

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

**O USO DE PROBIÓTICOS EM PACIENTES COM
PERIODONTITE**

Trabalho submetido por

Regina Natchoia Litrato Sawylly

para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

novembro de 2024

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

O USO DE PROBIÓTICOS EM PACIENTES COM PERIODONTITE

Trabalho submetido por
Regina Natchoia Litrato Sawylly
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Dr. José Manuel Feliz

novembro de 2024

AGRADECIMENTOS

Gostaria de começar por expressar a minha mais sincera gratidão ao meu orientador, o Professor Dr. José Manuel Feliz, pela sua dedicação ao longo deste percurso. A sua sabedoria e apoio foram cruciais para que eu alcançasse este objetivo e estou profundamente grata por todo o conhecimento compartilhado.

Agradeço também a todos os outros docentes da *Egas Moniz School of Health and Science*, que, com o seu compromisso e empenho, cruzaram no meu caminho e que de uma forma ou outra contribuíram para o meu crescimento académico.

Não posso deixar de agradecer a minha família, que sempre me apoiou ao longo desta jornada. A minha querida mãe e o meu pai, que apesar do meu pai já não estar fisicamente presente, estará para sempre no meu coração e pensamentos. Aos meus irmãos, que sempre me deram força nos momentos mais desafiantes, deixo o meu profundo agradecimento.

Quero agradecer ao meu Padrinho Carlos Alberto que é como um pai emprestado para mim, ajudou na minha formação, muito grata pelas críticas porque fez com que eu ganhasse força para continuar a caminhada e hoje chegar nesta etapa da minha vida, estarei sempre grata por todo bem que o padrinho contribuiu na história da minha existência.

Aos meus amigos que a faculdade me trouxe, como a minha querida Djanette, a sempre presente Nádia, a minha princesa Maianca, a Joana, a Fortini, a Meuryana, e especialmente a minha querida companheira de boxe Maria Margarida.

Outros amigos que me apoiaram nesta trajetória o meu grande amigo João Pedro que me apoiou e tranquilizou em todas as fases, a Janice Rodrigues que foi a minha paciente, a Jacira, a Paty, e a Rosalina, muito grata por todo apoio que me deram.

Agradeço profundamente a Deus, cuja força e presença me permitiram superar todas as adversidades e desafios ao longo deste caminho.

E, por fim, não posso esquecer de agradecer a mim mesma, por nunca ter desistido do meu sonho, mesmo diante de todas as dificuldades, e por ter mantido a perseverança para chegar até aqui.

RESUMO

As doenças periodontais são um problema de saúde global. São doenças inflamatórias progressivas em vários estágios, desencadeadas pela inflamação das gengivas em resposta a periodontopatógenos e podem levar à destruição das estruturas de suporte dos dentes, perda dentária e problemas de saúde sistêmicos.

Nesta tese retrata-se os efeitos da suplementação de probióticos na prevenção e tratamento da doença periodontite com base na avaliação de resultados clínicos, microbiológicos e imunológicos.

Periodontite é uma doença microbiana associada aos tecidos que suportam os dentes e implantes dentários, mediadas pela inflamação do hospedeiro e que eventualmente levam à perda de dentes e implantes dentários. Dado o papel dos probióticos no controle do biofilme, na reversão da disbiose e na modulação do hospedeiro, seus potenciais efeitos benéficos na melhora da periodontite foram recentemente investigados. O uso de probióticos também tem sido proposto no manejo da saúde periodontite em pacientes submetidos à terapia ortodôntica fixa. Portanto, o presente estudo teve como objetivo a importância dos probióticos na periodontite, considerando a composição do microbioma periodontite ao redor de dentes e implantes dentários em condições saudáveis e patológicas, os supostos efeitos favoráveis dos probióticos na gengivite, periodontite e periimplantite.

Da análise dos artigos estudados há diferentes opiniões na literatura que podem ser devidos aos diferentes métodos, posologia e duração das prescrições de probióticos e aos métodos heterogêneos de medição biológica e clínica utilizados. Assim, não foi possível tirar conclusões definitivas sobre a eficácia dos probióticos no uso do tratamento da periodontite. Mais estudos são necessários para validar os probióticos para o tratamento periodontite e fornecer protocolos recomendados.

Palavras-chave: Periodontite, Probióticos, Microbioma Humano, Microbioma Oral, Cavidade Oral, Saúde Oral

ABSTRACT

Periodontal diseases are a global health problem. They are progressive inflammatory diseases in several stages, triggered by inflammation of the gums in response to periodontopathogens and can lead to the destruction of tooth-supporting structures, tooth loss and systemic health problems.

This thesis portrays the effects of probiotic supplementation in the prevention and treatment of periodontal diseases based on the evaluation of clinical, microbiological and immunological results. Periodontitis is a microbial disease associated with the tissues that support teeth and dental implants, mediated by host inflammation and eventually leading to loss of teeth and dental implants. Given the role of probiotics in biofilm control, dysbiosis reversal and host modulation, their potential beneficial effects in ameliorating periodontitis have recently been investigated. The use of probiotics has also been proposed in the management of periodontal health in patients undergoing fixed orthodontic therapy.

Thus, the present study aimed at the importance of probiotics in periodontitis, considering the composition of the periodontal microbiome around teeth and dental implants in healthy and pathological conditions, the supposed favorable effects of probiotics in gingivitis, periodontitis and peri-implantitis. From the analysis of the articles studied there is a contrast in the literature that may be due to the different methods, dosage and duration of probiotic prescriptions and the heterogeneous biological and clinical measurement methods used.

Therefore, it was not possible to draw definitive conclusions about the effectiveness of probiotics in the treatment of periodontitis, both in healthy and pathological conditions. Further studies are needed to validate probiotics for periodontal treatment and provide recommended protocols.

Keywords: Periodontitis, Probiotics, Human Microbiome, Oral Microbiome, Oral Cavity, Oral Health

ÍNDICE GERAL

I.	INTRODUÇÃO	11
II.	DESENVOLVIMENTO	13
1.	História da periodontite	13
1.1.	Periodontite	17
1.1.1.	Microbioma	22
2.	Probióticos	23
2.1.	Bactérias nos Probióticos	25
2.2.	Modo de atuar de um probiótico	26
3.	Aplicação de probióticos na periodontite.....	26
3.1.	Espécies Probióticas Promotoras de Saúde Periodontal e seus efeitos.....	28
3.1.1.	<i>Lactobacillus</i>	28
3.1.1.1.	<i>Lactobacillus acidophilus</i>	28
3.1.1.2.	<i>Lactobacillus reuteri</i>	29
3.1.2.	<i>Streptococcus salivarius</i>	30
3.1.3.	<i>Weissella</i>	31
3.1.3.1.	<i>Weissella cibaria</i>	31
3.2.	Combinação de Probióticos.....	32
3.3.	Alternativas aos antibióticos	34
3.4.	Eficácia dos probióticos na periodontite	35
III.	CONCLUSÃO	37
IV.	BIBLIOGRAFIA.....	41

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Maxilar evidenciando peridontite (Zlata Brkić, Verica Pavlić, 2016).....	13
Figura 2 - Escritura egípcia sobre tratamento da peridontite (Zlata Brkić, Verica Pavlić, 2016)	14
Figura 3 - <i>Leonardo da Vinci: Anatomical drawings from the Royal Library, Windsor Castle</i> (Keele and Roberts, 1984, 2013)	15
Figura 4 - Imagem de Pierre Fauchard (Julien Philippe, 2011)	16
Figura 5 - Grau de Peridontite (Hajishengallis, 2015)	18
Figura 6 - Peridontite (Denis F Kinane, Panagiota Stathopoulou, Panos N. Papapanou, 2017)	19
Figura 7 - Evolução da doença (Denis F Kinane, Panagiota Stathopoulou, Panos N. Papapanou, 2017)	20
Figura 8 - Factores de risco de peridontite (Adler, C. J., Malik, R., Browne, G. V., Norris, J. M., 2016)	22
Figura 9 - Bactérias associadas à Periodontite: A) Treponema, B) Selemonas, C) Prevotella. D) Periodontite (Applied and Environmental Microbiology, artigo original:www.sciencedaily.com/releases/2016/08/160812151854.htm)	23

LISTA DE SIGLAS

- BOP** – Sangramento na sondagem (“*Bleeding on probing*”, em inglês)
- FAO** - Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (“*Food and Agriculture Organization of the United Nations*”, em inglês)
- GCF** – Fluido gengival crevicular (“*Gingival Crevicular Fluid*”, em inglês)
- IG** – Índice Gengival
- IL** – Interleucina
- IP** – Índice de Placa
- KPH** – Hipótese do patogénico-chave (“*Keystone-Pathogen Hypothesis*”, em inglês)
- LCFA** – Ácidos gordos de cadeia longa (“*Long-chain fatty acids*”, em inglês)
- MMP** - Metalproteinase da Matriz
- NHIS** - Inquérito nacional de entrevistas de saúde (“*National Health Interview Survey*”, em inglês)
- OMS** – Organização Mundial de Saúde
- PPD** – Profundidade de sondagem de bolsas (“*Probing pocket depth*”, em inglês)
- PSD** – Sinergia polimicrobiana e disbiose (“*Polymicrobial synergy and dysbiosis*”, em inglês)
- scFv** – Fragmentos de anticorpos de cadeia única (“*single-chain antibody fragments*”, em inglês)
- SRP** – Destartarização e alisamento radicular (“*(Periodontal) Scaling and Root Planing*”, em inglês)
- TIMP** - Inibidor Tecidual da Metalproteinase (“*Tissue Inhibitor of Metalloproteinase*”, em inglês)
- CHX** - Clorhexidine
- RNA_m** - Acido Ribonucleico (Ribonucleic Acid)
- PKC** – Proteína Quinase (Protein Kinase)
- TNF- α** – Fatores de necrose tumoral Alfa (Tumor Necrosis Factors Alpha)

GLOSSÁRIO

Bacillus subtilis - É uma bactéria Gram-positiva aeróbia facultativa com morfologia de bastonete, da família *Bacillaceae*

Bifidobacterium – É um tipo de bactéria anaeróbica e tem propriedades probióticas.

FomA – Proteína do envelope da bactéria *Fusobacterium nucleatum*

Lactobacillus – É um tipo de bactérias Gram-positivas anaeróbicas facultativas ou microaerofílicas, com a forma de bastonete.

Microbioma - É o conjunto de todos microorganismos que existem nos tecidos e fluidos do corpo humano, sendo composto essencialmente por bactérias, também incluindo alguns fungos e vírus.

RgpA – Protease de cisteína, conhecida como arginina-gingipaína A

Saccharomyces cerevisiae - É um organismo eucariota unicelular pertencente ao reino dos Fungos, sendo uma levedura utilizada no fabrico do pão e cerveja

Streptococcus – É um tipo de bactérias Gram-positivas em forma de coco que podem ser causadoras de doenças nos seres humanos.

