression of periodontal pathogenic bacteria in the saliva of humans by the administration of *Lactobacillus salivarius* TI2711. *J Japn Soc Periodontol*, 45, pp. 105 – 112.

Iwamoto, T. et alii. (2010). Effects of probiotic *Lactobacillus salivarius* WB21 on halitosis and oral health: an open-label pilot trial. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*, 110(2), pp. 201-8.

Johannsen, A., Bjurshammar, N e Gustafsson A. (2010). The influence of academic stress on gingival inflammation. *Int J Dent Hyg*, 8, pp. 22-27.

Johnson, G. K. e Guthmiller, J. M. (2007). The impact of cigarette smoking on periodontal disease and treatment. *Periodontol 2000*, 44, pp.178-94.

Johnston, B. D., Fritz, P. C. e Ward, W. E. (2013). Use of Dietary Supplements in Patients Seeking Treatment at a Periodontal Clinic. *Nutrients*, 5, pp. 1110-1121.

Kiran, M., Arpak, N. e Unsal, E. (2005). The effect of improved periodontal health on metabolic control in type 2 diabetes mellitus. *J Clin Periodontol*, 32, pp9. 266-72.

Koduganti, R. et alii. (2011). Probiotics and prebiotics in periodontal therapy. *Indian J Dent Res*, 22(2), pp. 324-330.

Köll-Klais, P. et alii. (2005). Oral microbial ecology in chronic periodontitis and periodontal health. *Oral Microbiol Immunol*, 17(3), pp. 354-361.

Kormman, K. S. (2008). Mapping the pathogenesis of periodontitis: a new look. *J Periodontol*, 70, pp. 1560-1568.

Koshi, E. et alii. (2012). Risk assessment for periodontal disease. *J Indian Soc Periodontol*, 16, pp. 324-8.

Koushyar, K. J. e Hernández, A. (2010). Tabaquismo: factor de riesgo para enfermedad periodontal. *Revista ADM*, 67(3), pp. 101-13.

Krasse, P. et alii. (2006). Decreased gum bleeding and reduced gingivitis by the probiotic *Lactobacillus reuteri*. *Swed dent j*, 30(2), pp. 55-60.

Kuramitsu, H. K. et alii. (2007). Interspecies Interactions within Oral Microbial Communities. *MMBR*, 71(4), pp. 663-670.

Lawande, S. (2012). Probiotics for Management of Periodontal Disease: A Novel Therapeutic Strategy?. *Int J Pharm Pharm Sci*, 2(4), pp. 41-46.

Lindhe, J., Lang, N. E. e Karring, T. (2008). *Tratado de Periodontia Clínica e Implantologia Oral*. 5th Edition. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan.

Liu, D. T. C. et alii. (2010). Role of probiotics and bacterial replacement therapy in periodontal disease management. *J Dent Sci*, 1(1), pp. 99-102.

Lopes, F. F. et alii. (2008). Associação entre osteoporose e doença periodontal em mulheres na pós-menopausa. *Rev Bras Ginecol Obstet*, 30(8), pp. 379-83.

Madeiro, A. T., Passos, I. A. Figueiredo, C. (2008). Abordagem preventiva da Doença Periodontal no paciente diabético. *Ver Odontol Univ São Paulo*, 20(1), pp. 76-81.

Manjunath, R. G. S. (2011). Benefits of live microorganisms (Probiotics) in periodontal health. *IJCD*, 2(1), pp. 97-100.

Masamatti, S. S., Kumar, A. e Dodwad, V. (2011). Role of Genetics in Periodontal Disease. *J Innov Dent*, 1(2).

Matos, G. R. M. e Godoy, M. F. (2011). Influência do tabagismo no tratamento e prognóstico da doença periodontal. *Arq Ciênc Saúde*, 18(1), pp. 55-8.

Matsuoka, T. et alii. (2006). Effect of oral Lactobacillus salivarius TI2711 (LS1) administration on periodontopathogenic bacteria in subgingival plaque. *J Japn Soc Periodontol*, 48, pp. 315 – 324.

