

RESSALVA

Atendendo solicitação do (a) autor
(a), o texto completo desta tese será
disponibilizado a partir de

10/03/2021



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de São José dos Campos
Instituto de Ciência e Tecnologia

TATIANE CAROLINE DE SOUZA RAMOS

**EFEITO DAS TERAPIAS ANTIBIÓTICA E PROBIÓTICA NO
TRATAMENTO ADJUVANTE DA PERIODONTITE: estudo clínico
controlado e randomizado**

2020

TATIANE CAROLINE DE SOUZA RAMOS

**EFEITO DAS TERAPIAS ANTIBIÓTICA E PROBIÓTICA NO TRATAMENTO
ADJUVANTE DA PERIODONTITE: estudo clínico controlado e randomizado**

Dissertação apresentada ao Instituto de Ciência e Tecnologia, Universidade Estadual Paulista (Unesp), Campus de São José dos Campos, como parte dos requisitos para obtenção do título de MESTRE, pelo Programa de Pós-Graduação em BIOPATOLOGIA BUCAL.

Área: Periodontia. Linha de pesquisa: Estudos sobre microbiologia, imunologia e terapia em periodontia e implantodontia.

Orientadora: Profa. Assoc. Maria Aparecida Neves Jardimi

Coorientador: Profa. Dra. Mariéllen Longo Villas Boas

São José dos Campos

2020

BANCA EXAMINADORA

Profa. Assoc. Maria Aparecida Neves Jardim (Orientador)

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Profa. Dra. Andréa Carvalho De Marco

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus de São José dos Campos

Prof. Assoc. Claudio Mendes Pannuti

Universidade de São Paulo (USP)

Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Campus de São Paulo

São José dos Campos, 10 de março de 2020.

DEDICATÓRIA

*À **Deus**, minha fonte de fortaleza e que em sua fidelidade me suporta e me permite realizar tantos sonhos.*

*Aos meus amados pais, **Alexandre de Souza** e **Maria Cláudia Souza** pelo amor, compreensão, suporte e por terem sacrificado suas vidas para assegurar o crescimento que eu e meu irmão estamos alcançando. Dedico a vocês mais essa conquista!*

*Ao meu esposo **Otávio Ramos** por estar presente comigo em tantas realizações sempre com amor e paciência sendo meu suporte e lado a lado me ajudando a superar os desafios. Dedico também a você mais essa conquista, te amo!*

*Ao meu querido irmão **Vinícius Augusto de Souza**, obrigada pela convivência, parceria e amor!*

Aos meus avós e familiares que sempre acreditaram em mim, me dando suporte e tornando meus dias mais alegres.

*À minha orientadora, **Maria Aparecida Neves Jardim** por me receber como orientada e ensinar a todos seus orientados tantas lições de forma amável e sábia nos permitindo crescer e aprender cada vez mais! Minha eterna gratidão e admiração!*

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Instituto de Ciência e Tecnologia - Unesp, na pessoa da diretora do Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos, Prof. Dra. Rebeca Di Nicoló e do vice-diretor Prof.Dr. Cláudio Antonio Talge Carvalho.

Ao programa de Pós-Graduação em Biopatologia Bucal, na pessoa da coordenadora Profa. Dra. Luciane Dias de Oliveira.

À CAPES pela concessão de bolsa durante o período de março de 2018 a março de 2020.

À Letícia Torquato e Bianca Costa pela paciência, amizade e suporte. Vocês foram fundamentais para tornar toda essa etapa mais leve e alegre! Minha Gratidão pela amizade de vocês!

À minha coorientadora Mariéllen Longo, agradeço a amizade e por toda ajuda na execução do trabalho!

À Marcinha, Valéria e Jaqueline por toda ajuda e apoio prestados nas clínicas.

Aos professores do programa de Pós-graduação em Biopatologia Bucal, obrigada por tantos ensinamentos que me transmitiram.

Aos meus colegas de pós-graduação: Amanda, Camila Lopes, Camila Moretto, Cristhian, Eduardo, Juliana, Laís, Manuela e Victória agradeço pelos bons momentos de convivência e aprendizado nesses dois anos,

“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos não é senão uma gota de água no mar.

Mas o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.

(Madre Teresa de Calcutá)

SUMÁRIO

RESUMO.....	8
ABSTRACT.....	9
1 INTRODUÇÃO	10
2 PROPOSIÇÃO	17
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	18
3.1 População Alvo.....	18
3.2 Tamanho da Amostra.....	18
3.3 Critérios de Inclusão	19
3.4 Critérios de Não Inclusão	19
3.5 Critérios de Saída	20
3.6 Delineamento do Estudo.....	20
3.7 Terapia Inicial.....	20
3.8 Sequência de Aleatorização e Cegamento	21
3.9 Tratamento	21
3.10 Medidas Clínicas	26
3.11 Índice PISA.....	26
3.12 Análise Estatística.....	29
4 RESULTADO	30
4.1 Parâmetros Clínicos de boca toda.....	30
4.1.1 Profundidade de Sondagem (PS).....	31
4.1.2 Nível de Inserção Clínica (NIC).....	31
4.1.3 Recessão Gengival (RG).....	32
4.2 Índice PISA.....	34
4.3 Bolsas Moderadas e Profundas	35
4.4 Efeitos Adversos	38
5 DISCUSSÃO	39
6 CONCLUSÃO	44
REFERÊNCIAS.....	45
APÊNDICES.....	53
ANEXO.....	83

Ramos TCS. Efeito das terapias antibiótica e probiótica no tratamento adjuvantes da periodontite: estudo clínico controlado randomizado [dissertação]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2020.