Porphyromonas gingivalis - É uma bactéria Gram-negativa em forma de bacilo, sendo anaeróbica e patogénica

Weissella – É um tipo de bactérias Gram-positivas da família *Lactobacillaceae*, cuja morfologia inclui células esféricas ou lenticulares e bastonetes irregulares.

I. INTRODUÇÃO

A cavidade oral é um habitat ideal para o crescimento de diversas espécies de microbiomas que estabelecem um delicado equilíbrio entre elas. Em detalhes, o biofilme subgengival saudável é um microambiente que inclui bactérias gram-positivas e algumas espécies gram-negativas que se agregam em comunidades. Por outro lado, em condições disbióticas, como periodontite, esse equilíbrio entre gram-positivos e gram-negativos altera-se a favor de algumas espécies. A periodontite é uma doença inflamatória dos tecidos de suporte dos dentes, que leva à perda óssea e do ligamento periodontal.

A etiologia da periodontite compreende a presença de microrganismos, e sabe-se que sua patogênese depende da resposta imunoinflamatória mediada pelo hospedeiro, embora a interação entre o microbioma oral, a resposta do hospedeiro e o desenvolvimento da periodontite não seja completamente compreendida. A inflamação dos tecidos periodontais, juntamente com condições disbióticas do microbioma periodontal, também parece estar envolvidas na patogênese de diversas condições sistêmicas e distúrbios inflamatórios, degenerativos e neoplásicos, influenciando, por sua vez, o início e a progressão da periodontite. A taxa de progressão da periodontite é avaliada, diretamente, através dos dados clínicos e radiológicos (Nędzi-Góra et al., 2020)

Os tratamentos comuns para periodontite incluem tratamento não cirúrgico e cirúrgico, principalmente através de ação mecânica e ocasionalmente associado a antibióticos. Mais recentemente, alguns autores também sugeriram o uso de probióticos como adjuvantes na terapia de periodontite (Hardan et al., 2022).

Os probióticos são microrganismos vivos que, administrados em determinadas quantidades nos alimentos ou como suplementos alimentares, conferem benefícios à saúde do hospedeiro. Em particular, evidências *in vitro* e em animais destacaram que as preparações probióticas compostas por células mortas e seus metabólitos também podem exercer uma resposta biológica no hospedeiro. Na verdade, os probióticos foram utilizados pela primeira vez para o tratamento de doenças infecciosas e inflamatórias vaginais e intestinais.

Posteriormente, os probióticos também foram propostos na medicina dentária como adjuvantes no tratamento de cáries, gengivite, periodontite e candidíase. Embora o mecanismo de ação dos probióticos na cavidade oral ainda seja mal compreendido,

parecem atuar diretamente na degradação da placa dentária e modular indiretamente a resposta imune do hospedeiro (Gheisary et al., 2022a)

Os probióticos mais utilizados para doenças que afetam a cavidade oral compreendem Bifidobactérias e Lactobacilos, e diversas posologias e protocolos de administração foram testados e ainda estão em estudo para condições disbióticas da mucosa oral, dentária e dos tecidos periodontais em perspectivas preventivas e terapêutica (Beattie, 2024a)

II. DESENVOLVIMENTO

1. História da periodontite

A periodontite é considerada uma doença tão antiga desde que há registro histórico da humanidade. A avaliação histórica da patologia e terapêutica pode ser traçada através de uma variedade de achados arqueológicos de partes esqueléticas mais ou menos bem preservados, detalhe observados em múmias, instrumentos e equipamentos encontrados durante as investigações e evidências de gravuras e manuscritos diversos.

Estudos em paleopatologia têm indicado que doença periodontite destrutiva, evidenciada pela perda de osso, acompanhou os primeiros seres humanos em diversas culturas (Brkic's, 2021)



Figura 1: Maxilar evidenciando periodontite (Pavlic, 2016)

Desde cedo registros históricos que envolvem temas de medicina dentaria possuem vários capítulos que tratam da evolução da doença assim como o seu tratamento. Nas primeiras sociedades, desde que a religião foi difundida, a cura de qualquer doença dependia de expulsar espíritos malignos que se pensava causarem aquela doença em particular. Contudo, e ao contrário do que se possa pensar estes povos tinham hábitos de higiene oral, incluindo massagem gengival em combinação

com vários medicamentos fitoterapêuticos (Pavlic, 2016)

Quase todo o nosso conhecimento da medicina babilônica e assíria vem do barro. Tábuas da grande biblioteca do rei assírio Assurbanipal, inclui uma série de tratamentos para periodontite, e descreve-a como «os dentes de um homem estejam soltos» e era tratada com uma mistura de mirra, asafetida e opopanax, ou com recurso a terebintina de pinheiro esfregando os dentes até estes sangrarem (Pavlic, 2016)



Figura 2: Escritura egípcia sobre tratamento da peridontite (Pavlic, 2016)

Muitos papiros médicos egípcios, preservados nos museus da Europa fornecem vários detalhes sobre o uso de ervas e adjuvantes, como leite, mel, hortelã, sal e cerveja, por um lado e por outro, invocações mágicas, amuletos e outros dispositivos curativos.

As múmias de faraós egípcios confirmam que já sofriam de doença peridontite, evidenciando molares presos com pesado fio de ouro, indiciando que os egípcios recorriam à imobilização dos dentes soltos (Forshaw, 2009)

Durante o Renascimento, com a expansão intelectual das ideias da Roma antiga e da Grécia e desenvolvimento artístico, em relação à medicina dentaria, o método dos tratamentos mudou do recurso a técnicas naturais, para uma abordagem mais científica (Zlata Brkić, Verica Pavlić, 2016). As raízes da medicina científica estavam lançadas.

Leonardo da Vinci (1452-1519) foi um anatomista e dissecador original do corpo do ser humano. Foi o primeiro a apresentar com rigor em livro os primeiros desenhos

minuciosos dos dentes e estruturas associadas (Clayton, 2019).

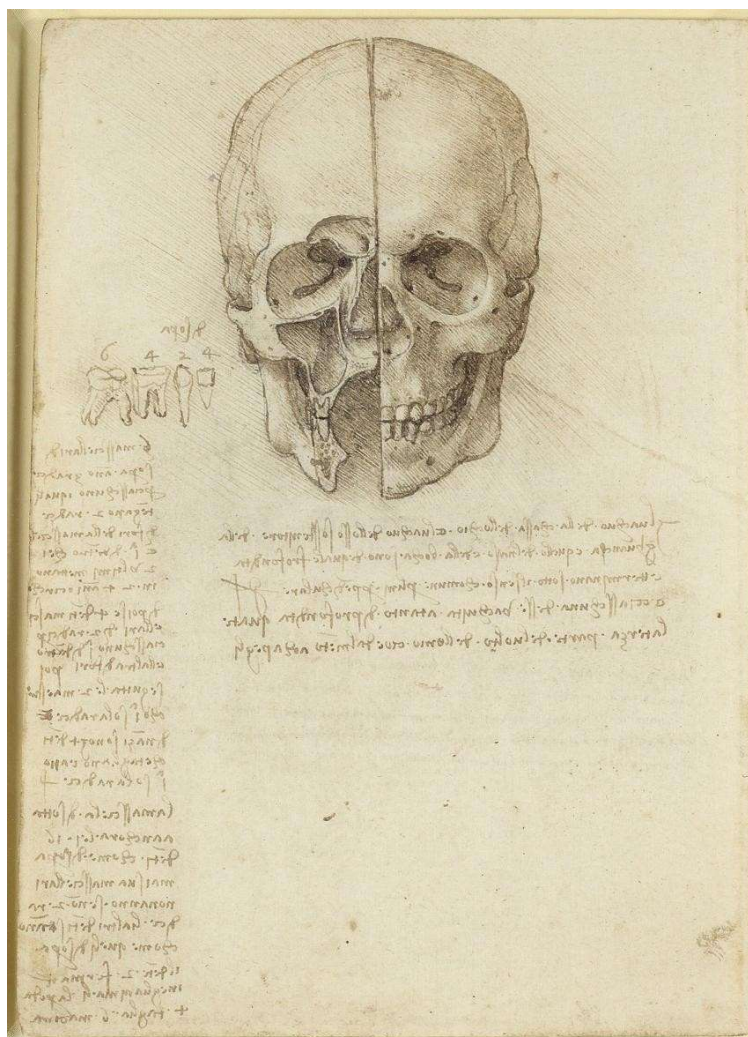


Figura 3: *Leonardo da Vinci: Anatomical drawings from the Royal Library, Windsor Castle* (Keele and Roberts, 1984, 2013)

A profissão de médico dentista moderna desenvolveu-se na Europa essencialmente no Séc. XVIII particularmente em Inglaterra e França. Durante este século foram feitas palestras científicas, publicados artigos onde os primeiros cirurgiões foram treinados especificamente em medicina dentaria (O'Sullivan, McGillicuddy, 2006).

Pierre Fauchard (1678-1761), o cirurgião francês ficou conhecido como o Pai da Medicina Dentaria, no seu livro *Le Chirurgien Dentiste* retratou todos os aspectos da medicina dentaria prática, incluindo medicina dentaria restauradora,

prótese, cirurgia oral , periodontologia e ortodontia. Fauchard descreveu detalhadamente os instrumentos periodontais que inventou. Além disso, Fauchard descreveu a técnica de utilização de instrumentos inventados, com a finalidade de "separar matéria dura ou tártaro dos dentes" e muitos medicamentos para "fortalecer as gengivas". Também sugeriu a imobilização dos dentes soltos com fio dourado (Julien Philippe, 2011).

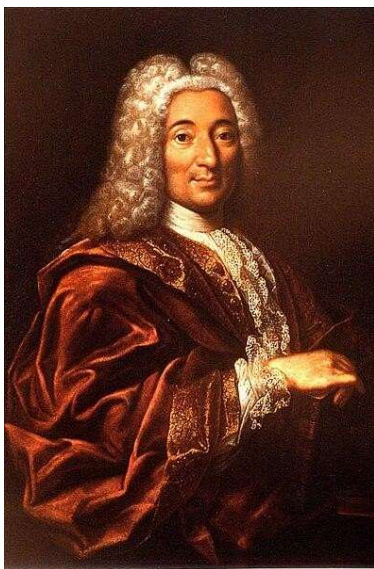


Figura 4: Imagem de Pierre Fauchard (Julien Philippe, 2011)

J. M. Riggs (1811-1885) foi o primeiro a estudar a doença periodontal. Desenvolveu o conceito da profilaxia e prevenção oral. Defendia a limpeza da boca e opunha-se à cirurgia, que na época consistia na ressecção gengival (Zlata Brkić, Verica Pavli, 2016). Posteriormente, L. Taylor, D. D. Smith, R. B. Adair e W. J. Younger inventaram instrumentos modernos utilizados até hoje (Zlata Brkić, Verica Pavli, 2016).