Mayanagi, G. et alii. (2009). Probiotic effects of orally administered Lactobacillus salivarius WB21-containing tablets on periodontopathic bacteria: a double-blinded, placebocontrolled, randomized clinical trial. *J Clin Periodontol*, 36, pp. 506 – 513.

Mohanty, R., Nazareth, B. Shrivastava, N. (2012). The potencial role of probiotics in periodontal health. *RSBO*, 9(1), pp. 85-88.

Muñoz, S. e Alarcón, P. M. (2010). Efecto de los Probióticos en las Condiciones Periodontales. *Rev Clin Periodoncia Implantol Rehabil Oral*, 3(3), pp. 136-139.

Narang, S., Gupta, R. e Narang, A. (2011). Probiotics In Oral HealthCare. *IJSER*, 2(1), pp. 1-5.

Neto, J. B. C. et alii. (2012). Smoking and periodontal tissues. *Braz Oral Res*, 26(1), pp. 25-31.

Nunes, M. C. P et alii. (2007). Contribuição do estudo do biofilme dentário para o tratamento das doenças periodontais. Contribution of dental. *Rev Inst Ciênc Saúde*, 25(1), pp. 55-61.

Offenbacher, S., Barros, S. P. e Beck, J. D. (2008). Rethinking periodontal inflammation. Review. *J Periodontol*, 79, pp. 1577-1584.

Page, R. C. et alii. (1997a). Advances in the pathogenesis of periodontitis: summary of developments, clinical implications and future directions. *Periodontol 2000*, 14, pp. 216-248.

Passos, S. J. et alii. (2010). Osteoporose e seus efeitos na condição periodontal: abordagem teórica e proposta de modelo conceitual. *R. Periodontia*, 20(1), pp. 38-47.

Peeran, S. W. et alii. (2012). Periodontal Status and Risk Factors among Adults of Sebha City (Libya). *Int J Dent*, pp. 1-5.

Pradeep, K., Kuttapa, M. A. e Prassana, R. (2012). Probiotics and oral Health: an update. *Biol Biomed Rep*, 2(4), pp. 246-252.

Puri, S. M. et alii. (2011). Use of Probiotics For Oral Health. *Johcd*, 5(3), pp. 149-152.

Ramos, M. et alii. (2013). Associação entre a Doença Periodontal e Doenças Sistêmicas Crônicas. *Arch Health Invest*, 2(1), pp. 24-31.

Reddy, S. et alii. (2011). Bacteria in Oral Health – Probiotics and Prebiotics. *Int Biol Med Res*, 2(4), pp. 1226-1233.

Reynolds, M. A. e Shiau, H. J. (2010). Sex differences in destructive periodontal disease: A systematic review. *J Periodontol*, 81(10), pp. 1379-1389.

Romero, F. G. (2008). Polimorfismo y genética y su relación con la enfermedad periodontal. *Kiru*, 5(2), pp. 127-135.

Salum, A. W., Neto, J. B. C. e Salum, E. J. (2007). Tabagismo e a doença periodontal. *Rev Period*, 17(2), pp. 45-53.

Shimauchi, H., Mayanagi, G. e Nakaya, S. (2008). Improvement of periodontal condition by probiotics with *Lactobacillus salivarius* WB21: a randomized, double-blind, placebo controlled study. *J Clin Periodontol*, 35, pp. 897-905.

Silva, E. M. M. et alii. (2008). Aspectos periodontais do paciente idoso. *Salusvita*, 27(2), pp. 275-285.

Simões, M., Simões, L. C. e Vieira, M. J. (2010). A review of current and emergente biofilm control strategies. *LMT*, 43, pp. 573-583.

Singh, K. et alii. (2011). Probiotics: a review. *APJTB*, pp. S287-S290.

Slawik, S. et alii. (2011). Probiotics affect the clinical inflammatory parameters of experimental gingivitis in humans. *EJCN*, 65, pp. 857-863.

Sohi, R. K., Bansal, V. Veerasha, K. L. (2011). Probiotics and oral health. *SRM J Res Dent Sci*, 2(1), pp. 46-49.

