

**LIDIANE VIANA DE OLIVEIRA**

**AVALIAÇÃO DA MICROBIOTA BUCAL  
APÓS A INGESTÃO DE LEITE  
FERMENTADO CONTENDO PROBIÓTICO.**

**Araçatuba – SP**

**2012**

**LIDIANE VIANA DE OLIVEIRA**

**AVALIAÇÃO DA MICROBIOTA BUCAL APÓS A INGESTÃO  
DE LEITE FERMENTADO CONTENDO PROBIÓTICO.**

Trabalho de Conclusão de Curso como parte dos requisitos para a obtenção do título de Bacharel em Odontologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

Orientador: Prof. Adj. Alberto Carlos Botazzo Delbem

**Araçatuba – SP**

**2012**

# *Dedicatória*

*Dedico este trabalho aos meus pais, pois sem eles este trabalho e muitos dos meus sonhos não se realizariam. Obrigada por tudo que fizeram e fazem por mim, vocês são essenciais na minha vida.*

*Amo vocês.*

*Louvarei o nome de Deus com cântico, e engrandecê-lo-ei com ação de graças.*

*Salmos 69:30*

# *Agradecimentos*

*Ao meu Deus, que sempre esteve ao meu lado, mesmo quando achei que estava só eu sabia que não importava a dificuldade, tu estavas lá. Obrigada pela vida e pela força espiritual para a realização desse trabalho.*

*Aos meus pais Seli e Paulo, pelo eterno orgulho de nossa caminhada, pelo apoio, compreensão, ajuda, e, em especial, por todo carinho ao longo deste percurso. Tudo que sou e faço eu devo a vocês. Espero retribuir tudo que recebi de vocês.*

*Aos meus irmãos Alexandre, Paulo Roberto, Pedro e cunhadas Maria de Lourdes e Patrícia pelo carinho, compreensão e pela grande ajuda. Minha família, vocês são meu porto seguro, agradeço a Deus as pessoas maravilhosas que ele colocou em minha vida. Sou eternamente grata por tudo. Amo muito vocês.*

*Aos meus tios, tias, primos e primos pela convivência e amparo. Pelas palavras de conforto e esperança durante essa caminhada. Posso dizer que sou feliz em ter esses anjos na minha vida. Deus abençoe vocês.*

*À Madalena, Milena e Igor família linda que faz parte da minha família, adoro tanto vocês, Deus ilumine a vida de vocês e os abençoe sempre.*

*Aos meus amigos e colegas de curso, nunca estamos sós, é verdade. É bom saber que temos amigos em quem podemos confiar. Pessoas que nos apoiam e nos acolhem com tanto carinho. É certo que tenho passado momentos muito difíceis. E comigo estão sempre os amigos, dando-me palavras de conforto e ânimo. Sou grata a Deus por ter conhecido tantas pessoas boas, de coração aberto e firme. Quero agradecer a vocês por tudo.*

*À minha co-orientadora, Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Cleide Cristina Rodrigues Martinhon, obrigada pela ajuda, a disponibilidade e a paciência. Obrigada pelas orientações, pela compreensão e por me acompanhar durante a execução deste trabalho. Mesmo quando eu estava me sentindo muito perdida, você veio com a luz.*

*Ao meu Orientador, Prof. Dr. Alberto Carlos Botazzo Delbem, que além de ser meu professor aceitou ser meu orientador, parabéns pela competência e dedicação à pesquisa.*

*À Carolina Simonetti Lodi por me permitir fazer parte deste trabalho ,pela ajuda em tudo, pelo conhecimento transmitido, tenha certeza que você me ensinou muito, obrigada pela amizade e pela paciência. Continue sendo essa pessoa amorosa e dedicada, você é um grande exemplo. Você merece suas conquistas.*

*À todos os professores e funcionários da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP pelo profissionalismo, carinho e dedicação.*

*Oliveira, L.V. Avaliação da microbiota bucal após a ingestão de leite fermentado contendo probiótico.* Trabalho de Conclusão de Curso. 2012. 24 f. Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2012.