RESUMO

O objetivo deste projeto foi avaliar a resposta dos parâmetros periodontais clínicos: Índice de Placa (IP), Sangramento à Sondagem (SS), Profundidade de sondagem (PS), Recessão gengival (RG) e Nível de Inserção Clínica (NIC) e PISA, diante da comparação de duas diferentes terapias adjuvantes (antibiótico e probiótico) para o tratamento da periodontite (Grau B Estágios II e III). Para tal, 45 pacientes foram incluídos no estudo divididos aleatoriamente em 3 grupos com n=15: grupo DEB (Debridamento); grupo DEB+ATB (Debridamento + Amoxicilina 500mg + Metronidazol 400mg) e grupo DEB+PROBI (Debridamento+Probiótico *Lactobacillus reuteri*). As análises dos parâmetros clínicos foram realizadas no Baseline, 30 dias e 90 dias. Para os dados não paramétricos foi realizado o teste de variância Kruskal-Wallis através do software BioEstat 5.3 (Belém, PA, Brazil) e teste de Dunn post hoc para as comparações múltiplas. Para os dados com distribuição normal, foi utilizado o teste Qui-Quadrado e One Way ANOVA, todos com $\alpha = 5\%$. Em relação ao IP o grupo DEB+PROBI apresentou menores valores em relação aos demais grupos em 30 dias ($0,43 \pm 0,13$, $p=0,008$) e em 90 dias ($0,43 \pm 0,11$, $p= 0,001$). Para SS na comparação intergrupos o grupo DEB+ATB apresentou menores valores em 90 dias ($0,28 \pm 0,07$, $p= 0,03$). Para PS e NIC de boca toda na comparação intergrupos não houve diferença estatística entre os valores. Para RG de boca toda o grupo DEB+PROBI apresentou diferença estatística ($0,35 \pm 0,15$, $p=0,006$). Os valores de PISA não apresentaram diferenças estatisticamente significantes na comparação intergrupos. Em relação à estratificação das bolsas (moderadas e profundas), a PS para bolsas profundas apresentou na comparação intergrupos menores valores em 90 dias para o grupo DEB+ATB ($4,31 \pm 0,84$, $p=0,02$) e em relação a quantidade de bolsas residuais, na comparação intergrupos o grupo DEB+ATB apresentou uma menor quantidade de sítios ($0,93 \pm 1,28$, $p=0,04$) em 30 dias. O grupo DEB+ATB apresentou uma maior quantidade de efeitos adversos quando comparado ao grupo DEB+PROBI, o qual nenhum paciente relatou a ocorrência de efeitos adversos. Podemos concluir que ambas terapias adjuvantes, durante o período de avaliação de 90 dias, apresentaram resultados sem diferenças estatisticamente significantes na redução da profundidade de sondagem, porém, clinicamente, apesar de uma maior incidência de efeitos adversos, o antibiótico mostrou-se mais eficaz na redução de bolsas profundas.

Palavras-chave: Periodontite. Debridamento periodontal. Antibióticos. Probióticos.

Ramos TCS. *Effect of antibiotic and probiotic therapies on adjuvant treatment of periodontitis: randomized controlled trial [dissertation].* São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2020.

ABSTRACT

The objective of this project was to evaluate the response of clinical periodontal parameters: Plaque Index (IP), Bleeding on Probing (BoP), Probing Depth (PD), Gingival Recession (GR), Clinical Attachment Level (CAL) and PISA, comparing two different adjuvant therapies (antibiotic and probiotic) for the treatment of periodontitis (Grade B Stages II and III). For this, 45 patients were included in the study, randomly divided into 3 groups with $n = 15$: DEB group (Debridement); DEB + ATB group (Debridement + Amoxicillin 500mg + Metronidazole 400mg) and DEB + PROBI group (Debridement + *Lactobacillus reuteri* probiotic). The analyzes of clinical parameters were performed at baseline, 30 days and 90 days. For non-parametric data, the Kruskal-Wallis variation test was performed using the BioEstat 5.3 software (Belém, PA, Brazil) and Dunn post hoc test for multiple comparisons. For data with normal distribution, the Chi-Square and One Way ANOVA tests were used, all with $\alpha = 5\%$. Regarding PI, DEB + PROBI group presents lower values in relation to the other groups in 30 days (0.43 ± 0.13 , $p = 0.008$) and in 90 days (0.43 ± 0.11 , $p = 0.001$). For BoP in the intergroup comparison of the DEB + ATB group, the values are lower in 90 days (0.28 ± 0.07 , $p = 0.03$). For PD and CAL of full mouth parameters the comparative comparison showed that there was no statistical difference between the values. For full mouth GR, DEB + PROBI group shows statistical difference (0.35 ± 0.15 , $p = 0.006$). The PISA values did not show statistically significant differences in the comparison between groups. Regarding the pockets stratification (moderate and deep), a PD for deep pockets shows at the intergroup comparison lower values in 90 days for the DEB + ATB group (4.31 ± 0.84 , $p = 0.02$) and in relation to the number of residual pockets, in the comparison between groups, the group DEB + ATB, presents a smaller number of sites (0.93 ± 1.28 , $p = 0.04$) in 30 days. The DEB + ATB group had a higher number of adverse effects when compared to the DEB + PROBI group in which no patient related to the occurrence of adverse effects. we can conclude that both adjunct therapies during the 3-month evaluation period showed results without statistically significant differences, however clinically, despite having a higher incidence of adverse effects, the antibiotic proved to be more effective in reducing deep pockets.

Keywords: Periodontitis. Periodontal debridement. Antibiotics. Probiotics.

1 INTRODUÇÃO

As doenças periodontais são altamente prevalentes e podem afetar até 90% da população mundial. A periodontite é um importante problema de saúde pública devido à sua alta prevalência, pois pode levar à perda e a disfunção dentária, afetar negativamente a função mastigatória e a estética, ser fonte de desigualdade social e prejudicar a qualidade de vida. É responsável por uma proporção substancial de edentulismo e disfunção mastigatória, resultando em custos significativos de atendimento odontológico e um impacto negativo na saúde geral. (Papapanou et al., 2018).