Adolf Witzel (1847-1906) foi o primeiro a identificar bactérias periodontais, no entanto o microbiologista oral Willoughby D. Miller (1853-1907), "Pai da prevenção dentária", foi quem estudou pormenorizadamente as características da doença periodontite e contribuição do desenvolvimento microrganismos da boca humana. Miller acreditava que a periodontite não era causada por uma, mas muitas espécies de bactérias presentes normalmente na boca (Ötzi, 2023)

Edmun Kells demonstra o uso de Raios-X em odontologia em 1896, descoberta esta, bem como a da anestesia mudaram drasticamente a história da odontologia (Hendee

WR, 1989).

Dados históricos de práticas anteriores foram de enorme importância para a compreensão no desenvolvimento da periodontologia a partir da antiguidade até aos tempos modernos. Desenvolvimentos de práticas anteriores tornaram a periodontologia moderna completamente diferente e muito mais bem-sucedida (Vieira CL, Caramelli B., 2009).

1.1. Periodontite

As doenças periodontais são doenças inflamatórias crônicas que destroem os tecidos ósseos e gengivais que sustentam os dentes, dos quais a gengivite e a periodontite são os tipos mais comuns. A gengivite é uma forma leve de doença periodontite, mas a progressão da gengivite não tratada pode levar a uma periodontite mais grave, criando bolsas periodontais profundas que podem em última análise, levar à perda dentária, o que tem um impacto marcante na vida dos pacientes. É relatado que, em 2019, existia 1,1 milhão de pacientes com periodontite grave em todo o mundo, e a prevalência de periodontite grave aumentou 8,44% de 1990 a 2019 (Chen et al., 2021).

Acredita-se que a placa dentária, que é um biofilme microbiano que se forma nos dentes e na gengiva, seja o fator das doenças periodontais. O entendimento da patologia dos biofilmes de placa dentária evoluiu ao longo do tempo, e várias hipóteses foram propostas na história, desde a "Hipótese da Placa Específica" (Loesche, 1976), a "Hipótese da Placa Não Específica" (Theilade, 1986), até a "Hipótese da Placa Ecológica" (Marsh, 1994). A periodontologia moderna, no entanto, não só se concentra na patologia, mas também enfatiza a interação entre as bactérias orais e o hospedeiro. Nos últimos anos, a "Keystone-Pathogen Hypothesis" (KPH) e o modelo de actuação e disbiose polimicrobiana (PSD) têm atraído uma enorme atenção. O KPH (Hajishengallis et al., 2012) referiu que certos periodontopatógenos pouco abundantes, como *Porphyromonas gingivalis*, poderiam enfraquecer o efeito bacteriológico do sistema imunitário do hospedeiro e promover uma resposta inflamatória deste, destruindo a homeostasia hospedeiro-microorganismo e o equilíbrio do microecossistema periodontite, e finalmente levar à ocorrência de doenças periodontais.

O modelo PSD (Hajishengallis e Lamont, 2012) enfatizou que a ação entre as

comunidades bacterianas e o distúrbio da resposta inflamatória do hospedeiro causava doenças periodontais e, além disso, o desequilíbrio ecológico e a resposta inflamatória poderiam se reforçar mutuamente e constituir os reais fatores impulsionadores destas doenças. De facto, a subversão da imunidade do hospedeiro pelas bactérias periodontais não origina apenas doenças periodontais, mas também contribui para a inflamação sistêmica (Hajishengallis, 2015).

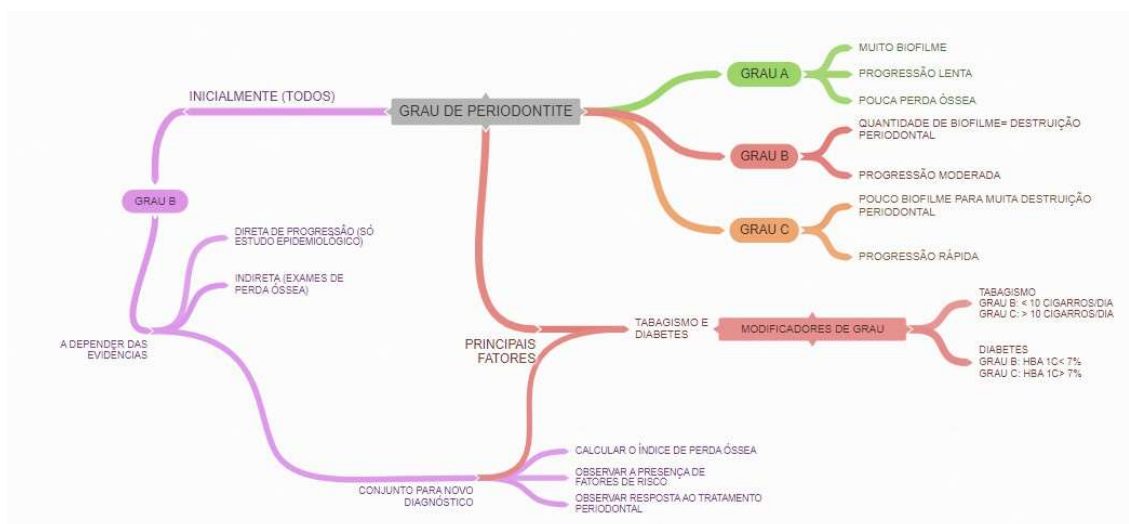


Figura 5: Grau de Periodontite (Hajishengallis, 2015)

Estudos sobre microrganismos existentes na boca mostram que existem mais de 700 espécies bacterianas colonizam esta cavidade (Kumar et al., 2005). No entanto, apenas algumas bactérias são comprovadamente iniciadoras e desenvolvem doenças periodontais, como por exemplo *P. gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Tannerella forsythia*, *Prevotella intermedia* e *Fusobacterium nucleatum* (Hajishengallis et al., 2012).

Com a ajuda de vários fatores de virulência que causam destruição direta aos tecidos periodontais ou estimulam as células do hospedeiro a ativar uma ampla gama de respostas inflamatórias esses agentes patogênicos destroem a homeostase hospedeiro-micróbio e causam ou promovem a ocorrência e o desenvolvimento de múltiplas doenças periodontais (Zhao et al., 2019).

No entanto a periodontite engloba um espectro de doenças, e o reconhecimento destas doenças requer um diagnóstico. O diagnóstico é efetuado através da observação de vários sinais e sintomas nos tecidos periodontais, exigindo um amplo conhecimento

do que constitui, a peri-saúde odontológica (Kinane et al., 2017a)



Figura 6: Peridontite (Denis F Kinane, Panagiota Stathopoulou, Panos N. Papapanou, 2017)

No periodonto saudável as gengivas podem ser observadas diretamente, e são descritas como sendo, rosa pálido ou rosa coral. Estão fortemente adaptadas aos tecidos subjacentes, e ao dente, onde a margem gengival está localizada. Na ausência de patologia, na junção cimento-esmalte, o rebordo, encontra-se numa cavidade gengival onde o dente encosta e, quando saudável tem 1–3 mm de profundidade, onde se observa uma pequena quantidade de fluido crevicular (Kinane et al., 2017a).

A parede lateral constitui a margem gengival livre. A maior parte do comprimento apical, que vai desde a gengiva livre até à junção gengival, tem entre 1 a 9 mm de largura. Este é um tecido imóvel firmemente ligado ao osso como um mucoperiostio, e é uma mucosa queratinizada bem adaptada para resistir a lesões (Kinane et al., 2017a).

A zona apical da junção mucogengival é contínua com a mucosa de revestimento da boca e a mucosa alveolar, que se encontra livremente e subjacente a um epitélio não queratinizado (Kinane et al., 2017a).

A forma mais comum de periodontite, causa edema e eritema nas gengivas e caso não seja tratada, levará à diminuição dos tecidos moles e ósseos, com a consequente perda dentária (Kinane et al., 2017a)

Todos podemos acumular placa bacteriana, pois sempre que se ingere alimentos ricos em amido ou em outros açúcares, estes interagem com as bactérias que existem naturalmente na boca. Ao escovar e usar fio dentário regularmente, evita-se o acumular

significativo de placa bacteriana, e visitas regulares ao dentista cuidam do pouco que é permitido formar (Milward MR, Chapple ILC, 2003).

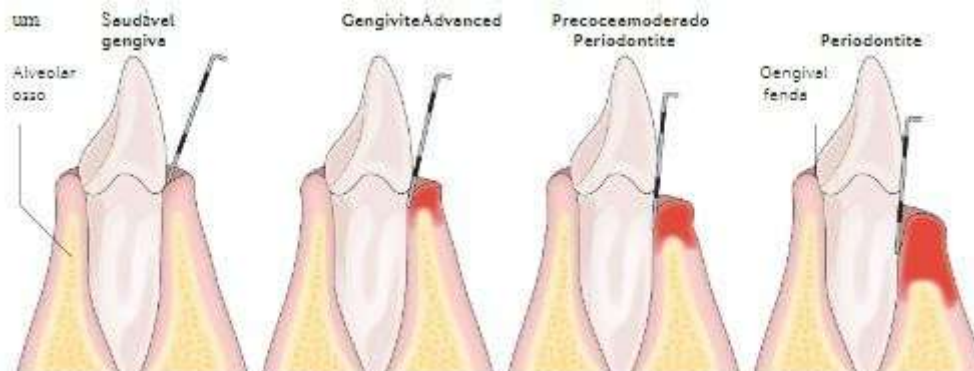


Figura 7: Evolução da doença (Denis F Kinane, Panagiota Stathopoulou, Panos N. Papapanou, 2017)

Infelizmente, quando a saúde oral é negligenciada, a placa endurece em tartaro ou cálculo e permanece nos dentes. O tártaro só pode ser removido com uma limpeza dentária profissional.

Quanto mais tempo ele permanece nos dentes, mais danos causa e mais contribui para a periodontite (Adler, C. J., Malik, R., Browne, G. V., Norris, J. M., 2016).

A acumulação de placa e tártaro causa gengivite, uma forma leve de doença periodontal, caracterizada por inflamação e irritação das gengivas ao redor da base do dente. É possível reverter a gengivite com cuidados odontológicos de rotina. No entanto, se não for tratada, eventualmente leva à periodontite (Adler, C. J., Malik, R., Browne, G. V., Norris, J. M., 2016).