## RESUMO

Probióticos são microrganismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas conferem benefícios à saúde do hospedeiro. Um número crescente de produtos contendo probióticos está disponível no mercado e vem sendo utilizado pelos consumidores. Por essa razão o objetivo deste trabalho foi investigar a capacidade de 2 leites fermentados contendo probióticos afim de promover alterações na microbiota bucal. Dez voluntários realizaram, em 2 fases, a ingestão de 1 frasco do leite fermentado por dia durante 14 dias. As amostras de saliva, coletadas no início e no final de cada fase, foram obtidas por meio da realização de bochecho com solução fisiológica estéril. As amostras foram centrifugadas e o precipitado ressuspendido em PBS, produzindo a suspensão de concentração final que foi sequencialmente diluída e semeada nos seguintes meios: BHI (Microrganismos Totais), Mitis Salivarius (Streptococcus totais), Mitis Salivarius Bacitracina Sacarose (Streptococcus do grupo mutans) e Rogosa (Lactobacillus). Os dados foram expressos em unidades formadoras de colônia em 1 ml de saliva (UFC/mL). Após o consumo do Yakult® pode ser observado que a quantidade de Microrganismos Totais permaneceu praticamente a mesma e a quantidade de Streptococcus totais, Streptococcus do grupo mutans e Lactobacillus aumentaram na saliva, mas para nenhum dos dados houve diferença estatística significativa. Para o grupo do Batavito® foi observado que a quantidade de todos os microrganismos avaliados diminuíram e esta diminuição foi estatisticamente significativa para todos os microrganismos. Pode-se concluir que apenas um dos leites fermentados testados foi capaz de provocar alteração na microbiota bucal.

**Palavra – chave:** probióticos; saliva; cárie dentária; Streptococcus mutans; Lactobacillus.

Oliveira, L.V. ***Evaluation of the oral microbiota after ingestion of fermented milk containing probiotic.*** Trabalho de Conclusão de Curso. 2012. 24 f. Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2012.

### ABSTRACT

Probiotics are live microorganisms and when administered in adequate amounts confer health benefits to the host. A growing number of products containing probiotics are commercially available and have been used by consumers. Therefore the objective of this study was to investigate the ability of two fermented milks containing probiotic in order to promote changes in the oral microbiota. Ten volunteers performed in two stages. They intake a bottle of fermented milk per day during 14 days. Saliva samples were collected at the beginning and end of each phase and it was obtained by carrying out rinsing with sterile saline. The samples were centrifuged and the pellet resuspended in PBS, yielding final concentration of the suspension which was sequentially diluted and plated in the following: BHI (Total microorganism), Mitis Salivarius (Total streptococos), Mitis Salivarius Bacitracin Sucrose (mutans streptococos) and Rogosa (Lactobacillus). Data were expressed as colony forming units in 1 ml saliva (CFU / ml). After intake of Yakult® it was seen that the total quantity of microorganisms remained the same and the total amount of Streptococcus, Streptococcus mutans and Lactobacillus in saliva increased, but the data there was no statistical difference. For Batavito® group there was found that the amount of all tested microorganisms decreased and this decrease was statistically significant for all microorganisms. It can be concluded that only one of fermented milks tested was able to induce changes in the oral microbiota.

**Key words:** probiotics; saliva; dental caries; mutans streptococos; Lactobacillus.

## **Lista de Tabelas**

*Tabela 1* - Quantidade de microrganismos totais (MT), Streptococcus totais (ST), Streptococcus do grupo mutans e Lactobacillus (UFC-Log 10) na saliva antes e após cada tratamento.

## Lista de Abreviaturas e Siglas

°C	Graus Celsius
g	Gramma
L	Lactobacillus
M	Mol
MT	Microrganismos Totais
NaCl	Cloreto de Sódio
PBS	Solução Salina Tamponada
mL	Mililitro
U/mL	Unidade por mililitro
UFC	Unidade Formadora de Colônia
SM	Streptococcus Mutans
ST	Streptococcus totais
µg	Micrograma
µm	Micrômetro
%	Porcentagem

## **Sumário**

<b>1 Introdução e Revisão de Literatura</b>	<b>11</b>
<b>2 Materiais e Métodos</b>	<b>15</b>
<b>3 Resultados</b>	<b>18</b>
<b>4 Discussão</b>	<b>19</b>
<b>5 Referência</b>	<b>21</b>
<b>6 Anexos</b>	<b>24</b>

## 1 Introdução e Revisão de Literatura

Probióticos são definidos pela Organização Mundial de Saúde como organismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas conferem benefícios à saúde do hospedeiro [Souza et al. 2011]. A literatura tem mostrado que o principal campo de pesquisa de probióticos é o trato gastrointestinal, uma vez que possuem a capacidade de modificar a flora bacteriana mediante a exclusão competitiva de bactérias patógenas, e exercem sua ação através de múltiplos mecanismos como a fagocitose, inibição do crescimento bacteriano, modulação local da resposta imune e inibição competitiva. Devido a essas características houve um crescente interesse da pesquisa odontológica pelos benefícios dos probióticos na cavidade oral [Pinto, G. S et al. 2011]. Deve-se ressaltar que estes mecanismos provêm de estudos realizados no trato gastrointestinal e sua aplicação na cavidade oral necessita de investigações futuras. Porém, considerando-se que a cavidade oral representa a primeira parte do trato gastrointestinal, existem razões para acreditar que alguns destes mecanismos também podem acontecer na cavidade oral [Meurman, 2007].

