

Atendendo a solicitação do(a) autor(a),
o texto completo desta tese/dissertação
será disponibilizado somente a partir de
22/03/2024.

At the author's request, the full text of
this thesis/dissertation will not be
available until Mar 22, 2024.



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

TAINÁ DA SILVA TRICOLY

**EFEITOS DE *BIFIDOBACTERIUM ANIMALIS SUBSP. LACTIS*
HN019VIVO E INATIVADO NA PERIODONTITE
EXPERIMENTAL EM RATOS**

2023

TAINÁ DA SILVA TRICOLY

**EFEITOS DE *BIFIDOBACTERIUM ANIMALIS SUBSP. LACTIS* HN019 VIVO E
INATIVADO NA PERIODONTITE EXPERIMENTAL EM RATOS**

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 MESTRA, pelo Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS APLICADAS À SAÚDE BUCAL.

Área: Periodontia. Linha de pesquisa: Imagiologia e terapias em odontologia.

Orientadora: Profa. Assoc. Maria Aparecida Neves Jardimi

Coorientadora: Profa. Assoc. Ana Lia Anbinder

São José dos Campos

2023

Instituto de Ciência e Tecnologia [internet]. Normalização de tese e dissertação [acesso em 2023]. Disponível em <http://www.ict.unesp.br/biblioteca/normalizacao>

Apresentação gráfica e normalização de acordo com as normas estabelecidas pelo Serviço de Normalização de Documentos da Seção Técnica de Referência e Atendimento ao Usuário e Documentação (STRAUD).

Tricolý, Taina da Silva

Efeitos de *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* HN019 vivo e inativado na periodontite experimental em ratos / Taina da Silva Tricolý. - São José dos Campos : [s.n.], 2023.

50 f. : il.

Dissertação (Mestrado) - Pós-Graduação em Ciências Aplicadas à Saúde Bucal - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos, 2023.

Orientadora: Maria Aparecida Neves Jardimi

Coorientadora: Ana Lia Anbinder

1. Periodontite. 2. Doença periodontal. 3. Probióticos. 4. Blactis. 5. Intestino delgado. I. Jardimi, Maria Aparecida Neves, orient. II. Anbinder, Ana Lia, coorient. III. Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia, São José dos Campos. IV. Universidade Estadual Paulista 'Júlio de Mesquita Filho' - Unesp. V. Universidade Estadual Paulista (Unesp). VI. Título.

BANCA EXAMINADORA

Maria Aparecida Neves Jardim (Orientador)

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus São José dos Campos

Luana Marotta Reis de Vasconcellos

Universidade Estadual Paulista (Unesp)

Instituto de Ciência e Tecnologia

Campus São José dos Campos

Nídia Cristina Castro dos Santos

Universidade Universus Veritas Guarulhos

UNG

Guarulhos

São José dos Campos, 22 de março de 2023.

DEDICATÓRIA

Dedico esse trabalho aos meus pais e familiares, principalmente ao meu avô Armando (inmemoriam) e ao meu irmão Filipe (in memoriam)

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – Instituto de Ciência e Tecnologia de São José dos Campos, em especial à equipe do laboratório CEBAPE que viabilizou a realização deste e de muitos outros trabalhos.

Ao Programa de Pós-graduação em Ciências Aplicadas à Saúde Bucal (CASB).

Aos meus pais, Fernanda e Valdecir, por todo o incentivo, amor e suporte. Por não medirem esforços para que eu alcançasse meus objetivos e chegar aonde estou hoje. Sem vocês nada disso seria possível.

Aos meus familiares, Marina, Roseli, Maurício, Beatriz, Ivone, Rosana, Carla, Thiago, Pedro, Rafaela, Rosângela, Raul e Maria Luiza por vibrarem e me incentivaram a cada conquista.

Ao meu namorado, Vitor, por todo apoio, paciência e incentivo em todos os momentos.