As manifestações da periodontite incluem (Adler, C. J., Malik, R., Browne, G. V., Norris, J. M., 2016):

- Edema da gengiva
- Eritema vivo, vermelho escuro ou gengivas arroxeadas
- Gengivas friáveis
- Gengivorragias
- Retração gengival
- Halitose
- Dor ao mastigar

- Espaço entre os dentes
- Pus entre os dentes e a gengiva
- Mudanças na forma de encaixe dos dentes na boca

Os fatores que aumentam o risco de periodontite são:

- Má saúde gengival
- Má higiene oral
- Tabagismo
- Alterações hormonais, incluindo aquelas que ocorrem na adolescência e durante a gravidez e menopausa
- Idade
- Deficiências nutricionais
- Obesidade
- Genética
- Alguns medicamentos
- Doenças autoimunes
- HIV/Sida
- Certos tratamentos oncológicos
- Diabetes
- Artrite reumatóide
- Doença de Crohn

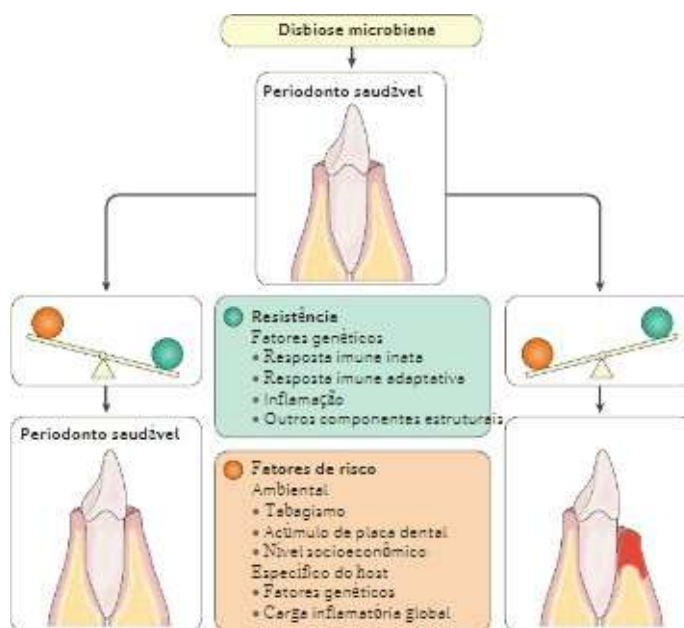


Figura 8: Fatores de risco de periodontite (Adler, C. J., Malik, R., Browne, G. V., Norris, J. M., 2016)

1.1.1. Microbioma

O conjunto de microrganismos que habitam no corpo humano desempenham papéis essenciais para a manutenção de um equilíbrio correspondente a um estado de saúde (Mohajeri, M. H., Brummer, R. J. M., Rastall, R. A., Weersma, R. K., Harmsen, H. J. M., Faas, M., et al., 2018).

O Projeto Microbioma Humano, apoiado pelos Institutos Nacionais de Saúde (NIH) de 2007 a 2016, desempenhou um papel fundamental nesta pesquisa, mapeando as bactérias normais que vivem no corpo humano saudável. Com a compreensão de um microbioma normal como base, investigadores de todo o mundo, incluindo muitos apoiados pelo NIH, encontram-se a investigar as associações entre mudanças no microbioma e várias doenças. Eles também estão a desenvolver novas abordagens terapêuticas projetadas para modificar o microbioma para tratar doenças e apoiar a saúde (Mohajeri, M. H., Brummer, R. J. M., Rastall, R. A., Weersma, R. K., Harmsen, H. J. M., Faas, M., et al., 2018).

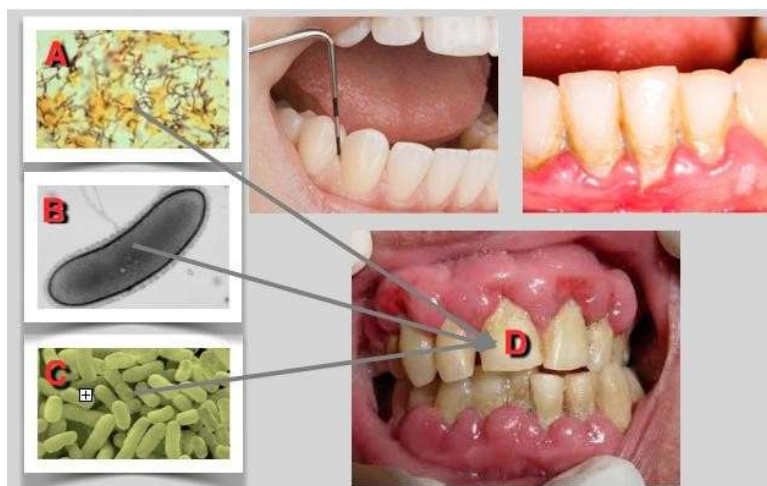


Figura 9: Bactérias associadas à Periodontite: A) Treponema, B) Selemonas, C) Prevotella. D) Periodontite (Applied and Environmental Microbiology, artigo original: www.sciencedaily.com/releases/2016/08/160812151854.htm)

2. Probióticos

Probiótico é uma palavra que deriva do latim “*pro*” e do grego “*bios*”, que significa “para a vida”. Muito antes da consciencialização dos microrganismos probióticos, produtos fermentados, como cerveja, pão, vinho, kefir, kumis e queijo, eram muito utilizados para fins nutricionais e terapêuticos. Acredita-se amplamente que os produtos fermentados foram provavelmente descobertos espontaneamente.

Conta a lenda que iogurte é provavelmente o resultado de um processo de fermentação dentro das bolsas de pele animal usadas para transporte de água e leite em regiões com baixa humidade e altas temperaturas (Ásia Média e Oriente Médio) (Abusleme, L., Dupuy, A. K., Dutzan, N., Silva, N., Burleson, J. A., Strausbaugh, L. D., et al. 2013).

Como já foi posteriormente referido as doenças periodontais são uma das doenças inflamatórias crónicas mais comuns da cavidade oral, que são iniciadas e sustentadas por biofilmes patogénicos da placa. De enorme importância para a periodontologia moderna é o modo de actuação da microecologia peridontite e a da resposta inflamatória do hospedeiro que origina a degradação dos tecidos periodontais no conjunto, afetando seriamente a qualidade de vida dos pacientes (Nyvad, B., Takahashi, N., 2020).

O termo probiótico foi proposto por Lilly e Stillwell em 1965, definido como

"fatores promotores de crescimento produzidos por microrganismos" (Lilly e Stillwell, 1965). Desde então, a definição de probiótico mudou várias vezes até que a OMS e a Organização das Nações Unidas para a Alimentação e a Agricultura (FAO), em 2002, chegaram a uma nova definição que foi geralmente aceita: probióticos são "microrganismos vivos que podem ter um efeito benéfico sobre o hospedeiro quando tomados em doses suficientes" (Hill et al., 2014). A origem dos probióticos encontra-se na literatura antiga, desde os antigos registros romanos. Plinius Secundus Maior escreveu que os produtos lácteos fermentados são benéficos para a cura do estômago. No início do século XX, Elie Metchnikoff, vencedor do Nobel, escreveu em "O Prolongamento da Vida" que os búlgaros viviam mais do que os outros porque bebiam leite fermentado (Metchnikoff, 1907). Através do estudo da flora intestinal humana, concluiu que produtos nocivos de algumas bactérias poderiam ser uma razão para o envelhecimento, e recomendou leite fermentado por *Lactobacillus* para evitar os efeitos nocivos de produtos bacterianos (Metchnikoff, 1907).

Os probióticos inicialmente foram usados para tratar doenças intestinais. Estudos têm mostrado que eles podem ajudar a controlar infecções intestinais, aliviar a obstipação e diarreia, melhorar a intolerância à lactose, entre outras patologias (Lourenshattingh e Viljoen, 2001). Os efeitos benéficos dos probióticos definidos pela OMS e FAO não são apenas ao nível do tubo digestivo, mas também sobre outros sistemas do corpo. Na verdade, muitos probióticos têm demonstrado desempenhar um papel na manutenção de um sistema urogenital saudável e no combate a certas doenças cancerígenas, diabetes, obesidade e alergias (Waigankar e Patel, 2011; Sunita et al., 2012; Kang et al., 2013; Takeda et al., 2014; Kahouli et al., 2015). Nas últimas décadas, inúmeros estudos também exploraram a aplicação de probióticos no tratamento de doenças orais e na saúde oral. Atualmente, verifica-se que os probióticos que contribuem para a saúde oral estão concentrados nos gêneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus* e *Weissella*, bem como certas espécies dispersas como *Bacillus subtilis* e *Saccharomyces cerevisiae*. Várias espécies de *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus brevis*, *Streptococcus salivarius*, etc., foram produzidas comercialmente como probióticos promotores de saúde oral, todos micro-organismos isolados da cavidade oral (Allaker e Stephen, 2017; Mahasneh e Mahasneh, 2017).

Efeitos dos probióticos na melhoria da saúde oral têm sido observados em doenças orais comuns, como cárie dentária, doenças periodontais, infecção oral por cândidas e halitose (Ince et al., 2015; Ohshima et al., 2016; Yoo et al., 2019;

Sivamaruthi et al., 2020).

Ao analisar os estudos e dando foco à ação dos probióticos no tratamento da periodontite, observamos que a maioria referiu-se a quatro periodontopatógenos: *P. gingivalis* (na periodontite crónica), *A. actinomycetemcomitans* (na periodontite agressiva), *P. intermedia* (na gengivite gestacional, gengivite moderada e grave, gengivite necrosante aguda e periodontite crónica) e *F. nucleatum* na (periodontite crónica e gengivite ulcerativa necrosante aguda), indicando que os probióticos periodontais são frequentemente relacionados ou aplicados a doenças periodontais específicas impulsionadas por eles.

Embora muitas vezes se pense em bactérias e outros microrganismos como "germes" nocivos, muitos são realmente úteis. Algumas bactérias ajudam a digerir alimentos, destruir células causadoras de doenças ou produzir vitaminas. Muitos dos microrganismos em produtos probióticos são iguais ou semelhantes aos microrganismos que vivem naturalmente no nosso organismo (Abusleme, L., Dupuy, A. K., Dutzan, N., Silva, N., Burleson, J. A., Strausbaugh, L. D., et al. 2013).

2.1. Bactérias nos Probióticos

Os probióticos podem conter uma variedade de microrganismos, sendo os mais comuns as bactérias que pertencem a géneros chamados *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*. Outras bactérias também podem ser usadas como probióticos, assim como leveduras como *Saccharomyces boulardii* (Abusleme, L., Dupuy, A. K., Dutzan, N., Silva, N., Burleson, J. A., Strausbaugh, L. D., et al., 2013).

Diferentes tipos de probióticos podem ter efeitos diferentes. Por exemplo, se um tipo específico de *Lactobacillus* ajuda a prevenir uma doença, isso não significa necessariamente que outro tipo de *Lactobacillus* ou qualquer um dos probióticos *Bifidobacterium* terá o mesmo efeito (Abusleme, L., Dupuy, A. K., Dutzan, N., Silva, N., Burleson, J. A., Strausbaugh, L. D., et al., 2013). Em 2012, o National Health Interview Survey (NHIS) mostrou que cerca de 4 milhões (1,6%) de adultos dos EUA usaram probióticos ou prebióticos nos últimos 30 dias.

Entre os adultos, os probióticos ou prebióticos foram o terceiro suplemento dietético mais utilizado, além de vitaminas e minerais. O uso de probióticos por adultos quadruplicou entre 2007 e 2012. O NHIS de 2012 também mostrou que 300.000 crianças de 4 a 17 anos (0,5%) usaram probióticos ou prebióticos nos 30 dias anteriores à

pesquisa (National Health Interview Survey, 2012).