Soskolne, W. A. e Klinger A. (2001). The relationship between periodontal diseases and diabetes: an overview. *Ann Periodontol*, 6(1), pp. 91-98.

Staab, B. et alii. (2009). The influence of a probiotic milk drink on the development of gingivitis: a pilot study. *J Clin Periodontol*, 36, pp. 850 – 856.

Stamatova, I. e Meurman, J. H. (2009b). Probiotics: health benefits in the mouth. *Am J Dent*, 22, pp. 329-338.

Stewart J. E. et alii. (2001). The effect of periodontal treatment on glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Clin Periodontol*, 28, 306-10.

Sugano, N. et alii. (2007) Effects of probiotics on periodontal disease. *Japan Dent*, 43, pp. 123 – 126.

Szpilman, A. R. M. et alii. (2012). Condição periodontal de hipertensos e diabéticos: impacto da atuação da equipe de saúde da família. *HU Revista*, 38(1), pp. 45-51.

Teughels, W., Loozen, G. e Quirynen, M. (2011). Do probiotics offer opportunities to manipulate the periodontal oral microflora?. *J Clin Periodontol*, 38, pp. 159-77.

Trentin, M. S. et alii. (2007). Doença Periodontal e fatores de risco em pacientes HIV positivos. *RFO*, 12(3), pp. 49-66.

Tsubura, S. et alii. (2009). The effect of *Bacillus subtilis* mouth rinsing in patients with periodontitis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 28, pp. 1353-1356.

Underner, M. et alii. (2009). Effects of smoking on periodontal disease. *Rev Mal Respir*, 26(10), pp. 1057-1973.

Vivekananda, M. R., Vandana, K. L. e Bhat K. G. (2010). Effect of the probiotic *Lactobacilli reuteri* (Prodentis) in the management of periodontal disease: a preliminary randomized clinical trial. *J Oral Microbiol*, 2, pp. 1-9.

Wade, W. G. (2012). The oral microbiome in health and disease. *Pharmacol Res*, pp. 1-7.

Walker, S. J., Van Dyke, T. e Rich, S. (2000). Genetic polymorphisms of the IL-1A and IL-1B genes in African-American LJP patients and African-American control population. *J Periodontol*, 71, pp. 723-728.

Yogita Butani, Y., Weintraub, J. A. e Barker, J. C. (2008). Oral health-related cultural beliefs for four racial/ethnic groups: Assessment of the literature. *BMC Oral Health*, 8(26), pp. 1-13.

Zahradnik, R. T. et alii. (2009) Preliminary assessment of safety and effectiveness in humans of ProBiora (3) (TM), a probiotic mouthwash. *J Appl Microbiol*, 107, pp. 682 – 690.

Zhào, J. et alii. (2012). Effect of Porphyromonas gingivalis and Lactobacillus acidophilus on Secretion of IL1B, IL6, and IL8 by Gingival Epithelial Cells. *Inflammation*, 5(4), pp. 1330-1337.

Marisa Manuela Pereira Rocha

Probióticos e a Doença Periodontal

ANEXOS

Universidade Fernando Pessoa

Faculdade de Ciências da Saúde

Porto, 2013

Tabela 1. Estudos clínicos de associação entre Probióticos e a Gengivite

Autor	Objectivo do Estudo clínico	Tipo de	Tipo de infecção	Grupo de	Numero de pacientes	Estirpe bacteriana	Veículos de administra-	Duração de estudos,	Critérios de avaliação	Resultados/ Conclusão	
Krasse et al., 2006	Avaliar se o probiótico <i>L.reuteri</i> pode ser eficaz no tratamento da gengivite.	Ensaio clinico randomizado	Gengivite moderada a severa	Grupo placebo	18	Formula 1 <i>L. reuteri</i> (LR-1)	Pastilha elástica	0,5	Índice de placa; Índice gengival.	Redução significativa de gengivite maior no grupo probiótico 1 comparativamente com o grupo placebo. Em relação à quantidade de placa, ambos os grupos de probióticos manifestaram redução em comparação ao grupo placebo. Redução estatisticamente significativa na quantidade bacteriana entre o dia 0 e 4, mas sem alterações significativas no grupo placebo. Ao 14º dia, 65% dos pacientes no grupo LR-1 e 95% no LR-2 foram colonizados por lactobacillus reuteri.	
				Grupo probiótico 1	20						Formula 2 <i>L. reuteri</i> (LR-2)
				Grupo probiótico 2	21						