O que se tem visto é que o veículo mais estudado, utilizado e amplamente difundido para administração dos probióticos é o iogurte. Outros veículos foram testados e ainda estão em experimento, por diferentes autores e têm se mostrado tão eficientes quanto o iogurte, como: leite, queijo, líquido, cápsula, sorvete, tabletes, canudos, pastilha [Ahola, 2002; Çaglar, 2006; Çaglar, 2008 Meurman, 2007]. A sobrevivência das bactérias probióticas, entre elas os gêneros *Lactobacilos* e *Bifidobacterium*, no produto alimentício é de fundamental importância, devendo o alimento conter pelo menos uma população de  $10^7$  UFC/g de bactérias probióticas viáveis no momento da compra do produto. Esta concentração é recomendada por alguns autores [Rybka e Fleet, 1997; Vinderola e Reinheimer, 2000]. Entretanto, tem sido proposto que a dose mínima diária de cultura probiótica considerada terapêutica seja de  $10^8$  e  $10^9$  UFC, o que corresponde ao consumo diário de 100 g de produto contendo  $10^6$  a  $10^7$  UFC/g [Lee e Salminen, 1995; Blanchette et al, 1996]. Para que o probiótico seja capaz de exercer um efeito anticariogênico, primeiramente a bactéria deve ser capaz de aderir à superfície dental; segundo, ela deve se tornar parte do biofilme dental; e finalmente, ela deve

competir com as bactérias cariogênicas reduzindo o nível de colonização destas [Comelli et al, 2002].

No entanto, a bacterioterapia na forma de probióticos tem se mostrado uma maneira natural de manter a saúde e proteger os tecidos orais de diferentes doenças, e as pesquisas atuais demonstram que os benefícios aumentam se a ingestão destas bactérias iniciar precocemente na vida dos indivíduos. Um ensaio clínico randomizado, duplo-cego, placebo controlado conduzido por Näse et al. (2001) examinou o efeito do leite enriquecido com *Lactobacillus rhamnosus* GG na redução do risco à cárie em crianças quando comparado com leite normal. O estudo incluiu 594 crianças de 1 a 6 anos, que consumiram leite por 7 meses. O leite enriquecido com probiótico foi capaz de reduzir a contagem de *Streptococos* do grupo mutans. No estudo de Ahola et al (2002) examinaram se o curto tempo de consumo de queijo contendo os probióticos *Lactobacillus rhamnosus* GG e *Lactobacillus rhamnosus* LC 705 poderia afetar benéficamente a microflora cariogênica de adultos jovens quando comparado com o consumo de queijo sem probiótico. De acordo com os resultados não houve diferença estatística entre os grupos durante a intervenção, mas três semanas após o consumo de queijo houve uma significativa diminuição de *Streptococos* do grupo mutans no grupo que consumiu queijo com probiótico. Mas o mesmo efeito não foi observado no estudo de Yli-Knuutila et al (2006), em que 56 voluntários consumiram suco contendo *Lactobacillus rhamnosus* GG durante um período de 14 dias. Segundo os autores, os *Lactobacillus rhamnosus* GG não foram capazes de colonizar a cavidade oral, podendo ser detectados somente temporariamente.

Em 2008, Stecksén-Blicks et al, verificaram o efeito do consumo de leite suplementado com lactobacilos probióticos e flúor nas cáries e na saúde geral de pré-escolares durante 21 meses. Após o período do estudo foi concluído que o consumo diário de leite suplementado com probiótico e flúor reduziu as cáries em pré-escolares e teve um efeito benéfico na saúde geral das crianças. Lexner et al (2010) investigaram o perfil microbiano de amostras de saliva e biofilme de adolescentes com cavidades ativas de cárie antes e depois do consumo de leite suplementado com bactérias probióticas, durante 2 semanas. Após esse período o perfil microbiano ou os níveis salivares de bactérias associadas à cárie não foi afetado significativamente. Já num estudo mais recente realizado por Petersson et

al, em 2011 que teve um período de intervenção de 15 meses, onde 160 sujeitos consumiram leite enriquecido com o probiótico *Lactobacillus rhamnosus* GG e/ou fluoreto. Foram verificadas as reversões de lesões cáries primárias de raiz nos grupos com probióticos e fluoretos.