A Periodontite é uma doença crônica inflamatória multifatorial associada com o biofilme disbiótico e caracterizada pela progressiva destruição do aparato de suporte dentário. Suas principais características incluem perda de suporte do tecido periodontal, manifestada pela perda de inserção clínica e perda óssea alveolar avaliada radiograficamente, presença de bolsas periodontais e sangramento gengival (Papapanou et al., 2018). Embora a gengivite e a periodontite sejam iniciadas e sustentadas pelo biofilme microbiano da placa dental, fatores genéticos e ambientais do hospedeiro influenciam a taxa de progressão da doença (Kidane, Papapanou, 2017).

Figura 1 – Imagem de um paciente com doença periodontal



Fonte: Elaborado pelo autor.

A natureza do biofilme dental é poli microbiana sendo estimado até o momento mais de 700 espécies de bactérias residentes na cavidade oral (Berezow, Darveau, 2011; Aas et al., 2005). Esta microbiota residente não tem uma relação meramente passiva com o hospedeiro, mas contribui direta e indiretamente para o desenvolvimento normal dos sistemas de fisiologia, nutrição e defesa daquele hospedeiro (Marsh, 2003). Uma vez estabelecida, a composição da microbiota residente de cada local permanece relativamente estável ao longo do tempo. Esta estabilidade (que tem sido denominada homeostase microbiana) não provém de qualquer indiferença biológica entre o hospedeiro e a microbiota, mas resulta de um equilíbrio dinâmico que surge de interações inter-microbianas e inter-hospedeiras (Alexander, 1971; Marsh, 1989). Uma mudança no habitat ou no ambiente local pode perturbar esse equilíbrio. As diferentes superfícies presentes no ambiente oral propiciam condições ecológicas diferentes para o desenvolvimento microbiano. Assim, as propriedades do habitat determinam a composição quantitativa e qualitativa da microbiota residente. Isto confirma que existe uma relação direta e dinâmica entre o ambiente e a microbiota, mesmo na escala do micro-habitat (Marsh, 2003).

Na doença periodontal, o epitélio juncional na base do sulco gengival migra

em direção apical para formar uma bolsa periodontal, e a produção de fluido crevicular gengival (FCG) é aumentada em resposta ao aumento na quantidade de biofilme. Esses novos ambientes selecionarão a comunidade microbiana mais adaptada às condições prevalentes (Marsh, 2003). Em resposta à essa quebra de homeostase o hospedeiro possui diversas formas de defesa provenientes das respostas inatas e adaptativas do sistema imune cuja função primária é proteger os tecidos contra a colonização e invasão microbiana (Marsh, Devine, 2011). É reconhecido que tanto o desafio bacteriano como a sua relação com o hospedeiro sejam fatores chaves para o desenvolvimento das doenças periodontais (Teughels et al., 2013; Sanz, Quirvnen, 2005).

Entender a natureza da doença é crucial para a pesquisa e o desenvolvimento de uma promoção de saúde e a elaboração de terapias mais eficazes. Inicialmente, a periodontite é tratada de maneira não cirúrgica. A terapia não cirúrgica consiste em raspagem e aplainamento radicular associada à instrução de higiene oral (Keestra et al., 2015). Terapias mecânicas visam melhorar as condições clínicas, diminuindo a carga microbiana, seja pela remoção física do biofilme ou pela desorganização do biofilme subgengival (Haffajee et al., 2006) e são consideradas como padrão ouro para o tratamento dos quadros de periodontite. No entanto o debridamento mecânico é um procedimento altamente exigente, com algumas limitações como a dificuldade de acesso em casos de bolsas profundas, as irregularidades na superfície radicular bem como as áreas de furca (Jepsen K, Jepsen S, 2016; Jepsen et al., 2011), levando a persistência do processo de doença. Quando os efeitos esperados não são alcançados, terapias adjuntas podem ser utilizadas visando melhores resultados no tratamento da doença.

A natureza microbiana da doença periodontal permite que agentes antimicrobianos sejam administrados de forma adjunta à terapia mecânica convencional nos casos mais severos de periodontite (Falkenstein et al., 2016). De acordo com a Academia Americana de Periodontia (2004) os antibióticos podem ser prescritos para pacientes que não respondem à terapia mecânica convencional, pacientes com infecções periodontais agudas associadas a manifestações sistêmicas, como profilaxia em pacientes comprometidos sistemicamente e como adjunto na terapia periodontal cirúrgica e não cirúrgica. É esperado que os micro-organismos patogênicos que não foram acessados pela remoção mecânica sejam

reduzidos em número ou eliminados pela antibioticoterapia (Jepsen K, Jepsen S, 2016; Walker Karpinia, 2002).

A literatura (Keestra et al., 2015; Mombelli et al., 2000; Haffajee et al., 2003; Herrera et al., 2002) mostra que os antibióticos sistêmicos em combinação com a terapia periodontal não-cirúrgica podem gerar resultados positivos, contudo essas melhoras clínicas são acompanhadas de efeitos adversos como desconforto gastrointestinal, náuseas, úlcera orais, diarreia, sensação de ardência bucal, entre outros (Jepsen K, Jepsen S, 2016; Heller et al., 2011; Silva et al., 2011). Além disso, o crescimento da resistência bacteriana tem aumentado drasticamente como resultado do uso indiscriminado de antimicrobianos (Jepsen K, Jepsen S, 2016; Palmer, Kishony, 2013), uma vez que a maioria dos regimes de terapia antibiótica parecem ser prescritos empiricamente sem uma orientação a partir de uma análise microbiológica das bactérias subgengivais presentes no biofilme (Jepsen K, Jepsen, 2016; Ellen, McCulloch, 1996).

Portanto há necessidade de encontrar outros mecanismos adjuntos de combate à doença que sejam uma alternativa ao uso dos antibióticos evitando o uso excessivo e a ocorrência de cepas bacterianas resistentes aos antibióticos atualmente disponíveis. O uso de antissépticos ou a terapia fotodinâmica tem sido propostos como formas de terapias adjuntas para atingir uma melhor descontaminação da superfície radicular (Martin-Cabezas et al., 2016; Yen, et al., 2008; Berezow, Darveau, 2011). Uma outra abordagem consiste na modulação da composição do biofilme a partir da administração de probióticos concomitantemente à raspagem e aplainamento radicular (Martin-Cabezas, et al., 2016; Teughels et al., 2011; Vivekananda et al., 2010).