À professora Maria Aparecida Neves Jardini, por ser muito mais do que uma orientadora. Você é uma pessoa maravilhosa em quem me espelho diariamente. Agradeço por toda a paciência e carinho. É lindo ver sua paixão pela profissão que exerce.

À Professora Ana Lia Anbinder e suas alunas, por me ensinarem e me ajudarem durante o trajeto do trabalho.

Às minhas amigas Victória, Mariana, Nicole, Itza e Beatriz que acompanharam e me deram apoio e força durante esse período. Agradeço em especial à Itza por toda a ajuda e à Victoria pelo companheirismo e muito aprendizado.

Às minhas amigas Marina e Mariana, com quem sou grata pela amizade e sempre estiveram ao meu lado.

Aos meus amigos Luccas e Pedro por todos os bons momentos vividos durante esse período.

Aos meus amigos Pedrão, Bruno, Raphael e Fernando por acompanharem essa caminhada, sempre torcendo por mim.

À Camila Lopes, companheira de muito trabalho, obrigada sempre estar disposta a ajudar. À Marcinha e Valéria, pela atenção e cuidado e por todo o suporte na clínica.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da Bolsa de Mestrado, através do financiamento 001 no período de agosto de 2022 a março de 2023.

"Nossos pensamentos e imaginação são os únicos limites reais para nossas possibilidades". Orison Swett Marden

RESUMO

Tricolly TS. Efeitos de *Bifidobacterium animalis subsp. Lactis* HN019 vivo e inativado na periodontite experimental em ratos [dissertação]. São José dos Campos (SP): Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Ciência e Tecnologia; 2023.

A periodontite é uma doença crônica e complexa, abrangendo mais de uma forma de tratamento combinados. Os probióticos têm ganhado espaço em casos de terapias adjuvantes e mostrado resultados promissores quando utilizados em casos de periodontite. O objetivo do estudo foi avaliar a ação do probiótico *Bifidobacterium lactis* vivo e inativado na periodontite induzida por ligadura em ratos. Foram utilizados 32 ratos machos, nos seguintes grupos: GC/controle animais sem periodontite que receberam apenas caldo Man Rogosa-Sharpe (MRS); GP/periodontite experimental e caldo MRS; GP/PROB periodontite experimental + probiótico vivo e o grupo GP/POSB periodontite experimental + posbiótico. Após 45 dias, os animais foram eutanasiados. As hemimandíbulas foram analisadas por microtomografia computadorizada e histomorfometria de perda óssea alveolar. O intestino delgado foi analisado por histomorfometria de altura de vilos e profundidade de criptas intestinais. Os dados foram submetidos à análise estatística apropriada, ao nível de 5%. Os parâmetros de volume ósseo (BV/TV), número de trabéculas (Tb.N), separação das trabéculas (Tb.Sp) e porosidade total (PO total) foram diferentes entre o GC e os demais grupos, GP, GP/POSB e GP/PROB. O GC apresentou maiores valores para BV/TV. Para PO total e Tb.Sp o GC apresentou menores valores. No parâmetro de Tb.n o GP.PROB apresentou maiores valores. Para espessura trabecular (Tb.Th) houve diferença estatística entre o GC e GP e entre GC e GP/PROB, sendo que GC apresentou valores maiores em ambos os casos. Para a perda óssea da furca houve diferença estatística entre o GC e os demais grupos, sendo que GC apresentou menores valores de perda óssea. Em relação ao intestino delgado, não houve diferença estatística entre os grupos. Concluímos que tanto o probiótico vivo como o inativado não foram capazes de atuar na inibição da perda óssea na área de furca bem como não foram capazes de agir como modulador da resposta inflamatória no intestino.

Palavras-chave: periodontite; doença periodontal; probióticos; B.lactis; posbióticos; intestino delgado.

ABSTRACT

Tricolly TS. *Effects of Bifidobacterium animalis subsp. Lactis HN019 live and inactivated in experimental periodontitis in rats [dissertation].* São José dos Campos (SP): São Paulo State University (Unesp), Institute of Science and Technology; 2023.