LEGENDA: FCG- Fluido crevicular gengival; LR – *Lactobacillus reuteri*

Staab et al., 2009	Determinar o efeito de uma bebida lactea probiótica na saúde gengival e no desenvolvimento de gengivite experimental	Caso-controlo	Pacientes saudáveis	Grupo de controlo Grupo teste	25 25	<i>Lactobacillus casei shirota</i>	Leite	2	Índice de hemorragia papilar; índice de placa interproximal; Índice de placa; Análise do FCG ; índice placa de Turesky	No final do estudo, a actividade da elastase foi significativamente mais baixa no grupo probiótico quando comparada com o grupo controlo. Não verificaram diferenças significativas entre os grupos quando considerado o índice de placa interproximal. Aumento do índice de placa nos indivíduos sujeitos ao probiótico.
Twetman et al., 2009	Avaliar os efeitos clínicos do volume do fluido crevicular, citocinas e níveis de hemorragia á sondagem, após administração do probiótico <i>L.reuteri</i> .	Ensaio clinico randomizado	Gengivite	Grupo P/P Grupo A/P Grupo A/A	13	<i>L. reuteri</i> (ATCC 55730 e ATCC PTA 5289)-) – 1x10 ⁸ CFU/dia <i>L. reuteri</i> (ATCC 55730 e ATCC PTA 5289)-2x10 ⁸ CFU/dia	Pastilha elástica	4	Índice de hemorragia;volum e FCG; níveis de IL-1B; TNF- α; IL-6; IL-8; IL-10.	BOP com melhorias, e volume de FCG diminuído em todos os grupos de probióticos durante as primeiras duas semanas. Os níveis do TNF- α e da IL-8 diminuíram significativamente no grupo A/A de probióticos comparativamente com a baseline (dia 0) na 1ª e 2ª semana. Diminuição dos níveis de IL-1β durante o período de mastigação no grupo A/A, mas sem atingir significância estatística. Logo após a conclusão do uso de probiótico a percentagem de hemorragia gengival voltou a aumentar.
LEGENDA: IL-1β - Interleucina 1 beta; IL-6 - Interleucina 6; IL-8 - Interleucina 8; TNF-β - Factor de Necrose Tumoral beta; IL-10 - Interleucina 10; FCG- Fluido crevicular gengival										

Tabela 2. Estudos clínicos de associação entre Probióticos e a Periodontite

Autor	Objectivos do Estudo clínico	Tipo de	Tipo de infecção	Grupo de estudo	Nº de Pacientes	Estirpe bacteriana	Veículo de administração	Duração de estudos, (meses)	Crítérios de avaliação	Resultados/ conclusão
Ishikawa et al., 2003	avaliar as bactérias patogénicas periodontais e sua possível supressão, perante a administração de <i>Lactobacillus salivarius T1 2711</i> ,	Caso-controlo	Não mencionado	Grupo controlo	21		Comprimido	2	Número de bactérias presentes na saliva.	Redução significativa no número de bactérias <i>P. intermedia</i> e <i>P. nigrescens</i>
				Grupo probiótico A	28	<i>L. salivarius</i> T1 2711 (2x10 ⁸ CFU/dia)				
				Grupo probiótico B	29	<i>L. salivarius</i> T1 2711(2x10 ⁷ CFU/dia)				
Matsuoka al., 2006	Determinação da eficácia dos probióticos na doença periodontal	Coortes	Pacientes saudáveis	Placebo			Comprimido	2	Média de Profundidade de sondagem; hemorragia à sondagem; índice de placa; nível de bactérias <i>Porphyromonas gingivalis</i> e <i>L. salivarius</i>	Redução <i>P. gingivalis</i> na 12ª semana comparando com a baseline; Mudanças significativas na hemorragia à sondagem, profundidade de bolsas; Aumento de <i>L. salivarius</i> na 4ª e 12ª semana, decrescendo na 16ª semana.
Grupo de probióticos	38	<i>L. salivarius</i> T1 2711(2x10 ⁸ CFU/dia)								
				Grupo de probióticos	49	<i>L. salivarius</i> T1 2711(2x10 ⁷ CFU/dia)				