2.2. Modo de atuar de um probiótico

Os probióticos podem ter uma variedade de efeitos no corpo, e diferentes probióticos podem agir de maneiras diferentes (Oliveira, E.B.; Oliveira, A.; Oliveira, A.; Oliveira, A.; Oliveira, W., 2017).

Os probióticos podem:

- Ajudar o corpo a manter uma comunidade saudável de microrganismos ou ajudar a comunidade de microrganismos do seu corpo a retornar a uma condição saudável depois de ser perturbado
- Produzir substâncias que tenham efeitos desejáveis
- Influenciar a resposta imunológica do seu corpo.

3. Aplicação de probióticos na periodontite

Há um interesse crescente no uso de probióticos na terapia periodontal e no cuidado da periodontite. Os estudos publicados revelaram que os probióticos poderiam efetivamente inibir os periodontopatógenos e melhorar vários índices clínicos relacionados à saúde periodontal, incluindo índice de placa (IP), índice gengival (IG), sangramento à sondagem (BOP), profundidade da bolsa periodontal (PPD), perda de inserção clínica (NIC) e volume do líquido crevicular gengival (GCF), bem como marcadores bioquímicos associados à inflamação, como interleucina (IL)-1 β , metaloproteinase da matriz (MMP)-8 e inibidor tecidual de metaloproteinase (TIMP)-1. Embora existam várias formas de probióticos aplicados no manejo de doenças periodontais, como comprimidos, colutórios e pasta dentária, os probióticos comercializados e estudados na terapia periodontal são geralmente transformados em comprimidos, enquanto os probióticos nas formas de enxaguante bucal e creme dental são frequentemente aplicados na assistência à saúde periodontite (Nyvad, B., Takahashi, N., 2020).

Alguns estudos têm-se focado no papel dos probióticos no cuidado periodontite. A investigação de um dentifrício probiótico poderia prevenir cárie e doenças periodontais de forma mais eficaz do que o dentifrício não probiótico. A capacidade do dentifrício de inibir bactérias era ainda melhor do que a do elixir oral. Especulava-

se que o dentifrício poderia entrar em contato com a superfície dentária por mais tempo, e seria fácil entrar no suco gengival com a ajuda de uma escova de dentes (Amizic et al., 2017). No entanto, um outro estudo teve uma conclusão diferente. Quarenta pacientes com gengivite foram recrutados e divididos em 2 grupos, usando placebo ou pasta de dentes contendo probiótico experimental, pasta de dentes contendo *B. subtilis*, *Bacillus megaterium* e *Bacillus pumilus*, por 8 semanas. Após avaliação de IP, GI, PPD e BOP no início e após as 8 semanas, verificou-se que houve diferença entre os grupos, sugerindo que probióticos geneticamente distintos talvez tenham efeitos diferentes na periodontite (Alkaya, et al, 2016).

Alguns investigadores avaliaram os efeitos a curto e longo prazo dos probióticos como terapia complementar para o tratamento periodontite não cirúrgico. Por exemplo, num estudo com 51 voluntários periodontais saudáveis receberam pela primeira vez terapia periodontite não cirúrgica e, 7 dias depois (linha de base), foram divididos em dois grupos que receberam iogurte contendo placebo ou *Bifidobacterium animalis* subsp (Kuru et al, 2017)

O volume de PI, GI, BOP, PPD, GCF, quantidade total e concentração de IL-173010 β no GCF foram medidos nos dias 28 (basal). Foi relatado que não houve diferença intergrupos detetada no dia 0 e no dia 28. No entanto, após a formação de placa bacteriana, todos os parâmetros no grupo probiótico foram significativamente melhores do que aqueles no grupo placebo no dia 33, indicando que o uso a curto prazo de probióticos tem um efeito positivo sobre a formação de placa bacteriana e parâmetros inflamatórios gengivais, mesmo sem medidas de higiene oral. Os benefícios clínicos a longo prazo do probiótico foram comprovados por Ince et al. Trinta pacientes com periodontite crônica receberam aleatoriamente pastilha contendo *L. reureter* ou placebo duas vezes ao dia após a raspagem e alisamento radicular (SRP), e os parâmetros clínicos foram analisados no início e nos dias 21, 28, 33, após o SRP. Verificou-se que o PI, GI, BOP e PPD do grupo probiótico foram muito melhores do que os do grupo placebo em todos os pontos de tempo. A diminuição da MMP-90 e o aumento dos níveis de TIMP-180 no GCF foram significativos até o dia 360. A partir do 8º dia, os valores médios de ganho de apego foram significativamente maiores no grupo probiótico (Ince et al., 1). Em suma, sobre os efeitos do uso de probióticos como terapia suplementar após o tratamento periodontite não cirúrgico por 180-90 dias, Kumar e colaboradores concluíram que os probióticos poderiam ajudar a reduzir significativamente a LCFA em bolsas periodontais moderadamente profundas. No entanto, os três dos quatro estudos

incluídos na análise mostraram heterogeneidade significativa, embora o risco de retrocesso fosse baixo (Kumar e Madurantakam, 2015). Estudos têm sugerido que aplicações a curto e longo prazo de probióticos podem alcançar certos benefícios clínicos (Kumar e Madurantakam, 2015).

3.1. Espécies Probióticas Promotoras de Saúde Periodontal e seus efeitos

Os mecanismos dos probióticos que promovem a saúde periodontite ainda não são totalmente conhecidos. No entanto, uma quantidade considerável de resultados de pesquisas de ensaios clínicos, experiências com animais e *in vitro* revelaram que os probióticos conferem benefícios à saúde periodontal, regulando o microbioma ou as respostas imunitárias através de vários mecanismos. Especificamente, efeitos reguladores de vários probióticos promotores de saúde periodontite, que pertencem principalmente aos gêneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus* e *Weissella*, bem como os probióticos recombinantes emergentes, têm sido amplamente estudados. Para os gêneros *Lactobacillus* e *Streptococcus*, espécies probióticas cujos efeitos na periodontite foram descritos em vários artigos de pesquisa nos últimos 5 anos, sendo escolhidos como os probióticos típicos (Zhao et al., 2011).

3.1.1. *Lactobacillus*

Lactobacillus pode ser uma bactéria do tipo de gram-positivo anaeróbio facultativo ou bactéria anaeróbia que coloniza o sistema digestivo, sistema urinário, e o sistema reprodutor. Probióticos derivados do gênero *Lactobacillus* têm sido utilizados na prevenção e tratamento da periodontite, sendo maioritariamente as espécies probióticas promotoras de saúde periodontite atualmente conhecidas (Zhao et al., 2011)

3.1.1.1. *Lactobacillus acidophilus*

Os estudos de *L. acidophilus* promotor de saúde periodontal estão a ser efetuados em experiências *in vitro*. *L. acidophilus* desempenha um papel importante na inibição da proliferação de *P. gingivalis* *in vitro*, e na regulação da interação entre *P. gingivalis* e células epiteliais gengivais (GEC) (Zhao et al., 2011; Zhao et al., 2012; Zhao et al.,

2019). *L. Acidófilo* O ATCC 4356 poderia compensar o processo pós-inflamatório induzido por *P. gingivalis* ATCC 33277 os níveis de proteína e RNAm, e poderia contrariar os efeitos reguladores de *P. Gingivalis* sobre a proliferação e apoptose do GEC de forma dose-dependente (Zhao et al., 2012; Zhao et al., 2019). Recentemente, observou-se que *L. acidophilus* LA5 regula negativamente múltiplos fatores de virulência de *P. gingivalis*. (Ishikawa et al., 2020).

L. acidófilo O ATCC 4356 evidência efeitos reguladores sobre diferentes espécies de *F. nucleatum*, inibe a virulência e a capacidade de aderência da *F. nucleatum* ou reduz os níveis de citocinas em células epiteliais orais estimuladas por *F. nucleatum*. De notar que *L. acidophilus* ATCC 4356 vivo e morto por ação do calor têm capacidade de aderência semelhante às células KB e HOK, e em ambas as formas não afetam a viabilidade das células (Ding et al., 2021). O *L. acidophilus* ATCC 4356 vivo demonstrou diminuir a produção de IL-6 em células KB ativadas por *F. nucleatum* ATCC 10953 (Kang et al., 2011). Um estudo recente, observou-se que *L. acidophilus* ATCC 4356, morto pelo calor, regula negativamente a expressão de IL-6/8 em células KB e HOK ativadas por *F. nucleatum* ATCC 23726, co-agregam com *F. nucleatum* ATCC 23726 e ATCC 25586, e inibem a expressão de seu fator de virulência *fap2* envolvido na aderência e proliferação, interferindo assim *F. nucleatum* autoagregação e adesão às células epiteliais, ou seja uma outra maneira de inibir o *F. nucleatum* infectando as células epiteliais da boca. O *L. acidophilus* ATCC 4356 morto pelo calor atraiu interesse, pois pode evitar resistência a drogas e disbiose, o que o pode tornar mais seguro (Ding et al., 2021).

3.1.1.2. *Lactobacillus reuteri*

Muitas investigações *in vitro* comprovaram os efeitos inibidores da *L. reuteri* sobre os periodontopatogénios, o que provavelmente é atribuído aos seus subprodutos específicos, como a reuterina, que é um antibiótico não proteico de largo espectro e que pode suprimir o crescimento de muitas bactérias gram-positivas/negativas, leveduras e fungos (Stevens et al., 2011). A *L. reuteri* o ATCC PTA 5289 é um bom inibidor de muitos periodontopatógenos, incluindo *P. gingivalis* ATCC 33277, *P. intermedia* ATCC 25611 e *F. nucleatum* ATCC 25586, exceto *A. actinomycetemcomitans* ATCC 33384 (Jansen et al., 2021). Quanto às formas dos probióticos, sejam *L. reuteri* PTA 5289 e DSM 17938 vivos ou as suas SFC,

mostraram inibição sobre *P. gingivalis* ATCC 33277 e *F. nucleatum* ATCC 25586, enquanto apenas a forma viva das duas *L. reuteri* atenuou o crescimento de *A. actinomycetemcomitans* ATCC 29522 *in vitro* (Geraldo et al., 2020; Santos et al., 2020). Outra subespécie, *L. reuteri* ATCC 55730, também inibiu o crescimento de *F. nucleatum* ATCC 10953, *P. gingivalis* ATCC 33277 e *A. actinomycetemcomitans* ATCC 33384 e protegeu células HOK infectadas pelos agentes patológicos periodontais (Moman et al., 2020). Além disso, o exopolissacarídeo (EPS) produzido por *L. reuteri* DSM 17938 beneficia da sua elevada aderência às células epiteliais para competir com bactérias patogênicas por sítios de adesão (Kšonžeková et al., 2016).