O termo probiótico significa “para a vida” e é utilizado para nomear bactérias associadas com efeitos benéficos a humanos e animais quando administrados em doses suficientemente adequadas (FAO/WHO, 2001). A crença de que essas bactérias podem influenciar a saúde remonta ao início do século XX, quando o russo Elie Metchnikof, ganhador do prêmio Nobel, relatou que os búlgaros viviam mais do que outras nações e supôs que isso acontecesse devido do consumo de produtos lácteos contendo bactérias viáveis. A ideia era que as bactérias nos produtos fermentados competissem com micro-organismos prejudiciais à saúde (Caglar et al., 2005a). Na área médica os efeitos dos probióticos estão bem estabelecidos em

diversas áreas como o tratamento de diarreia associada ao uso de antibióticos e outras condições relacionadas ao trato gastrointestinal, prevenção ou alívio de alergias atópicas em crianças entre muitas outras. (Teughels et al., 2011). Como a microbiota oral é tão complexa quanto a microbiota gastrointestinal e os biofilmes dentários são considerados alvos terapêuticos difíceis (Socransky, Haffajee 2002), além dos efeitos encorajadores dos probióticos em diferentes campos da saúde, a introdução de probióticos para saúde bucal foi usada como uma nova alternativa (Meurman, 2005; Teughels et al., 2008; Teughels et al., 2011). A utilização do probióticos na saúde oral é apoiada pela hipótese da placa ecológica, que sugere que a pressão nas condições ambientais pode alterar o equilíbrio entre saúde e doença (Marsh, 2003). Atualmente, vários estudos clínicos sobre os efeitos dos probióticos em diferentes campos da saúde bucal foram publicados, tais como: halitose (Henker et al., 2001; Burton et al., 2006; Kang et al., 2006b), candidíase oral (Ahola et al. 2002, Hatakka et al. 2007) e cárie dentária (Näse et al., 2001; Montalto et al., 2004; Nikawa et al., 2004; Caglar et al., 2005b; Caglar et al., 2006; Caglar et al., 2008; Caglar et al., 2009; Cildir et al., 2009; Stecksén-Blicks et al., 2009).

A razão da utilização dos probióticos como forma adjunta à terapia periodontal convencional está baseada no conceito da etiologia da inflamação periodontal relacionada à placa bacteriana. Esta visão etiológica considera três fatores como determinantes do desenvolvimento da doença em um indivíduo (Teughels et al., 2011; Slots, Rams, 1991; Socransky, Haffajee, 1992; Wolff et al., 1994): um hospedeiro susceptível, a presença de espécies patogênicas e a redução ou ausência das chamadas “bactérias benéficas”. Como é difícil influenciar a resposta do hospedeiro, as terapias periodontais tradicionais focam na redução da ameaça bacteriana (Teughels et al., 2011; Salvi, Lang, 2005).

Organismos probióticos podem ser usados a partir de uma série de mecanismos, incluindo: 1) exclusão e concorrência com possíveis agentes patogênicos por nutrientes e adesão celular e epitelial; 2) produção de substâncias antibacterianas contra periodontopatógenos, tais como ácido lático, peróxido de hidrogênio, bacteriocinas e substâncias inibidoras de bacteriocina (Gillor et al. 2008, Gordon 2009, Oelschlaeger 2010); 3) imunomodulação local e sistêmica a partir da regulação da expressão de receptores de fagocitose em neutrófilos (Pelto et al., 1998) e aumentar a atividade de células natural killer (NK) (Takeda et al., 2006) além

de serem reconhecidos pelas células do hospedeiro como células epiteliais e células imunes (Delcenserie et al., 2008; Oelschlaeger, 2010); 4) aumento da função barreira da mucosa (İnce et al., 2015; Teughels et al., 2011). As bactérias probióticas podem produzir uma gama diversificada de compostos que atuam como agentes antimicrobianos, tais como ácido láctico, peróxido de hidrogênio, bacteriocinas e substâncias inibidoras semelhantes à bacteriocinas (Teughels et al., 2011; Gillor et al., 2008; Gordon, 2009; Oelschlaeger, 2010). A propriedade de exclusão competitiva usada pelas bactérias benéficas pode ocorrer de duas formas: dificultando a aderência de bactérias patogênicas ou competindo pelos mesmos nutrientes essenciais (Teughels et al., 2011).

As cepas mais usadas pertencem aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, gêneros comumente encontrados na cavidade oral. Para o tratamento de pacientes com periodontite a espécie probiótica mais comumente usada até o momento é o *Lactobacillus reuteri*. A utilização de pastilhas uma ou duas vezes ao dia tem sido considerada uma terapia adjunta útil à raspagem e aplainamento radicular. Menores índices de placa (IP), Sangramento a Sondagem (SS) Profundidade de Sondagem (PS) foram resultados observados após tratamento (Tekce et al., 2015; Vicario et al., 2013; Meurman et al., 2018). Os mecanismos da atividade probiótica foram associados a um número reduzido de patógenos periodontais como *Porphyromonas gingivalis*, e menores concentrações de TNF- α , IL-1 β e IL-17 no fluido crevicular gengival (FCG) (Teughels et al., 2013; Meurman et al., 2018).

A partir do atual conhecimento dos mecanismos de ação dos probióticos no tratamento da doença periodontal, surge uma alternativa ao uso indiscriminado dos antibióticos, auxiliando na prevenção do aparecimento de cepas bacterianas resistentes aos antibióticos presentes no mercado.