Montalto et al (2004) realizaram um estudo randomizado com 35 adultos saudáveis onde as bactérias probióticas utilizadas foram *Lactobacillus sporogenes*, *Lactobacillus bifidum*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus termophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus* na forma de cápsula ou/ líquido. A contagem de *Streptococos* do grupo mutans e *Lactobacillus* na saliva foram realizadas após 45 dias de consumo. Os níveis de *Lactobacillus* aumentaram significativamente e a contagem de *Streptococos* do grupo mutans não teve modificação significativa. Çaglar et al (2005) realizaram um estudo objetivando examinar se o curto tempo de consumo de iogurte com *Bifidobacterium* DN-173 010 afetaria os níveis salivares de lactobacilos e estreptococos do grupo mutans de adultos jovens. Os autores observaram uma redução estatisticamente significativa dos níveis salivares de *Streptococos* do grupo mutans foi relatada após o consumo do iogurte com probiótico. Uma tendência similar aconteceu com os lactobacilos. Os autores concluem que iogurte com probiótico *Bifidobacterium* pode reduzir os níveis salivares de microrganismos relacionados com a doença cárie. Baseado em estudo prévio Çaglar et al (2006) investigou o efeito de outro probiótico, o *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 nos níveis salivares de *Streptococos* do grupo mutans de 120 adultos jovens. Uma redução significativa dos níveis de *Streptococos* do grupo mutans foi relatada 1 dia após as 3 semanas de ingestão dos probióticos. Em um outro estudo, Çaglar et al (2007) avaliaram o efeito de goma de mascar com xilitol e probiótico (*L. reuteri* ATCC 55730 e *L. reuteri* ATCC PTA 5289) nos estreptococos e lactobacilos salivares de 80 adultos jovens e saudáveis durante 3 semanas. Uma redução significativa dos níveis de *Streptococos* do grupo mutans foi relatada no grupo somente com probiótico e somente no grupo com xilitol após a intervenção quando comparados aos outros grupos. Mais recentemente, Singh et al (2011) também utilizou bifidobactérias e lactobacilos para reduzir os níveis salivares de *Streptococos* do grupo mutans em escolares durante 10 dias. O veículo de administração do probiótico foi o sorvete e as cepas escolhidas foram *Bifidobacterium lactis* Bb-12 ATCC27536 e *Lactobacillus acidophilus* La-5. De

acordo com os resultados houve uma redução dos níveis salivares de Estreptococos do grupo mutans, mas não houve diferença estatística para o grupo dos Lactobacilos presente na saliva.

De acordo com o exposto pela literatura avaliou-se os níveis salivares de Microorganismos totais, Streptococcus totais, Streptococcus do grupo mutans e Lactobacillus após o consumo de leite fermentado contendo probióticos.

## **2 Materiais e Métodos**

### **Seleção dos produtos**

Foram selecionadas 2 marcas de leite fermentado desnatado adoçado contendo probióticos de acordo com os seguintes critérios estabelecidos de inclusão: produção no território brasileiro; disponibilidade no comércio de Araçatuba – SP; registro como Leite Fermentado Desnatado Adoçado. Caso houvesse mais de 3 produtos que preenchessem os critérios acima, seriam escolhidas 2 marcas de leite fermentado levando em consideração sua penetração mundial e descrição completa do produto na rotulagem, incluindo os principais cultivos utilizados na fermentação e a quantidade de açúcar presente no produto. Estes critérios foram adotados nesta fase devido a necessidade operacional de diminuição do número de produtos utilizados no estudo in situ e a possibilidade de divulgação internacional dos resultados. Na aquisição do produto foram observadas as normas técnicas de sua conservação, a saber: prazo de validade, temperatura de armazenagem (não superior a 10°C), acondicionamento e integridade das embalagens.

### **Seleção dos voluntários**

Os voluntários preencheram os seguintes critérios de inclusão:

A - Residiram em Araçatuba;

B - Tinham idade entre 18 e 45 anos;

C - Concordaram em participar do estudo através de consentimento livre e esclarecido;

D – Saúde geral – não apresentaram nenhum problema sistêmico que compromettesse o fluxo salivar;

E – Saúde bucal- ausência clínica de lesões de cárie ativas ou doença periodontal.