Periodontitis is a chronic and complex disease, encompassing more than one form of combined treatment. Probiotics have gained space in cases of adjuvant therapies and have shown promising results when used in cases of periodontitis. The aim of the study was to evaluate the action of the live and inactivated probiotic Bifidobacterium lactis on ligature-induced periodontitis in rats. 32 male rats were used in the following groups: CG/control animals without periodontitis that received only Man Rogosa-Sharpe broth (MRS); GP/experimental periodontitis and MRS broth; GP/PROB experimental periodontitis + live probiotic and GP/POSB experimental periodontitis + postbiotic group. After 45 days, the animals were euthanized. The hemimandibles were analyzed by computed microtomography and histomorphometry of alveolar bone loss. The small intestine was analyzed by histomorphometry of villus height and intestinal crypt depth. Data were subjected to appropriate statistical analysis at the 5% level. The parameters of bone volume (BV/TV), number of trabeculae (Tb.N), trabeculae separation (Tb.Sp) and total porosity (total PO) were different between the CG and the other groups, GP, GP/POSB and GP/PROB. The CG showed higher values for BV/TV. For total PO and Tb.Sp, the CG showed lower values. In the Tb.n parameter, GP.PROB presented higher values. For trabecular thickness (Tb.Th) there was a statistical difference between GC and GP and between GC and GP/PROB, with GC showing higher values in both cases. For bone loss in the furcation, there was a statistical difference between the CG and the other groups, with the CG having lower values of bone loss. Regarding the small intestine, there was no statistical difference between the groups. We conclude that both the live and inactivated probiotics were not able to inhibit bone loss in the furcation area, nor were they able to act as a modulator of the inflammatory response in the intestine.

Keywords: periodontitis; periodontal disease; probiotics; B.lactis; posbiotics; small intestine.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

B.lactis	Bifidobacterium lactis
BV/TV	Fração de volume ósseo
CD	Profundidade de cripta
GC	Grupo Controle
GP	Grupo Periodontite
GP/POSB	Grupo Periodontite com Posbiótico
GP/PROB	Grupo Periodontite com Probiótico
MRS	Ágar de Man Rogosa-Sharpe
Tb. N	Número de trabéculas
P.O tot	Porosidade total
Tb.Sp	Separação de trabéculas
Tb.Th	Espessura trabecular
VH	Altura das vilosidades

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	15
3 PROPOSIÇÃO	19
4 MATERIAL E MÉTODOS.....	20
4.1 Aspectos éticos	20
4.2 Amostra	20
4.3 Experimento.....	20
4.4 Preparação probiótica e pósbiotica.....	21
4.5 Indução da periodontite	22
4.6 Período experimental	23
4.7 Peso dos animais	24
4.8 Eutanásia.....	24
4.9 Análises.....	25
4.9.1 Microtomografia computadorizada.....	25
4.9.2 Análises histomorfométricas de perda óssea	27
4.9.3 Análise histomorfométrica do intestino delgado.....	29
4.9.4 Análise estatística	30
5 RESULTADO	32
5.1 Peso dos animais	32
5.2 Análise de microtomografia computadorizada.....	32
5.3 Análise de histomorfometria de perda óssea	33
5.4 Análise de histomorfometria do intestino delgado	34
6 DISCUSSÃO	37
7 CONCLUSÃO	41
REFERÊNCIAS.....	42
ANEXO.....	50

1 INTRODUÇÃO

A periodontite é uma doença crônica, multifatorial, resultante do desequilíbrio entre hospedeiro e microbiota oral, e que é considerada um dos problemas de saúde mais prevalentes em todo o mundo (Dye, 2012). Sua consequência é a perda de tecidos moles e duros que suportam os dentes, podendo levar a perda do próprio dente. O tratamento é extremamente complexo, e está diretamente relacionado com a colaboração do paciente, a condição de sua saúde sistêmica, uso de medicamentos, hábitos deletérios entre outros fatores.