3.1.2. *Streptococcus salivarius*

Os efeitos reguladores de *S. Salivarius* sobre muitos periodontopatógenos têm sido observados em experiências *in vitro*. *S. salivarius* M18 e mostram inibição para os periodontopatógenos comuns incluindo *P. gingivalis* ATCC 33277, *P. intermedia* ATCC 25611, *F. nucleatum* ATCC 25586 e *A. Actinomycetemcomitans* ATCC 33384 (Jansen et al., 2021). Outra espécie de *S. salivarius* K12 apresenta efeitos inibitórios distintos sobre *P. intermedia* ATCC 25611, *A. actinomycetemcomitans* ATCC 33384, *F. nucleatum* ATCC 10953 e *P. gingivalis* ATCC 33277 (Moman et al., 2020; Jansen et al., 2021). *S. salivarius* K12 pode aumentar a viabilidade de células HOK infectadas por *P. gingivalis* e *F. nucleatum*, aumentando assim a capacidade de defesa do epitélio (Moman et al., 2020). Além de M18 e K12, o TOVE de *S. salivarius* poderia causar redução de 1,5% e 71,3% da adesão de *A. Actinomycetemcomitans* por pré-colonização das células epiteliais (Sliepen et al., 2009), além de inibir a adesão de *P. gingivalis* e *P. intermedia* (Van Hoogmoed et al., 2008).

Espécies probióticas de *S. salivarius* também são encontradas para regular as respostas imunes em experimentos *in vitro*. *S. salivarius* K12 e M18 poderiam inibir a ativação imune por periodontopatógenos e reduzir os níveis de IL-6/8 em fibroblastos gengivais humanos estimulados por *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* e *F. nucleatum* quando *S. salivarius* é co-incubado com agentes patogênicos e fibroblastos simultaneamente ou *S. salivarius* é pré-tratado com fibroblastos antes da infecção (Adam et al., 2011; MacDonald et al., 2021).

3.1.3. *Weissella*

Weissella é um tipo de bactéria anaeróbias facultativas gram-positivas que é classificadas do género *Lactobacillus* e surge numa múltipla variedade de habitats, incluindo saliva humana, leite materno, intestinos, fezes, vagina e pele. Entre eles, estão patógenos oportunistas e bactérias probióticas com efeitos benéficos, como as das atividades antibacterianas (Srionnual et al., 2007), atividades antifúngicas (Quattrini et al., 2020) e imunorregulação (Lee et al., 2013). Certas espécies de *Weissella* probióticas, como as espécies *Weissella cibaria*, demonstraram desempenhar um papel na inibição da cárie dentária, halitose e doenças periodontais (Kang et al., 2006a; Kang et al., 2006b; Jang et al., 2016; Do et al., 2019; Kim et al., 2020).

3.1.3.1. *Weissella cibaria*

Algumas espécies de *W. cibaria* têm mostrado forte atividade antibacteriana contra periodontopatógenos em investigações *in vitro*. Verificou-se que *W. cibaria* CMU, CMS2 e CMS3 unem-se mais facilmente com *F. nucleatum*, cuja proliferação foi diminuída em ciclos como resultado (Kang et al., 2006b). Obtiveram-se resultados consistentes, pois 95% de *P. gingivalis* e *F. nucleatum* foram inibidos devido à coagregação com *W. cibaria* CMU (Jang et al., 2016). Pode-se assim inferir que a junção com *W. cibaria* não interfere na colonização de agentes patogénicos periodontais, mas suprime o seu crescimento. *W. cibaria* A SFC também foi encontrada contra os mesmos, o que está relacionado principalmente ao pH ácido, na presença do grupo hidróxilo e à secreção de proteínas específicas com atividades antimicrobianas (Lim et al., 2018). Ácidos orgânicos, incluindo ácido láctico, ácido acético, ácido cítrico, ácidos gordos e ácido oleico, podem interferir com o metabolismo básico destes e inibir o crescimento de *P. gingivalis* KCTC 5352, *F. nucleatum* KCTC 2488 e *P. intermedia* ATCC 25611. Além disso, o peróxido de hidrogénio (H₂O₂) na SFC foi capaz de suprimir *P. gingivalis* e *P. intermedia*, e *W. cibaria* CMU foi a que produziu mais H₂O₂ em probióticos comerciais para saúde oral (Lim et al., 2018). Por outro lado, os compostos semelhantes à bacteriocina (BLCs) da SFC, N-acetilmuramidase, foram apenas negativos à *P. gingivalis* de forma eficaz,

ligando-se às paredes celulares e causando lise (Lim et al., 2018). Em experiências feitas em animais, a aplicação de *W. cibaria* reduziu significativamente a quantidade de placa bacteriana; o nível de *F. nucleatum*, *P. gingivalis*, *P. intermedia* e *T. forsythia* na cavidade oral, e o nível de *P. gingivalis* nos tecidos gengivais (Do et al., 2019; Kim et al., 2020). Um ensaio clínico recente indicou que tomar *W. cibaria* CMU por 8 semanas reduziu significativamente *F. nucleatum* no GCF (Kang et al., 2020), correspondendo à sua forte capacidade de co-agregação com *F. nucleatum in vitro* (Kang et al., 2006).

A *W. cibaria* também foi observada para regular a resposta inflamatória em experiências *in vitro*. *W. cibaria* A UMC poderia reduzir a produção de IL-6 e IL-8 em células KB ativadas por *F. nucleatum*, bem como a ligação celular de *F. nucleatum*, enquanto a viabilidade e a co-agregação da CMU de *W. cibaria* podem não desempenhar um papel essencial neste processo (Kang et al., 2011). A atividade anti-inflamatória da CMU de *W. cibaria* está relacionada à inibição da ativação do NF- κ B em resposta à estimulação periodontopatogénica e à produção de NO. Em macrófagos RAW 264.7 estimulados por *A. actinomycetemcomitans* ATCC 3338 inativado por formalina, *W. cibaria* CMU diminuiu a expressão de NO sintase induzível (iNOS) e o RNAm de IL-1 β e IL-6 para reduzir a produção de NO. A inibição da fosforilação do inibidor de NF- κ B α (I κ B α) quinase (PKC), a degradação de I κ B α e a translocação nuclear de p65 também foram observadas em macrófagos RAW 264.7 tratados com *W. cibaria* CMU (Kim et al., 2020). Em animais, a CMU de *W. cibaria* diminuiu o nível de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α , IL-1 β e IL-6) e anti-inflamatórias (IL-10) (Kim et al., 2020).

3.2. Combinação de Probióticos

Além da aplicação de formas convencionais, como os probióticos vivos, mortos, liofilizados e os probióticos CFS, a combinação de probióticos produzidos em engenharia genética poderiam expressar substâncias antibacterianas mais diversas e apresentar uma maior atividade antibacteriana. Uma espécie recombinante de *Lactobacillus paracasei* foi construída por Marcotte et al., para expressar fragmentos de anticorpos de cadeia única (scFv) contra RgpA gingipain, um fator de virulência de *P. gingivalis*, para co-agregar com *P. gingivalis*; a atividade antibacteriana de *L. paracasei* não foi prejudicada. Evidência-se que a coagregação

pode facilitar a colonização de *P. gingivalis* através da união de *L. paracasei*, mas o agente patológico pode ser morto pela alta concentração local de substâncias antibacterianas secretadas por *L. paracasei* (Marcotte et al., 2006). Em 2013, Ma et al., descreveram um *L. acidophilus* recombinante, em algumas espécies, as quais mostraram características benéficas periodontais, expressando a proteína FomA da membrana externa de *F. nucleatum*. A espécie recombinante de *L. acidophilus* poderia estimular os anticorpos contra a proteína FomA para prevenir a infecção de *F. nucleatum* e seus agentes patológicos coagregados como *P. gingivalis* em tecidos periodontais (Ma et al., 2013).

Estudos em animais comprovaram que a administração oral do *L. acidophilus* recombinante reduziu a infecção por *F. nucleatum* e *P. gingivalis* (Ma et al., 2013). Particularmente, a combinação do *L. acidophilus* apresenta atividade antibacteriana e sensibilidade antibiótica semelhantes ao *L. acidophilus*, e sua capacidade interação é ainda melhorada (Ma et al., 2018). Nestes estudos, o genoma de probióticos parentais é modificado por técnicas de engenharia genética para construir cepas recombinantes de probióticos com novas características genéticas, fornecendo uma nova ideia para o desenvolvimento e aplicação de probióticos (Ma et al., 2018).

Devido ao uso excessivo de antibióticos, a resistência bacteriana torna-se grave dia após dia. Portanto, há uma necessidade urgente de encontrar alternativas aos antibióticos. Nesse contexto, Shah et al., compararam os efeitos dos probióticos e antibióticos como terapias suplementares do tratamento periodontite não cirúrgico (Shah e Gujjari, 2017). Eles recrutaram 18 pacientes com periodontite agressiva e os dividiram em 3 grupos após SRP, que receberam *L. brevis* CD2, *L. brevis* CD2 com doxiciclina ou doxiciclina isolada por 14 dias. PI, GI, PPD, CAL e níveis salivares de *Lactobacillus* e *A. actinomycetemcomitans* foram medidos no início do estudo, 14 dias, 2 meses e 5 meses. Foi relatado que o IG nos três grupos melhorou significativamente nos 5 meses, e os resultados intergrupos também foram estatisticamente significativos. Além disso, *L. Brevis* CD2 mostrou um efeito semelhante à doxiciclina, mas um efeito sinérgico não foi detectado quando o probiótico e a doxiciclina foram administrados simultaneamente. Concluiu-se que *L. Brevis* CD2 pode ser usado como uma alternativa aos antibióticos para o tratamento da periodontite agressiva, sem o risco de promover resistência aos antibióticos (Pride, D. T., Salzman, J., Haynes, M., Rohwer, F., Davis-Long, C., White, R. A., et al., 2012).

O bactericida de amplo espectro CHX é amplamente utilizado na terapia clínica odontológica. Em um estudo comparando os efeitos de CHX, probióticos e ervas, 45 voluntários saudáveis foram divididos aleatoriamente em três grupos e usaram elixir oral CHX, elixir oral probiótico ou à base de plantas por 14 dias. O elixir oral probiótico continha *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Bifidobacterium longum*, *Saccharomyces boulardii*; o elixir de ervas continha *Belleric Myrobalan* (*Bibhitaki*), *Betel* (*Nagavalli*) e *Meswak* (*Salvadora Persica*). IP, IG e Índice de Higiene Oral Simplificado (IHO-S) foram recolhidos nos dias 0, 7 e 14. Os efeitos de todos os três tipos de elixires demonstraram ser semelhantes, e houve poucos efeitos colaterais relatados, sugerindo que tanto o elixir probiótico quanto o elixir à base de ervas são substitutos eficazes ao elixir CHX (Deshmukh et al., 2017).

3.3. Alternativas aos antibióticos

Embora estudos tenham sugerido que os probióticos são benéficos para a saúde periodontite, a eficácia destes na periodontite ainda é controversa. Mesmo nos estudos que utilizaram as mesmas bactérias probióticas, as melhorias observadas nas medidas clínicas, inflamação e microbiota relacionadas às doenças periodontais não são consistentes. As causas das observações e conclusões conflitantes sobre a eficácia dos probióticos em diferentes pesquisas em saúde periodontite são complicadas e diversas Ramseier (C. A., Kinney, J. S., Herr, A. E., Braun, T., Sugai, J. V., Shelburne, C. A., et al., 2009).