Os critérios de exclusão inicial foram:

A - Uso de medicamentos ou portadores de alterações fisiológicas que alterassem o fluxo salivar;

B - Uso de antibióticos.

Os critérios de exclusão durante o experimento:

A - Desistência voluntária;

B - Alteração do quadro de saúde com conseqüente alteração do fluxo salivar ou necessidade do uso de antibióticos;

C - Uso de bochechos orais ou dentifrícios fluoretado;

D - Não cumprimento do delineamento experimental.

Na eventualidade de exclusão de algum voluntário, um novo voluntário foi selecionado e cumpriu todas as fases do experimento.

Após aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP, foram selecionados 10 voluntários, com idade entre 18 e 45 anos, com boa saúde geral e bucal e com fluxo salivar normal, residentes em Araçatuba – SP, cidade abastecida com água fluoretada (0,6-0,8 µg/mL). Anteriormente, houve um encontro para que os voluntários assinassem o Consentimento Livre e Esclarecido, concordando em participar do experimento, segundo a Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde do Ministério da Saúde. Nesse encontro também foi informado aos voluntários os objetivos e a metodologia empregada no trabalho e foram esclarecidas eventuais dúvidas. Os voluntários foram orientados a não utilizar qualquer tipo de produto fluoretado (exceto água) ou anti-séptico durante o experimento. Uma semana antes do início do experimento e durante todo o período experimental, os voluntários utilizaram dentifrício sem fluoreto. Não foi dada qualquer instrução com relação à técnica de escovação.

### **Análise microbiológica da saliva**

Os leites fermentados selecionados foram Yakult® e Batavito®. Primeiro os voluntários ingeriram Yakult® e depois o Batavito®. Cada voluntário ingeriu uma garrafa de leite fermentado por dia durante 14 dias com o intervalo de 7 dias entre cada fase. A saliva foi recolhida no início e no final de cada fase para análise microbiológica.

As amostras de saliva foram obtidas por meio da realização de bochecho com 10 ml de solução fisiológica esterilizada (NaCl a 0,85%) tamponada com fosfato (PBS 0,1 M e pH 7,2) contida em um recipiente universal estéril descartável. Os indivíduos realizaram o bochecho com a solução durante um minuto, devolvendo em seguida a solução para o mesmo recipiente (de Araújo Navas et al., 2009).

A seguir, as amostras foram centrifugadas por 10 minutos, a 8000 Xg e o sobrenadante foi descartado. O depósito foi ressuspendido em 2,5 mL de PBS e misturado em agitador de tubos (Vortex) por 30 segundos, produzindo assim a suspensão de concentração final (de Araújo Navas et al., 2009). Esta suspensão foi então seqüencialmente diluída ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ ,  $10^{-4}$ ,  $10^{-5}$ ,  $10^{-6}$ ,  $10^{-7}$ ) em solução salina estéril e semeada em meios seletivos para microrganismos totais (MT) (BHI - HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai – India), Streptococcus totais (ST) (Agar Mitis Salivarius – HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai – India), Streptococcus do grupo mutans (SM) (Agar Mitis Salivarius – HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai – India, suplementado com 0.25 U/mL de bacitracina e 20% de sacarose) e para Lactobacillus sp (L) (Agar Rogosa - (HiMedia Laboratories Pvt. Ltd., Mumbai – India). As placas para análise dos microrganismos totais, Streptococcus totais e Streptococcus do grupo mutans foram incubadas em anaerobiose, a 37° C, por 48 horas e então foi feita a contagem das colônias nas placas que apresentarem valores entre 30 e 300 colônias. As placas para análise dos Lactobacillus sp foram incubadas em aerobiose, a 37° C, por 72 horas e então foi feita a contagem das colônias nas placas que apresentaram valores entre 30 e 300 colônias. Em seguida foi feita a conversão do fator de diluição para obtenção do número de unidades formadoras de colônia em 1 mL de saliva. (de Araújo Navas et al., 2009, Gold et al., 1973; Rogosa et al., 1951; Van Houte J e Green DB, 1974).

### 3 Resultados

O tratamento com Yakult® não alterou a concentração de quaisquer microrganismos quando foram comparados os dados inicial e final. Após o tratamento com o Batavito®, observou-se uma diminuição estatisticamente significativa em todos os microrganismos analisados. (Tabela 1).

**Tabela 1** – Níveis salivares de microrganismos totais (MT), *Streptococcus totais* (ST), *Streptococcus do grupo mutans* (SM) e *Lactobacillus* (L) (UFC-Log 10) antes e após cada tratamento.