Poucos estudos clínicos controlados e randomizados foram realizados avaliando os efeitos dos probióticos como terapia adjunta ao debridamento periodontal e as informações presentes ainda são inconclusivas. Por esse motivo, o objetivo do presente estudo foi avaliar, por meio dos parâmetros clínicos, a resposta do tratamento da periodontite grau B estágios II e III associado a duas terapias adjuntas diferentes (antibiótico e probiótico).

6 CONCLUSÃO

Dentro dos limites do presente estudo, podemos concluir que ambas terapias adjuvantes, durante o período de avaliação de 90 dias, apresentaram resultados sem diferenças estatisticamente significantes na redução da profundidade de sondagem, porém, clinicamente, apesar de uma maior incidência de efeitos adversos, o antibiótico mostrou-se mais eficaz na redução de bolsas profundas.

REFERÊNCIAS*

Aas JA, Paster BJ, Stokes LN, Olsen I, Dewhirst FE. Defining the normal bacterial flora of the oral cavity. *J Clin Microbiol.* 2005;43:5721–32.

Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J.* 1975 Dec;25(4):229-35. PubMed PMID: 1058834

Ahola AJ, Yli-Knuuttila H, Suomalainen T, Poussa T, Ahlström A, Meurman JH, et al. Short-term consumption of probiotic-containing cheese and its effect on dental caries risk factors. *Arch Oral Biol.* 2002 Nov;47(11):799-804. PubMed PMID: 12446187.

Alexander M. *Microbial Ecology.* New York: Wiley; 1971.

Berezow AB, Darveau RP. Microbial shift and periodontitis. *Periodontol* 2000. 2011 Feb;55(1):36-47. doi: 10.1111/j.1600-0757.2010.00350. x. Review. PubMed PMID: 21134227; PubMed Central PMCID: PMC3058494.

Burton JP, Chilcott CN, Moore CJ, Speiser G, Tagg JR. A preliminary study of the effect of probiotic *Streptococcus salivarius* K12 on oral malodour parameters. *J Appl Microbiol.* 2006 Apr;100(4):754-64. PubMed PMID: 16553730.

Borges I, Faveri M, Figueiredo LC, Duarte PM, Retamal-Valdes B, Montenegro SCL, Feres M. Different antibiotic protocols in the treatment of severe chronic periodontitis: A 1-year randomized trial. *J Clin Periodontol.* 2017 Aug;44(8):822-832. doi: 10.1111/jcpe.12721. Epub 2017 Jul 26. PubMed PMID: 28303587.

Caglar E, Cildir SK, 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 Odontol Scand.* 2006 Oct;64(5):314-8. PubMed PMID: 16945898.

Caglar E, Kargul B, Tanboga I. Bacteriotherapy and probiotics' role on oral health. *Oral Dis.* 2005 May;11(3):131-7. Review. PubMed PMID: 15888102.

Caglar E, Kuscu OO, Cildir SK, Kuvvetli SS, Sandalli N. A probiotic lozenge administered medical device and its effect on salivary mutans streptococci and lactobacilli. *Int J Paediatr Dent.* 2008 Jan;18(1):35-9. PubMed PMID: 18086024.

Caglar E, Sandalli N, Twetman S, Kavaloglu S, Ergeneli S, Selvi S. Effect of yogurt with *Bifidobacterium* DN-173 010 on salivary mutans streptococci and lactobacilli in young adults. *Acta Odontol Scand.* 2005 Nov;63(6):317-20. PubMed PMID: 16512103.

* Baseado em: International Committee of Medical Journal Editors Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical journals: Sample References [Internet]. Bethesda: US NLM; c2003 [cited 2019 Jan 2019]. U.S. National Library of Medicine; [about 6 p.]. Available from: http://www.nlm.nih.gov/bsd/uniform_requirements.html

Caglar E, Topcuoglu N, Cildir SK, Sandalli N, Kulekci G. Oral colonization by *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 after exposure to probiotics. *Int J Paediatr Dent*. 2009 Sep;19(5):377-81. doi: 10.1111/j.1365-263X.2009.00989.x. Epub 2009 Apr 7. PubMed PMID: 19486373.

Cildir SK, Germec D, Sandalli N, Ozdemir FI, Arun T, Twetman S, Caglar E. Reduction of salivary mutans streptococci in orthodontic patients during daily consumption of yoghurt containing probiotic bacteria. *Eur J Orthod*. 2009 Aug;31(4):407-11. doi: 10.1093/ejo/cjn108. Epub 2009 Feb 4. PubMed PMID: 19193706.

Champagne CP, Ross, RP, Saarela M, Hansen KF, Charalampopoulos D. Recommendations for the viability assessment of probiotics as concentrated cultures and in food matrices. *Int J Food Microbiol*, 149, 185–193. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.07.005>.

Cobb CM. Non-surgical pocket therapy: mechanical. *Ann Periodontol*. 1996 Nov;1(1):443-90. Review. PubMed PMID: 9118268.

Deas DE, Mealey BL. Response of chronic and aggressive periodontitis to treatment. *Periodontol 2000*. 2010 Jun;53:154-66. doi: 10.1111/j.1600-0757.2009.00334.x. Review. PubMed PMID: 20403111.

Delcenserie V, Martel D, Lamoureux M, Amiot J, Boutin Y, Roy D. Immunomodulatory effects of probiotics in the intestinal tract. *Curr Issues Mol Biol*. 2008;10(1-2):37-54. Review. PubMed PMID: 18525105.

Drisko CL. Periodontal debridement: still the treatment of choice. *J Evid Based Dent Pract*. 2014 Jun;14 Suppl:33-41.e1. doi: 10.1016/j.jebdp.2014.02.007. Epub 2014 Feb 15. Review. PubMed PMID: 24929587.

Ellen RP, McCulloch CA. Evidence versus empiricism: rational use of systemic antimicrobial agents for treatment of periodontitis. *Periodontol 2000*. 1996 Feb;10:29-44. Review. PubMed PMID: 9567936.

Falkenstein S, Stein JM, Henne K, Conrads G. Trends in antibiotic use and microbial diagnostics in periodontal treatment: comparing surveys of German dentists in a ten-year period. *Clin Oral Investig*. 2016 Nov;20(8):2203-2210. Epub 2016 Jan 22. PubMed PMID: 26795626.