LEGENDA: UFC- unidades formadoras de colónias

Sugano, 2007	Avaliação do efeito dos probióticos <i>L.reuteri</i> (ATCC 55730 e ATCC PTA 5289) na doença periodontal.	Coortes	Periodontite	Placebo Probiótico A Probiótico B	45 50 13	<i>L.reuteri</i> (ATCC 55730 e ATCC PTA 5289) <i>L.reuteri</i> (ATCC 55730 e ATCC PTA 5289)	comprimido	4	Número de bactérias subgingivais	Redução 0,6 log no total de bactérias na 12ª semana e 1,2 log na 16ª semana. Redução 0,5 log na <i>P. gingivalis</i> na 12ª semana. Aumento significativo na 12ª semana e na 16ª semana de <i>LActobacillus</i> subgingivais..
Shimauchi et al., 2008	avaliar se a administração oral de comprimidos contendo o probiótico <i>Lactobacillus salivarius</i> WB21 poderia alterar os parâmetros clínicos dos tecidos periodontais e a expressão de marcadores inflamatórios	Ensaio clínico randomizado	Voluntários sem periodontite severa	Grupo Placebo Grupo teste	32 34	Xylitol (840mg/dia) WB21+xylitol (840mg/dia)	Comprimido	2	níveis de lactoferrina na saliva; níveis de <i>Lactobacillus</i> na saliva; índice de placa; índice gengival; Profundidade de sondagem	Redução estatisticamente significativa do índice de placa no grupo de fumadores à 4ª e à 8ª semana, comparativamente ao grupo placebo. Sem diferenças estatisticamente significativas entre os grupos de teste e de controlo no que respeita à redução da profundidade de sondagem, às 4 e 8 semanas de estudo. Redução bastante significativa da profundidade de sondagem no grupo a tomar probiótico, mas apenas nos indivíduos fumadores.

Mayanagi et al., 2009	Avaliação dos Efeitos de probióticos quando administrado o probiótico lactobacillus salivarius WB21- por via oral	Ensaio clinico randomizado	Voluntários saudáveis sem periodontite severa	Grupo placebo Grupo probióticos	32 34	Xylitol (840mg/dia) <i>L. salivarius</i> WB21+xylitol (840mg/dia)	comprimidos	2	Número de bactérias total (<i>P.gingivalis</i> , <i>P.intermedia</i> , <i>T.forsythia</i> , <i>T.denticola</i>).	O somatório numérico das bactérias periodontogênicas selecionadas no grupo probiótico, foi significativamente diminuído na placa subgengival após 4 semanas, com tendência a diminuir a partir das 8 semanas comparada ao grupo placebo.
Zahrdnik et al., 2009	Avaliação da segurança e eficácia do uso do probiótico - ProBiora ^{3TM}	Longitudinal prospectivo	Jovens saudáveis	Grupo probiótico	11	<i>S. oralis</i> KJ3sm; <i>S.uberis</i> KJ2sm; <i>S.rattus</i> JH145.	Bochecho com solução oral	1	Número de bactérias na placa subgengival e saliva	Decréscimo em 2 ordens de magnitude para <i>C.retus</i> e <i>P.gingivalis</i> na placa subgengival. Sem efeito na <i>P. intermedia</i> ; Redução na ordem dos 0,8 graus de magnitude de <i>Streptococcus mutans</i> na saliva. Os resultados não foram significantes devido ao pequeno número de sujeitos.