	<b>Yakult®</b>		<b>Batavito®</b>	
	<b>Inicial</b>	<b>Final</b>	<b>Inicial</b>	<b>Final</b>
<b>MT</b>	6.74 <sup>a</sup>	6.70 <sup>a</sup>	6.69 <sup>a</sup>	6.05 <sup>b</sup>
<b>ST</b>	6.04 <sup>a</sup>	6.19 <sup>a</sup>	6.48 <sup>a</sup>	5.41 <sup>b</sup>
<b>SM</b>	3.48 <sup>a</sup>	3.74 <sup>a</sup>	4.17 <sup>a</sup>	3.18 <sup>b</sup>
<b>L</b>	3.11 <sup>a</sup>	3.57 <sup>a</sup>	4.01 <sup>a</sup>	3.02 <sup>b</sup>

MT, ST e SM foram semelhantes na saliva, quando comparado o início dos dois tratamentos, mas a quantidade de L foi mais elevada no início do tratamento com Batavito® comparado ao tratamento inicial com Yakult® e esta diferença foi estatisticamente significativa. No final, quando comparados os dois tratamentos não foi observada diferença estatística entre os grupos.

## 4 Discussão

O efeito dos probióticos na saúde oral é uma área de pesquisa relativamente nova, mas o conceito de probióticos sendo benéficos do ponto de vista dental pode parecer controverso. Alguns estudos avaliaram os efeitos de lactobacilos em derivados de estreptococos do grupo mutans, relatando reduções significativas de estreptococos mutans salivares imediatamente após o término da ingestão diária [Caglar et al, 2006;. Nase et al, 2001;. Ahola et al, 2002;. Nikawa et al., 2004]. Caglar et al [2006] investigou se os comprimidos derretidos lentamente permitiriam um contato mais profundo entre as bactérias probióticas e o meio ambiente oral em comparação com o padrão de deglutição direta dos canudos, e concluiu que ambos os regimes reduziram a prevalência de estreptococos mutans salivares igualmente após 2 semanas de uso. Resultados conflitantes foram relatados por Montalto et al [2004] que avaliou a administração de lactobacilos probióticos em formas líquidas e cápsula a fim de determinar o papel do contato direto com os tecidos orais. Curiosamente, verificou-se que ambas as formas de administração aumentaram significativamente as contagens de lactobacilos enquanto que os níveis salivares de estreptococos mutans não foram significativamente alterados pela intervenção [Montalto et al., 2004]. Alguns estudos indicaram que o contato direto com os tecidos orais, não é um pré-requisito para um efeito benéfico e uma administração sistêmica pura de probiótico pode aumentar a proliferação de lactobacilos na cavidade oral [Caglar et al, 2006;. Montalto et al, 2004;. Ahola et al., 2002]. Em nosso estudo foram utilizados probióticos em leites fermentados disponíveis no mercado, os quais foram administrados por via oral, permitindo o contato direto com os tecidos orais. Apesar dos leites fermentados não serem desenvolvidos com o objetivo de prevenir a cárie dentária com a promoção de mudanças na microbiota oral, observou-se que o leite fermentado Batavito® diminuiu a contagem salivar de todos os microrganismos pesquisados após 2 semanas de uso. Estes resultados foram semelhantes ao relatado anteriormente [Caglar et al, 2006;. Nase et al, 2001;. Ahola et al, 2002;. Nikawa et al, 2004.]. Também foi observado que o leite fermentado Yakult® apresentou uma tendência para aumentar a contagem salivar de ST, SM e L no final do estudo, mas a diferença não foi estatisticamente significativa. Diferenças entre diferentes cepas e cepas da mesma espécie é, provavelmente, a razão para os resultados conflitantes sobre a eficácia probiótica que foram relatados também

nos estudos iniciais [Twetman e Stecksén-Blicks, 2008]. Neste estudo, o leite fermentado Yakult® contém em sua composição uma única bactéria probiótica a *L. casei* Shirota e o leite fermentado Batavito® uma mistura de 4 bactérias probióticas (*L. acidophilus*, *Bifidobacteria*, *S. salivarius thermophilus* e *L. paracasei*), de acordo com as informações dos fabricantes. Os melhores resultados após o consumo do Batavito® podem ser explicados por esta diferença na sua composição, uma vez que a aplicação simultânea de diferentes bactérias probióticas podem afetar o equilíbrio do ecossistema oral em uma possível adição, nos modos cumulativos, ou de ação competitiva.