Feres M, Figueiredo LC, Soares GM, Faveri M. Systemic antibiotics in the treatment of periodontitis. *Periodontol 2000*. 2015 Feb;67(1):131-86. doi:10.1111/prd.12075. Review. PubMed PMID: 25494600.

Feres M, Soares GM, Mendes JA, Silva MP, Faveri M, Teles R, et al. Metronidazole alone or with amoxicillin as adjuncts to non-surgical treatment of chronic periodontitis: a 1-year double-blinded, placebo-controlled, randomized clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2012 Dec;39(12):1149-58. doi: 10.1111/jcpe.12004. Epub 2012 Sep 27. PubMed PMID: 23016867.

Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization, Probiotics in Food: Health and Nutritional Properties and Guidelines for Evaluation, Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria, Cordoba, Argentina, 1–4 October 2001.

Guerrero A, Griffiths GS, Nibali L, Suvan J, Moles DR, Laurell L, Tonetti MS. Adjunctive benefits of systemic amoxicillin and metronidazole in non-surgical treatment of generalized aggressive periodontitis: a randomized placebo-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol*. 2005 Oct;32(10):1096-107. PubMed PMID: 16174275.

Gillor O, Etzion A, Riley M. A. The dual role of bacteriocins as anti- and probiotics. *Microb Biotechnol*. 2008. 81, 591–606.

Gordon DM. The potential of bacteriocin producing probiotics and associated caveats. *Future Microbiol*. 2009.4:941–43.

Gupta SK. Intention-to-treat concept: A review. *Perspect Clin Res*. v. 2, p. 109-112, 2011.

Haffajee AD, Socransky SS, Gunsolley JC. Systemic anti-infective periodontal therapy. A systematic review. *Ann Periodontol*. 2003 Dec;8(1):115-81. Review. PubMed PMID: 14971252.

Haffajee AD, Teles RP, Socransky SS. The effect of periodontal therapy on the composition of the subgingival microbiota. *Periodontol 2000*. 2006;42:219-58. PubMed PMID: 16930312.

Hatakka K, Ahola AJ, Yli-Knuuttila H, Richardson M, Poussa T, Meurman JH, et al. Probiotics reduce the prevalence of oral candida in the elderly—a randomized controlled trial. *J Dent Res*. 2007 Feb;86(2):125-30. PubMed PMID: 17251510.

Heller D, Varela VM, Silva-Senem MXE, Torres MCB, Feres-Filho EJ, Colombo APV. Impact of systemic antimicrobials combined with anti-infective mechanical debridement on the microbiota of generalized aggressive periodontitis: a 6-month RCT. *J Clin Periodontol* 2011; 38:355–64.

Henker J, Schuster F, Nissler K. Successful treatment of gut-caused halitosis with a suspension of living non-pathogenic *Escherichia coli* bacteria--a case report. *Eur J Pediatr*. 2001 Oct;160(10):592-4. PubMed PMID: 11686501.

Herrera D, Sanz M, Jepsen S, Needleman I, Roldán S. A systematic review on the effect of systemic antimicrobials as an adjunct to scaling and root planing in periodontitis patients. *J Clin Periodontol*. 2002;29 Suppl 3:136-162. doi:10.1034/j.1600-051x.29.s3.8.x.

Hung HC, Douglass CW. Meta-analysis of the effect of scaling and root planing, surgical treatment and antibiotic therapies on periodontal probing depth and attachment loss. *J Clin Periodontol*. 2002 Nov;29(11):975-86. PubMed PMID: 12472990

Invernici MM, Salvador SL, Silva PHF, Soares MSM, Casarin R, Palioto DB, et al. Effects of *Bifidobacterium* Probiotic on the Treatment of Chronic Periodontitis: A Randomized Clinical Trial. *J Clin Periodontol*. 2018 Aug 4. doi: 10.1111/jcpe.12995. [Epub ahead of print]

İnce G, Gürsoy H, İpçi ŞD, Cakar G, Emekli-Alturfan E, Yılmaz S. Clinical and Biochemical Evaluation of Lozenges Containing *Lactobacillus reuteri* as an Adjunct to Non-Surgical Periodontal Therapy in Chronic Periodontitis. *J Periodontol*. 2015 Jun;86(6):746-54. doi: 10.1902/jop.2015.140612. Epub 2015 Mar 5. PubMed PMID:25741580

Jepsen K, Jepsen S. Antibiotics/antimicrobials: systemic and local administration in the therapy of mild to moderately advanced periodontitis. *Periodontol 2000*. 2016 Jun;71(1):82-112. doi: 10.1111/prd.12121. Review. PubMed PMID: 27045432.

Jepsen S, Deschner J, Braun A, Schwarz F, Eberhard J. Calculus removal and the prevention of its formation. *Periodontol 2000* 2011; 55: 167–188.

Kang MS, Kim BG, Chung J, Lee HC, Oh JS. Inhibitory effect of *Weissella cibaria* isolates on the production of volatile sulphur compounds. *J Clin Periodontol*. 2006 Mar;33(3):226-32. PubMed PMID: 16489950.

Keestra JA, Grosjean I, Coucke W, Quirynen M, Teughels W. Non-surgical periodontal therapy with systemic antibiotics in patients with untreated chronic periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontal Res*. 2015Jun;50(3):294-314. doi: 10.1111/jre.12221. Epub 2014 Aug 21. Review. PubMed PMID: 25142259.

Kinane DF, Stathopoulou PG, Papapanou, PN. Periodontal diseases. *Nat Rev Dis Primers*, 2017;3:17038.

Lang NP, Tonetti MS. Periodontal risk assessment (PRA) for patients in supportive periodontal therapy (SPT). *Oral Health Prev Dent*. 2003;1(1):7-16. PubMed PMID: 15643744.