Os probióticos vem sendo considerados e utilizados como terapias alternativas em inúmeras áreas da saúde e, podem ser definidos como microrganismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas conferem benefícios ao hospedeiro (Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2002).

Os mecanismos de ação dos probióticos na cavidade oral ainda não foram totalmente elucidados, contudo aparentam envolver antagonização de compostos microbianos, modificação de pH, influência no sistema imunológico através de mecanismos moleculares e redução dos níveis de citocinas pró-inflamatórias (Alok et al., 2017; Twetman et al., 2009).

A princípio, os probióticos foram utilizados para modular a microbiota do trato gastrointestinal, por isso, a maioria dos mecanismos de ação propostos em doenças bucais é derivada de estudos gastrointestinais (Islam et al., 2016). Estudos in vivo mostraram que os probióticos podem se aderir às células orais (Messora et al., 2013; Messora et al., 2016; Oliveira et al., 2016) podendo aumentar a expressão de várias proteínas de tight junction (Invernici et al., 2018; Tavertini, Guglielmetti, 2011). Os probióticos também demonstraram interferir na diversidade do biofilme por coagregação com outros microrganismos, impedindo sua adesão ou modulando a resposta de bacteriocinas. (Miyazawa et al., 2011).

Os probióticos mais utilizados atualmente são principalmente dos gêneros *Lactobacillus* ou de espécies de *Bifidobacterium* (Alok et al., 2017). Espécies do gênero *Bifidobacterium* são organismos comumente encontrados na cavidade bucal e sua contagem na cavidade oral já foi associada a saúde periodontal e ao progresso

no tratamento da periodontite (Oliveira et al., 2017). A ingestão de *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* HN019 (*B. lactis*) já apontou redução dos índices gengivais e de placa e redução dos níveis de interleucina no fluido crevicular gengival (Invernici et al., 2018).

B. lactis tem sido alvo de diversos estudos em animais conduzidos por Oliveira et al. (2016, 2017), onde a periodontite é induzida experimentalmente e o probiótico administrado por diversas vias. Esses estudos tiveram como resultado redução de perda ossea alveolar e da perda de inserção além de propriedades imunomodulatórias e antimicrobianas nos grupos que receberam o probiótico.

As pesquisas com probióticos também tem investigado a melhor forma de administração e o melhor veículo, pois isso pode afetar não apenas a viabilidade dos probióticos, o processamento e armazenamento, mas também suas propriedades funcionais (Sanders, Marco, 2010; Oliveira et al., 2022).

Células probióticas inativadas ou frações celulares, conhecidas na literatura como paraprobióticos/probióticos-fantasma/lisados celulares ou posbióticos, também tem sido alvo de pesquisas e têm mostrado benefícios à saúde do hospedeiro (Tavertini, Guglielmetti, 2011). Os posbióticos foram definidos como “preparação de microrganismos inanimados e/ou seus componentes que conferem um benefício à saúde do hospedeiro” (Miyazawa et al., 2011) ou ainda como "substâncias derivadas depois que microrganismos não estão mais vivos, sendo caracterizados como células inanimadas intactas" (Vinderola et al., 2022). O uso de microrganismos não viáveis tem demonstrado efeito positivo na redução do colesterol, controle de processos alérgicos, modulação da resposta inflamatória e redução da dor visceral em diversos estudos in vivo e in vitro (Chuang, 2007; Sartor, 2008; Adams, 2010).