Os resultados do presente estudo demonstraram que leites fermentados contendo probióticos foram capazes de promover mudanças na microbiota oral, e os dados indicaram que o leite fermentando Batavito poderia auxiliar na redução das bactérias cariogênicas reduzindo o risco a cárie. Estudos mais sistemáticos, controlados e randomizados são necessários para descobrir as melhores cepas probióticas, as doses diárias e os veículos de probiótico para uma perspectiva promissora e segura para a saúde oral.

## 5 Referências

Ahola AJ, Yli-Knuuttila H, Suomalainen T, Poussa T, Ahlström A, Meurman JH, Korpela R: Short-term consumption of probiotic-containing cheese and its effect on dental caries risk factors. *Arch Oral Biol* 2002;47:799-804.

Anderson MH, Shi W: A probiotic approach to caries management. *Pediatr Dent* 2006;28:151-3.

Blanchette, L.; Roy, D.; Belanger, g.; Gauthier, S.F. Production of cottage cheese using dressing fermented by bifidobacteria. *J. Dairy Sci.,Lancaster*, v.79, p.8-15, 1996.

Çaglar E, Kargul B, Tanboga I: Bacteriotherapy and probiotics" possible role on oral health. *Oral Dis* 2005a;11:131-7.

Çaglar E, Kavaloglu S, Ergeneli S, Sandalli N, Twetman S: Salivary mutans streptococci and lactobacilli levels after ingestion of the probiotic bacterium *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 by straws or tablets. *Acta Odont Scand* 2006;64:314-318.

Çaglar E, Kuscu OO, Selvi Kuvvetli S, Kavaloglu Cildir S, Sandalli N, Twetman S: Short-term effect of ice-cream containing *Bifidobacterium lactis* Bb-12 on the number of salivary mutans streptococci and lactobacilli. *Acta Odontol Scand*. 2008;66:154-8.

Çaglar E, Sandalli N, Twetman S, Kavaloglu SC, Ergeneli S, Selvi S: Consumption of yogurt with *Bifidobacterium* DN-173010 and its effect on dental caries risk factors. *Acta Odontol Scand* 2005b;63:317-20.

Comelli EM, Guggenheim B, Stingele F, Neeser JR: Selection of dairy bacterial strains as probiotics for oral health. *Eur J Oral Sci* 2002;110:218-24.

Fuller R, Gibson GR: Modification of the intestinal microflora using probiotics and prebiotics. *Scand J Gastroenterol* 1997;32:28-31.

Levine RS: Milk, flavoured milk products and caries. *Br Dent J* 2001;191:20.

Gold O G, Jordon H V, Van Houte J 1973 A selective medium for *Streptococcus* mutans. *Archives of Oral Biology* 18: 1357-1364.

Lee, YK.; Salminen, S. The coming age of probiotics. *Trends Food Sci. Technol.*, Amsterdam, v.6, p.241-245,1995.

Lexner MO, Blomqvist S, Dahlén G, Twetman S. Microbiological profiles in saliva and supragingival plaque from caries-active adolescents before and after a short-term daily intake of milk supplemented with probiotic bacteria - a pilot study. *Oral Health Prev Dent*. 2010;8(4):383-8.

Lodi CS, Sasaki KT, Fraiz FC, Delbem AC, Martinhon CC: Evaluation of some properties of fermented milk beverages that affect the demineralization of dental enamel. *Braz Oral Res* 2010a;24:95-101.

Lodi CS, Manarelli MM, Sasaki KT, Fraiz FC, Delbem AC, Martinhon CC: Evaluation of fermented milk containing probiotic on dental enamel and biofilm: in situ study. *Arch Oral Biol* 2010b;55:29-33.

Meurman JH, Stamatova I. Probiotics: contributions to oral health. *Oral Dis* 2007;13:443-51.

Meurman JH. Probiotics: do they have a role in oral medicine and dentistry? *Eur J Oral Sci* 2005;113:188-196.

Montalto M, Vastola M, Marigo L, Covino M, Graziosetto R, Curigliano V, Santoro L, Cuoco L, Manna R, Gasbarrini G: Probiotic treatment increases salivary counts of lactobacilli: a double-blind, randomized, controlled study. *Digestion* 2004;69:53-56.

Näse L, Hatakka K, Savilahti E, Saxelin M, Pönkä A, Poussa T, Korpela R, Meurman JH: Effect of long-term consumption of a probiotic bacterium, *Lactobacillus rhamnosus* GG, in milk on dental caries and caries risk in children. *Caries Res* 2001;35:412-420.