Inúmeros fatores são considerados na observação e conclusão dos resultados da pesquisa probiótica, tais como espécies probióticas, dosagem ou modos de administração, tamanho da amostra, a combinação de diferentes probióticos, e tempo de reação. Num ensaio clínico efectuado a 8 pacientes com periodontite foram incluídos, divididos uniformemente em dois grupos após o SRP (basal). Uns receberam placebo, outros um comprimido probiótico contendo *S. oralis* KJ3, *Streptococcus uberis* KJ2 e *Streptococcus rattus* JH145 duas vezes ao dia durante 12 semanas (Laleman et al (2015). Não houve diferença significativa nos índices clínicos entre o grupo a que foi administrado probiótico e o grupo controle nos períodos basais, de 12 semanas ou 24 semanas. No entanto, uma análise *post hoc* realizada revelou que foram necessários oito vezes mais pacientes para mostrar uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos para DPP em 12 semanas. Os resultados

do estudo indicam que o tamanho da amostra não é um fator desprezável e que afeta as observações de estudos com probióticos. Além disso, para diferentes espécies probióticas, a dose efetiva e o melhor modo de aplicação devem ser considerados ao estudar os efeitos dos probióticos na atuação na periodontite. Dose ou modo inadequado na aplicação de probióticos pode resultar na falha na obtenção dos resultados esperados e conclusões corretas (Laleman et al., 2015).

No entanto, até agora, não há referências suficientes para determinar a dose eficaz e o modo de aplicação para inúmeras espécies probióticas. Quanto à combinação de probióticos, *L. reuteri* DSM 17938 poderia regular *L. reuteri* ATCC PTA 5289 para estabilizar sua atividade antibacteriana (Jansen et al., 2021).

3.4. Eficácia dos probióticos na periodontite

A atividade antibacteriana de *P. gingivalis* está relacionada à dupla ou tripla combinação de *B. longum*, *B. lactis* e *Bifidobacterium infantis*. O crescimento de *P. gingivalis* foi inibido em 41,8% com exposição a *B. longum* com *B. lactis* e 50,1% à combinação tripla (Argandoña Valdez et al., 2021). Além disso, o tempo de reação é outro fator, já que 11,3% de *F. nucleatum* mostrou ser suprimido em 24 h após a exposição a probióticos, e as taxas de inibição de crescimento aumentaram para 18,4%–51,6% até 72 h (Argandoña Valdez et al., 2021). Assim, a forma combinada de probióticos e tempo de ação também afetam a eficácia do julgamento. Consequentemente, por vezes é difícil aos investigadores avaliar cientificamente a eficácia dos probióticos (Laleman et al., 2015).

O planeamento da investigação e os índices de avaliação selecionados de um estudo também têm um impacto importante na compreensão da eficácia dos probióticos. Por exemplo, alguns estudos, concluiu-se que o tratamento com probiótico não foi capaz de melhorar significativamente os sintomas clínicos das doenças periodontais, o que pode ser atribuído em parte à seleção inadequada dos índices de avaliação. Como observado num estudo em que foi avaliado a eficácia do uso adjuvante de probióticos na gengivite (Montero et al., 2017). Os resultados obtidos não mostraram diferenças significativas no IG médio entre os grupos placebo e probiótico. Ao alterar o número de locais com valores IG mais altos (IG = 3 no início do estudo), uma redução significativa foi observada no grupo probiótico. Ou seja, o IG médio pode não ser o índice de avaliação ideal para a intervenção probiótica no

estudo, porque o efeito do uso dos probióticos em locais com inflamação grave foi diluído por outros locais ao calcular o valor médio do IG (Montero et al., 2017).

É de salientar que um estudo recente sobre a colonização intestinal por probióticos sugeriu que a eficácia dos probióticos pode variar de pessoa para pessoa. Usando endoscopia para recolher flora em vários locais do intestino para analisar a composição da flora de voluntários que receberam suplementos probióticos. Descobriu-se que os humanos apresentavam padrões de colonização da mucosa específicos de probióticos de pessoa para pessoa, em diferentes regiões, marcados pelo microbioma preditivo pré-tratamento e características do hospedeiro (Zmora et al., 2018). Consequentemente, intervenções probióticas são susceptíveis de exercer influências diferenciais em diferentes indivíduos, o que é pensado para possivelmente explicar a alta variabilidade nos efeitos probióticos sobre o hospedeiro ou microbioma intestinal observado em diferentes estudos. Uma vez que as doenças periodontais estão relacionadas ao microbioma periodontite original e à imunidade do hospedeiro, a resistência à colonização diferencial e a responsividade dos indivíduos aos probióticos também podem existir e impactar os resultados de pesquisa observados com o uso de probióticos nas doenças periodontais (Zmora et al., 2018).

III. CONCLUSÃO

Com o aprofundamento da pesquisa de probióticos e o reconhecimento de mais espécies e espécies probióticas potenciais, tem havido uma preocupação crescente sobre a segurança dos probióticos, em particular, quando aplicados em humanos com o objetivo de controlar doenças e melhorar a saúde. De facto, existem alguns estudos que relatam que os probióticos têm benefícios limitados para o organismo e podem até ser prejudiciais à saúde. Tem sido recomendado pelo grupo de trabalho da OMS/FAO a realização de uma série de avaliações de segurança de probióticos, incluindo resistência a antibióticos, produção de toxinas, hemólise potencial, atividades metabólicas e efeitos colaterais em humanos e vigilância pós-comercialização de consumidores comerciais. Probióticos clássicos, como algumas espécies de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* que têm uma longa história de uso em alimentos fermentados ou produtos lácteos são geralmente reconhecidos como seguros. No entanto, não há estudos de segurança sistemáticos adequados, e de facto, complicações no uso de probiótico ocorrem por vezes. Alguns estudos revelaram que o tratamento com probióticos causou bacteremia, incluindo o mais comumente usado *Lactobacillus* spp. Apesar de não existirem evidências da ocorrência de bacteremia induzida pelo uso de probiótico na terapia ou cuidados periodontais, pessoas com tecidos periodontais danificados ou sangramento dentário após SRP parecem ser suscetíveis à invasão bacteriana e, portanto, tal possibilidade não pode ser descartada.

A aplicação de probióticos pode ter impactos inesperados nas respostas imunes e na microecologia do hospedeiro.

No entanto, o surgimento dos probióticos proporciona mais opções para a prevenção e tratamento das doenças periodontais. Diferentemente dos antibióticos e bactericidas que são amplamente utilizados na prática clínica, os probióticos geralmente desempenham um papel na terapia periodontal e nos cuidados com a saúde, regulando a imunidade do hospedeiro e restaurando o equilíbrio da microecologia periodontal. Consequentemente, os probióticos têm vantagens únicas e potencial considerável na aplicação para manter a saúde periodontal.

Estudos sobre o uso de probióticos no intestino destacaram a necessidade de desenvolver abordagens probióticas personalizadas de acordo com a flora e o estado imunológico do indivíduo hospedeiro para que os probióticos pudessem colonizar melhor e desempenhar um papel mais eficaz na promoção da saúde. A fim de garantir

eficácia universal e persistente, tal estratégia personalizada também deve ser considerada e desenvolvida ao aplicar probióticos na prevenção e tratamento de doenças periodontais. Além disso, uma combinação diversificada de diferentes espécies de probióticos e espécies probióticas isoladas é provavelmente uma das principais direções de desenvolvimento para a aplicação de probióticos, o que pode fornecer efeitos combinatórios ou sinérgicos na regulação do microbioma e imunidade do hospedeiro, especialmente quando se considera a alta complexidade das placas subgengivais e a presença de vários fatores de stresse ambiental oral. A engenharia genética fornece mais possibilidades de pesquisa e desenvolvimento de probióticos. A função probiótica pode ser ainda mais aprimorada e melhorada por modificações genéticas direcionais em probióticos existentes que fortalecem ou remoldam as suas capacidades de imunorregulação, atividades antimicrobianas contra periodontopatógenos, capacidades adaptativas ao ambiente oral.

IV. BIBLIOGRAFIA

- AAB, junior. (2010, June 30). *Júnior, A.A.B.; Pallos, D.; Cortelli, J.R.; Saraceni, C.H.C.; Queiroz, C.S. Evaluation of organic and inorganic compounds in the saliva of patients with chronic peridontite disease. Rev. Odonto Ciência 2010.* <https://www.scielo.br/j/roc/a/GqHtZ5GgYhrQQ8ZVzbDVKNS/>
- Aas, J. A., Paster, B. J., Stokes, L. N., Olsen, I., & Dewhirst, F. E. (2005). Defining the Normal Bacterial Flora of the Oral Cavity. *Journal of Clinical Microbiology*, 43(11), 5721–5732. <https://doi.org/10.1128/jcm.43.11.5721-5732.2005>
- Ahmad, P., Arshad, A. I., Della Bella, E., Khurshid, Z., & Stoddart, M. (2020). Systemic Manifestations of the Periodontal Disease: A Bibliometric Review. *Molecules*, 25(19), 4508. <https://doi.org/10.3390/molecules25194508>
- Airila-Månsson, S., Söder, B., Kari, K., & Meurman, J. H. (2006). Influence of Combinations of Bacteria on the Levels of Prostaglandin E2, Interleukin-1 β , and Granulocyte Elastase in Gingival Crevicular Fluid and on the Severity of Periodontal Disease. *Journal of Periodontology*, 77(6), 1025–1031. <https://doi.org/10.1902/jop.2006.050208>
- Alencar, S. (2009). *Validation of an alternative absorbent paper for collecting gingival crevicular fluid/Validação de um papel absorvente para coleta de Fluido Crevicular Gengival.* <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-874188>
- Beattie, R. E. (2024). Probiotics for oral health: a critical evaluation of bacterial strains. *Frontiers in Microbiology*, 15(1430810). <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1430810>
- Bowers, M. R., Fisher, L. W., Termine, J. D., & Somerman, M. J. (1989). Connective Tissue-Associated Proteins in Crevicular Fluid: *Journal of Periodontology*, 60(8), 448–451. <https://doi.org/10.1902/jop.1989.60.8.448>

Brkic, Z., & Pavlic, V. (2017). Periodontology: The historical outline from ancient times until the 20th century. *Vojnosanitetski Pregled*, 74(2), 193–199. <https://doi.org/10.2298/vsp150612169b>

Clayton, M. (2018, November 6). *Leonardo da Vinci: A Life in Drawing*. <https://www.rct.uk/collection/publications/leonardo-da-vinci-a-life-in-drawing>

Cortese, A., Caggiano, M., Carlino, F., & Pantaleo, G. (2016). Zygomatic fractures: Technical modifications for better aesthetic and functional results in older patients. *International Journal of Surgery*, 33, S9–S15. <https://doi.org/10.1016/j.ijssu.2016.05.057>