Martin-Cabezas R, Davideau JL, Tenenbaum H, Huck O. Clinical efficacy of probiotics as an adjunctive therapy to non-surgical periodontal treatment of chronic periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol*. 2016 Jun;43(6):520-30. doi: 10.1111/jcpe.12545. Epub 2016 May 7. Review. PubMed PMID: 26970230.

Martys CR. Monitoring adverse reactions to antibiotics in general practice. *J Epidemiol Community Health*. 1982 Sep;36(3):224-7. PubMed PMID: 7142889; PubMed Central PMCID: PMC1052217.

Marsh PD. Host defenses and microbial homeostasis: role of microbial interactions. *J Dent Res* 68,1989, 1567–75.

Marsh PD. Are dental diseases examples of ecological catastrophes? *Microbiology*. 2003 Feb;149(Pt 2):279-94. PubMed PMID: 12624191.

Marsh PD, Devine DA. How is the development of dental biofilms influenced by the host? *J Clin Periodontol*. 2011 Mar;38 Suppl 11:28-35. doi: 10.1111/j.1600-051X.2010.01673.x. Review. PubMed PMID: 21323701.

Matarazzo F, Figueiredo LC, Cruz SE, Faveri M, Feres M. Clinical and microbiological benefits of systemic metronidazole and amoxicillin in the treatment of smokers with chronic periodontitis: a randomized placebo-controlled study. *J Clin Periodontol*. 2008 Oct;35(10):885-96. doi: 10.1111/j.1600-051X.2008.01304.x. Epub 2008 Aug 24. PubMed PMID: 18727657.

Matuliene G, Pjetursson BE, Salvi GE, Schmidlin K, Brägger U, Zwahlen M, et al. Influence of residual pockets on progression of periodontitis and tooth loss: results after 11 years of maintenance. *J Clin Periodontol*. 2008 Aug;35(8):685-95. doi: 10.1111/j.1600-051X.2008.01245.x. Epub 2008 Jul 23. PubMed PMID: 18549447.

Matuliene G, Studer R, Lang NP, Schmidlin K, Pjetursson BE, Salvi GE, et al. Significance of Periodontal Risk Assessment in the recurrence of periodontitis and tooth loss. *J Clin Periodontol*. 2010 Feb;37(2):191-9. doi: 10.1111/j.1600-051X.2009.01508.x. Epub 2009 Dec 21. PubMed PMID: 20041980.

Meurman JH. Probiotics: do they have a role in oral medicine and dentistry? *Eur J Oral Sci*. 2005 Jun;113(3):188-96. Review. PubMed PMID: 15953242.

Meurman JH, Stamatova IV. Probiotics: Evidence of Oral Health Implications. *Folia Med (Plovdiv)*. 2018 Mar 1;60(1):21-9. doi: 10.1515/folmed-2017-0080. Review. PubMed PMID: 29668457.

Moher D, Hopewell S, Schulz KF, Montori V, Gøtzsche PC, Devereaux PJ, et al. CONSORT 2010 explanation and elaboration: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *BMJ*. 2010 Mar 23;340:c869. doi: 10.1136/bmj.c869. PubMed PMID: 20332511; PubMed Central PMCID: PMC2844943.

Mombelli A, Schmid B, Rutar A, Lang NP. Persistence patterns of *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia/nigrescens*, and *Actinobacillus actinomyetemcomitans* after mechanical therapy of periodontal disease. *J Periodontol*. 2000;71(1):14-21. doi:10.1902/jop.2000.71.1.14.

Montalto M, Vastola M, Marigo L, Covino M, Graziosetto R, Curigliano V, Santoro L, et al. Probiotic treatment increases salivary counts of lactobacilli: a double-blind, randomized, controlled study. *Digestion*. 2004;69(1):53-6. Epub 2004 Jan 30. PubMed PMID: 14755153.

Morales A, Gandolfo A, Bravo J, Carvajal P, Silva N, Godoy C, et al. Microbiological and clinical effects of probiotics and antibiotics on nonsurgical treatment of chronic periodontitis: a randomized placebo- controlled trial with 9-month follow-up. *J Appl Oral Sci*. 2018 Jan 18;26:e20170075. doi: 10.1590/1678-7757-2017-0075. PubMed PMID: 29364340; PubMed Central PMCID: PMC5777419.

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 Nov-Dec;35(6):412-20. PubMed PMID: 11799281.

Nikawa H, Makihiro S, Fukushima H, Nishimura H, Ozaki Y, Ishida K, Darmawan S, Hamada T, Hara K, Matsumoto A, Takemoto T, Aimi R. *Lactobacillus reuteri* in bovine milk fermented decreases the oral carriage of mutans streptococci. *Int J Food Microbiol*. 2004 Sep 1;95(2):219-23. PubMed PMID: 15282133.

Nesse W, Abbas F, van der Ploeg I, Spijkervet FK, Dijkstra PU, Vissink A. Periodontal inflamed surface area: quantifying inflammatory burden. *J Clin Periodontol*. 2008 Aug;35(8):668-73. doi: 10.1111/j.1600-051X.2008.01249.x. Epub 2008 Jun 28. PubMed PMID: 18564145.

Oelschlaeger TA. Mechanisms of probiotic actions - A review. *Int J Med Microbiol*. 2010 Jan;300(1):57-62. doi:10.1016/j.ijmm.2009.08.005. Epub 2009 Sep 23. Review. PubMed PMID: 19783474.

O'Leary TJ, Drake RB, Naylor JE. The plaque control record. *J Periodontol* 1972;43: 38.

Palmer AC, Kishony R. Understanding, predicting and manipulating the genotypic evolution of antibiotic resistance. *Nat Rev* 2013; 14: 243–248.

Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine DH, et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Periodontol*. 2018 Jun;89 Suppl 1:S173-S182. doi: 10.1002/JPER.17-0721. PubMedPMID: 29926951.