Nikawa H, Makihiro S, Fukushima H, Nishimura H, Ozaki Y, Ishida K. *Lactobacillus reuteri* in bovine milk fermented decreases the oral carriage of mutans streptococci. *Int J Food Microbiol* 2004;95:219-223.

Petersson LG, Magnusson K, Hakestam U, Baigi A, Twetman S. Reversal of primary root caries lesions after daily intake of milk supplemented with fluoride and probiotic lactobacilli in older adults. *Acta Odontol Scand*. Nov;69(6):321-7. Epub 2011 May 12.

Petti S, Tarsitani G, D'Arca AS: A randomized clinical trial of the effect of yoghurt on the human salivary microflora. *Arch Oral Biol* 2001;46:705-712.

Pinto, G. S. Associação entre o uso do iogurte contendo probióticos e a redução de Estreptococos do grupo mutans em pacientes sob tratamento ortodôntico. 2011. 79f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Medicina, PUCRS, Porto Alegre, 2011.

Rogosa, M., Mitchell, J. A. and Wiseman, R. F. A selective medium for the isolation and enumeration of oral and faecal lactobacilli. *Journal of Bacteriology*, p. 62, 132-133, 1951.

Rybka S, Fleet GH. 1997. Populations of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* species in Australian yogurts. *Food Aust* 49:471-5.

Samaranayake LP, Mac Farlane TW, Lamey PJ, Ferguson MM: A comparison of oral rinse and imprint sampling techniques for detection of yeast, coliform and *Staphylococcus aureus* carriage in the oral cavity. *J Oral Pathol* 1986;15:386-8.

Singh RP, Damle SG, Chawla A. Salivary mutans streptococci and lactobacilli modulations in young children on consumption of probiotic ice-cream containing

Bifidobacterium lactis Bb12 and Lactobacillus acidophilus La5. Acta Odontol Scand. 2011 Nov;69(6):389-94. Epub 2011 Apr 5.

Souza, Caroline de Vasconcellos Amendola de et al. Efeitos do consumo diário de probiótico sobre a microbiota cariogênica. Rev. bras. odontol., Rio de Janeiro, v. 68, n. 1, p. 128-131, jan./jun. 2011.

Teughels W, Van Essche M, Sliepen I, Quirynen M: Probiotics and oral healthcare. Periodontol 2000 2008;48:111-47.

Twetman S, Stecksén-Blicks C: Probiotics and oral health effects in children. Int J Paediatr Dent 2008;18:3-10.

Van Houte J e Green DB: Relationship Between the Concentration of Bacteria in Saliva and the Colonization of Teeth in Humans. Infect Immun. 1974 April; 9(4): 624–630.

Vinderola CG, Prosello W, Ghiberto TD, Reinheimer JA: Viability of probiotic (Bifidobacterium, Lactobacillus acidophilus and Lactobacillus casei) and nonprobiotic microflora in Argentinian Fresco cheese. J Dairy Sci. 2000 Sep;83(9):1905-11.

Yli-knuuttila, H., Haukioja, A., Loimaranta, V. et al. Oral adhesion and survival of probiotic and other lactobacilli and bifidobacteria in vitro. Oral Microbiol. Immunol. 2006, 21 (5): 326-32.

Yli-knuuttila, H., Snäll, J., Kari, K. et al. Colonization of Lactobacillus rhamnosus GG in the oral cavity. Oral Microbiol. Immunol. 2006, 21 (2): 129-31.

## 6 Anexo

## Anexo A



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
Campus de Araçatuba



## COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA - CEP-

OF. 152/2008  
CEP  
ACBD/bri.

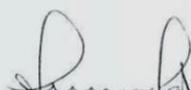
Araçatuba, 18 de novembro de 2008.

## Referência Processo FOA 2008-01519

O Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa desta Unidade, tendo em vista o parecer favorável da relatora que analisou o projeto "EFEITO DE LEITES FERMENTADOS CONTENDO PROBIÓTICOS NO BIOFILME FORMADO "IN SITU" E NA DESMINERALIZAÇÃO DO ESMALTE DENTAL" expede o seguinte parecer:

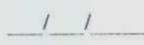
**APROVADO:**

Informamos a Vossa Senhoria que de acordo com as normas contidas na resolução CNS 215, deverá ser enviado o relatório final em 13/05/2009.

  
Prof. Dr. Alessandra Márcia Aranega  
Vice Coordenadora do CEP

Ilma. Senhora  
Dr. CAROLINA SIMONETTI LODI  
Araçatuba-SP-

Ciente. De acordo.

  
Dr. Carolina Simonetti Lodi