Curtis, M. A., Diaz, P. I., & Van Dyke, T. E. (2020). The role of the microbiota in periodontal disease. *Periodontology* 2000, 83(1), 14–25. <https://doi.org/10.1111/prd.12296>

Danser, M. M., Gomez, S. M., & Van der Weijden, G. A. (2003). Tongue coating and tongue brushing: a literature review. *International Journal of Dental Hygiene*, 1(3), 151–158. <https://doi.org/10.1034/j.1601-5037.2003.00034.x>

Del Giudice, C., Vaia, E., Liccardo, D., Marzano, F., Valletta, A., Spagnuolo, G., Ferrara, N., Rengo, C., Cannavo, A., & Rengo, G. (2021). Infective Endocarditis: A Focus on Oral Microbiota. *Microorganisms*, 9(6), 1218. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9061218>

Di Spirito, F., La Rocca, M., De Bernardo, M., Rosa, N., Sbordone, C., & Sbordone, L. (2020). Possible Association of Periodontal Disease and Macular Degeneration: A Case-Control Study. *Dentistry Journal*, 9(1), 1. <https://doi.org/10.3390/dj9010001>

Eley, B. M., & Cox, S. W. (1996). The relationship between gingival crevicular fluid cathepsin B activity and periodontal attachment loss in chronic periodontitis patients: a 2-year longitudinal study. *Journal of Periodontal Research*, 31(6), 381–392. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.1996.tb00507.x>

- Fassbender, W. (2002, August 31). *Validation of a new automated immunoassay for measurement of intact osteocalcin*. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/11833673/>
- Forshaw, R. J. (2009). The practice of dentistry in ancient Egypt. *British Dental Journal*, 206(9), 481–486. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2009.355>
- Gasparro, R., Qorri, E., Valletta, A., Masucci, M., Sammartino, P., Amato, A., & Marenzi, G. (2018). Non-Transfusional Hemocomponents: From Biology to the Clinic—A Literature Review. *Bioengineering*, 5(2), 27. <https://doi.org/10.3390/bioengineering5020027>
- Gheisary, Z., Mahmood, R., Harri shivanantham, A., Liu, J., Lieffers, J. R. L., Papagerakis, P., & Papagerakis, S. (2022a). The Clinical, Microbiological, and Immunological Effects of Probiotic Supplementation on Prevention and Treatment of Periodontal Diseases: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*, 14(5), 1036. <https://doi.org/10.3390/nu14051036>
- Gheisary, Z., Mahmood, R., Harri shivanantham, A., Liu, J., Lieffers, J. R. L., Papagerakis, P., & Papagerakis, S. (2022b). The Clinical, Microbiological, and Immunological Effects of Probiotic Supplementation on Prevention and Treatment of Periodontal Diseases: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*, 14(5), 1036. <https://doi.org/10.3390/nu14051036>
- Graves, D. (2008). Cytokines That Promote Periodontal Tissue Destruction. *Journal of Periodontology*, 79(8s), 1585–1591. <https://doi.org/10.1902/jop.2008.080183>
- Hardan, B. louis. (2022, May 9). *The Use of Probiotics as Adjuvant Therapy of Periodontal Treatment: A Systematic Review and Meta-Analysis of Clinical Trials*. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14051017>
- Hardan, L., Bourgi, R., Cuevas-Suárez, C. E., Flores-Rodríguez, M., Omaña-Covarrubias, A., Nicastro, M., Lazarescu, F., Zarow, M., Monteiro, P., Jakubowicz, N., Proc, P., & Lukomska-Szymanska, M. (2022). The Use of Probiotics as Adjuvant Therapy of Periodontal Treatment: A Systematic Review and Meta-Analysis of Clinical Trials. *Pharmaceutics*, 14(5), 1017. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14051017>

Heitz-Mayfield, L. J. A., Salvi, G. E., Botticelli, D., Mombelli, A., Faddy, M., & Lang, N. P. (2011). Anti-infective treatment of peri-implant mucositis: a randomised controlled clinical trial. *Clinical Oral Implants Research*, 22(3), 237–241. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2010.02078.x>

Hendee, W. R. (1989). Cross sectional medical imaging: a history. *RadioGraphics*, 9(6), 1155–1180. <https://doi.org/10.1148/radiographics.9.6.2685939>

Huang, S., Li, R., Zeng, X., He, T., Zhao, H., Chang, A., Bo, C., Chen, J., Yang, F., Knight, R., Liu, J., Davis, C., & Xu, J. (2014). Predictive modeling of gingivitis severity and susceptibility via oral microbiota. *The ISME Journal*, 8(9), 1768–1780. <https://doi.org/10.1038/ismej.2014.32>

JOSEPH, S. (2021, March 10). *Microbial transitions from health to disease*. <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/prd.12377>

Khiste, S. V., Ranganath, V., Nichani, A. S., & Rajani, V. (2011). Critical analysis of biomarkers in the current periodontal practice. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 15(2), 104–110. <https://doi.org/10.4103/0972-124X.84376>

Kinane, D. F., Stathopoulou, P. G., & Papapanou, P. N. (2017a). Periodontal diseases. *Nature Reviews Disease Primers*, 3(1). <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.38>

Kinane, D. F., Stathopoulou, P. G., & Papapanou, P. N. (2017b). Periodontal diseases. *Nature Reviews Disease Primers*, 3(1). <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.38>

Kolenbrander, P. E., Andersen, R. N., Blehert, D. S., Egland, P. G., Foster, J. S., & Palmer, R. J. (2002). Communication among Oral Bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 66(3), 486–505. <https://doi.org/10.1128/mnbr.66.3.486-505.2002>

Konopka, Ł., Pietrzak, A., & Brzezińska-Błaszczyk, E. (2012). Effect of scaling and root planing on interleukin-1 β , interleukin-8 and MMP-8 levels in gingival crevicular fluid from chronic periodontitis patients. *Journal of Periodontal Research*, 47(6), 681–688.

<https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2012.01480.x>

Kotsakis, G. A., & Olmedo, D. G. (2021). Peri-implantitis is not periodontitis: Scientific discoveries shed light on microbiome-biomaterial interactions that may determine disease phenotype. *Periodontology 2000*, 86(1), 231–240. <https://doi.org/10.1111/prd.12372>

Liccardo, D., Marzano, F., Carraturo, F., Guida, M., Femminella, G. D., Bencivenga, L., Agrimi, J., Addonizio, A., Melino, I., Valletta, A., Rengo, C., Ferrara, N., Rengo, G., & Cannavo, A. (2020). Potential Bidirectional Relationship Between Periodontitis and Alzheimer's Disease. *Frontiers in Physiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00683>

Lynch, C. D., O'Sullivan, V. R., & McGillicuddy, C. T. (2006). Pierre Fauchard: the "Father of Modern Dentistry." *British Dental Journal*, 201(12), 779–781. <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.4814350>

Nędzi-Góra, M., Górski, R., & Górski, B. (2020). Is the progression rate of periodontitis related to subgingival biofilm composition or gingival crevicular fluid IL-1 β and MMP-8 concentrations? *Central European Journal of Immunology*, 45(4), 425–432. <https://doi.org/10.5114/ceji.2020.101256>

NĘDZI-GÓRA, M., WRÓBLEWSKA, M., & GÓRSKA, R. (2020). The Effect of *Lactobacillus salivarius* SGL03 on Clinical and Microbiological Parameters in Periodontal Patients. *Polish Journal of Microbiology*, 69(4), 441–451. <https://doi.org/10.33073/pjm-2020-047>

Offenbacher, S., Barros, S. P., Singer, R. E., Moss, K., Williams, R. C., & Beck, J. D. (2007). Periodontal Disease at the Biofilm–Gingival Interface. *Journal of Periodontology*, 78(10), 1911–1925. <https://doi.org/10.1902/jop.2007.060465>

Oringer, R. J., Howell, T. H., Nevins, M. L., Reasner, D. S., Davis, G. H., Sekler, J., & Fiorellini, J. P. (2001). Relationship Between Crevicular Aspartate Aminotransferase Levels and Periodontal Disease Progression. *Journal of Periodontology*, 72(1), 17–24.

<https://doi.org/10.1902/jop.2001.72.1.17>

Pavlic, verica. (2016, January). *Periodontology: The historical outline from ancient times until the 20th century*. 10.2298/VSP150612169B

Probiotics for oral health: a critical evaluation of bacterial strains. (n.d.). *Frontiers in Microbiology*, 15(38979537). <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/38979537/>

S.Stephen, A. (2021, April 29). *Interdental and subgingival microbiota may affect the tongue microbial ecology and oral malodour in health, gingivitis and periodontitis*. <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2021.04.29.21256204v2>

Sanz, M., & Teughels, W. (2008). Innovations in non-surgical periodontal therapy: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology. *Journal of Clinical Periodontology*, 35(18724837), 3–7. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051x.2008.01256.x>

Spirito, F. (2022, August 10). *Oral-Systemic Health and Disorders: Latest Prospects on Oral Antisepsis*. <https://doi.org/10.3390/app12168185>

Spirito, F. di. (2019, January 1). *omputed tomography evaluation of jaw atrophies before and after surgical bone augmentation*. <https://iris.unimol.it/handle/11695/107001>

srivastava, kumar. (2021, February 6). *Gingival Crevicular Fluid (GCF): A Diagnostic Tool for the Detection of Periodontal Health and Diseases*. <https://doi.org/10.3390/molecules26051208>

Tekce, M., Ince, G., GURSOY, H., DIRIKAN IPCI, S., CAKAR, G., KADIR, T., & YILMAZ, S. (2015). Clinical and microbiological effects of probiotic lozenges in the treatment of chronic periodontitis: a 1-year follow-up study. *Journal of Clinical Periodontology*, 42(4), 363–372. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12387>

Vieira, C., & Caramelli, B. (2009). The history of dentistry and medicine relationship: could the mouth finally return to the body? *Oral Diseases*, 15(8), 538–546. <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2009.01589.x>

Wong, D. T. (2006). Salivary diagnostics powered by nanotechnologies, proteomics and genomics. *The Journal of the American Dental Association*, 137(3), 313–321. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.2006.0180>

Zeyad Nazar Majeed, Philip, K., Alabsi, A. M., Saravanan Pushparajan, & Swaminathan, D. (2016). *Identification of Gingival Crevicular Fluid Sampling, Analytical Methods, and Oral Biomarkers for the Diagnosis and Monitoring of Periodontal Diseases: A Systematic Review*. 2016, 1–23. <https://doi.org/10.1155/2016/1804727>

Zhao, J., Jiang, L., Zhu, Y., & Feng, X. (2019). Effect of *Lactobacillus acidophilus* and *Porphyromonas gingivalis* on proliferation and apoptosis of gingival epithelial cells. *Advances in Medical Sciences*, 64(1), 54–57. <https://doi.org/10.1016/j.advms.2018.04.008>