Pelto L, Isolauri E, Lilius EM, Nuutila J, Salminen S. Probiotic bacteria down-regulate the milk-induced inflammatory response in milk-hypersensitive subjects but have an immunostimulatory effect in healthy subjects. *Clin Exp Allergy*. 1998 Dec;28(12):1474-9. PubMed PMID: 10024217.

Pihlstrom B. Commentary: Treatment of periodontitis: key principles include removing subgingival bacterial deposits; providing a local environment and education to support good home care; providing regular professional maintenance. *J Periodontol* 2014; 85: 655–656.

Position Paper: Systemic Antibiotics in Periodontics - *Journal of Periodontology* Nov 2004, Vol. 75, No. 11, Pages 1553-1565 PubMed PMID: 16930312.

Salvi GE, Lang NP. The effects of non-steroidal anti-inflammatory drugs (selective and non-selective) on the treatment of periodontal diseases. *Curr Pharm Des*. 2005;11(14):1757-69. Review. PubMed PMID: 15892673.

Sanz I, Alonso B, Carasol M, Herrera D, Sanz M. Nonsurgical treatment of periodontitis. *J Evid Based Dent Pract*. 2012 Sep;12(3 Suppl):76-86. doi: 10.1016/S1532-3382(12)70019-2. Review. PubMed PMID: 23040340.

Sanz M, Quirynen M, () Advances in the aetiology of periodontitis. Group A consensus report of the 5th European Workshop in Periodontology. *J Clin Periodontol*. 2005;32 (Suppl. 6), 54–56.

Silva MP, Feres M, Oliveira Siroto TA, Silva Soares GM, Velloso Mendes JA, Faveri M, Figueiredo LC. Clinical and microbiological benefits of metronidazole alone or with

amoxicillin as adjuncts in the treatment of chronic periodontitis: a randomized placebo-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol* 2011;38:828–37.

Slots J, Rams TE. New views on periodontal microbiota in special patient categories. *J Clin Periodontol*. 1991 Jul;18(6):411-20. Review. PubMed PMID:1890221.

Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets. *Periodontol* 2000. 2002;28:12-55. Review. PubMed PMID: 12013340.

Socransky SS, Haffajee AD. The Bacterial Etiology of Destructive Periodontal Disease: Current Concepts. *J Periodontol*. 1992 Apr;63 Suppl 4S:322-331. doi:10.1902/jop.1992.63.4s.322. PubMed PMID: 29539682.

Takeda K, Suzuki T, Shimada SI, Shida K, Nanno M, Okumura K. Interleukin-12 is involved in the enhancement of human natural killer cell activity by *Lactobacillus casei* Shirota. *Clin Exp Immunol*. 2006 Oct;146(1):109-15. PubMed PMID: 16968405; PubMed Central PMCID: PMC1809741.

Tekce M, Ince G, Gursay H, Dirikan Ipci S, Cakar G, Kadir T, Yilmaz S. Clinical and microbiological effects of probiotic lozenges in the treatment of chronic periodontitis: a 1-year follow-up study. *J Clin Periodontol*. 2015 Apr;42(4):363-72. doi: 10.1111/jcpe.12387. Epub 2015 Apr 10. PubMed PMID:25728888.

Teughels W, Durukan A, Ozcelik O, Pauwels M, Quirynen M, Haytac MC. Clinical and microbiological effects of *Lactobacillus reuteri* probiotics in the treatment of chronic periodontitis: a randomized placebo-controlled study. *J Clin Periodontol*. 2013 Nov;40(11):1025-35. doi: 10.1111/jcpe.12155. Epub 2013 Sep 15. PubMed PMID: 24164569; PubMed Central PMCID: PMC3908359.

Teughels W, Loozen G, Quirynen M. Do probiotics offer opportunities to manipulate the periodontal oral microbiota? *J Clin Periodontol*. 2011 Mar;38 Suppl 11:159-77. doi: 10.1111/j.1600-051X.2010.01665. x. Review. PubMed PMID: 21323712.

Teughels W, Van Essche M, Sliepen I, Quirynen M. Probiotics and oral healthcare. *Periodontol* 2000. 2008;48:111-47. doi:10.1111/j.1600 0757.2008.00254.x. Review. PubMed PMID: 18715361.

Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *J Clin Periodontol*. 2018;45(Suppl 20): S149–S161. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12945>.

Vicario M, Santos A, Violant D, Nart J, Giner L. Clinical changes in periodontal subjects with the probiotic *Lactobacillus reuteri* Prodentis: a preliminary randomized clinical trial. *Acta Odontol Scand*. 2013 May-Jul;71(3-4):813-9. doi: 10.3109/00016357.2012.734404. Epub 2012 Nov 26. PubMed PMID: 23176716.

Vivekananda MR, Vandana KL, Bhat KG. Effect of the probiotic *Lactobacilli reuteri* (Prodentis) in the management of periodontal disease: a preliminary randomized clinical trial. *J Oral Microbiol*. 2010 Nov 2;2. doi: 10.3402/jom.v2i0.5344. PubMed PMID: 21523225; PubMed Central PMCID: PMC3084569.

Walker C, Karpinia K. Rationale for use of antibiotics in periodontics. *J Periodontol* 2002; 73: 1188–1196.

Wennström JL, Tomasi C, Bertelle A, Dellasega E. Full-mouth ultrasonic debridement versus quadrant scaling and root planning as an initial approach in the treatment of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2005 Aug;32(8):851-9. PubMed PMID: 15998268.

Wolff L, Dahlén G, Aepli D. Bacteria as Risk Markers for Periodontitis. *J Periodontol*. 1994 May;65 Suppl 5S:498-510. doi:10.1902/jop.1994.65. 5s. 498. PubMed PMID: 29539763.

Yen CA, Damoulis PD, Stark PC, Hibberd PL, Singh M, Papas AS. The effect of a selective cyclooxygenase-2 inhibitor (celecoxib) on chronic periodontitis. *J Periodontol*. 2008 Jan;79(1):104-13. doi:10.1902/jop.2008.070271. PubMed PMID:18166099.