Contudo, o uso desses micro-organismos inativados no tratamento da periodontite experimental, tem sido demonstrado por estudos in vitro, e in vivo (Moraes et al., 2019; Chen et al., 2020, Santos et al., 2020). Os estudos em humanos e em animais com posbióticos (Moraes et al., 2020; Maekawa et al., 2014; Taguchi et al., 2015; Han et al., 2020), demonstraram baixos níveis de evidências de que seu uso acrescenta algum benefício no tratamento da doença periodontal. Essas fracas evidências podem ser explicadas pela grande diferença entre as metodologias aplicadas, seja na forma de administração do posbiótico ou então pelo modelo de indução de

doenças variadas e, até mesmo pelas diferentes cepas de posbióticos que são utilizadas.

Até onde vai nosso conhecimento não existiam estudos comparando os efeitos de *B.lactis* viável e inativado na periodontite experimental prévios a este. Os posbióticos não apresentam até o presente momento relatos de efeitos colaterais no seu uso, podendo ser uma vantagem ao uso dos probióticos. (Moraes et al., 2022).

Outra vantagem no uso das cepas inativadas é a sua produção e armazenamento que apresentam maior estabilidade do que no caso das cepas ativas (Salminen et al., 2020). Desta forma, a administração de componentes celulares ou metabólitos derivados de probióticos por um método de inativação vem ganhando interesse.

Os veículos de administração podem variar dentre adicionar na água para ingestão, pastilhas para ingestão, administração com leite, irrigações subgingivais e gavagem oral (Oliveira et al., 2022). A gavagem oral consiste em introduzir, através de uma agulha de gavagem, o líquido, no nosso caso o probiótico e posbiótico cultivado em um caldo (MRS) diretamente no esôfago do animal, certificando-se de que o volume total não foi perdido de alguma maneira. A escolha pela gavagem oral deu-se a fim de compreender melhor como, de forma sistêmica, o probiótico e o posbiótico podem influenciar, bem como na região do intestino delgado.

Neste contexto, novos estudos podem ser de grande valor para futuras terapias com probióticos e posbióticos na prevenção, tratamento e controle da doença periodontal.

7 CONCLUSÃO

Podemos concluir que tanto o probiótico vivo como o inativado não foram capazes de atuar na inibição da perda óssea na área de furca e nem de agir como modulador da resposta inflamatória no intestino.

REFERÊNCIAS

- Adams CA. The probiotic paradox: live and dead cells are biological response modifiers. *Nutr Res Rev.* 2010 Jun;23(1):37-46. doi: 10.1017/S0954422410000090. Epub 2010 Apr 20. PMID: 20403231.
- Allam-Ndoul B, Castonguay-Paradis S, Veilleux A. Gut Microbiota and intestinal trans-epithelial permeability. *Int J Mol Sci.* 2020 Sep 3;21(17):6402. doi: 10.3390/ijms21176402. PMID: 32899147; PMCID: PMC7503654.
- Alok A, Singh ID, Singh S, Kishore M, Jha PC, Iqbal MA. Probiotics: A new era of biotherapy. *Adv Biomed Res.* 2017 Mar 7;6:31. doi: 10.4103/2277-9175.192625. PMID: 28401078; PMCID: PMC5360003.
- Amaretti A, di Nunzio M, Pompei A, Raimondi S, Rossi M, Bordoni A. Antioxidant properties of potentially probiotic bacteria: in vitro and in vivo activities. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2013 Jan;97(2):809-17. doi: 10.1007/s00253-012-4241-7. Epub 2012 Jul 12. PMID: 22790540.
- Ananta E, Knorr D. Comparison of inactivation pathways of thermal or high pressure inactivated *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 53103 by flow cytometry analysis. *Food Microbiol.* 2009 Aug;26(5):542-6. doi: 10.1016/j.fm.2009.01.008. Epub 2009 Feb 9. PMID: 19465252.
- Barros CP, Guimarães JT, Esmerino EA, Duarte MCKH, Silva MC, Silva R, et al. Paraprobióticos e pós-bióticos: conceitos e potenciais aplicações em produtos lácteos. *Curr. Opin. Food Science.* 2020; 32: 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2019.12.003>.
- Beighton D. A microflora oral complexa de indivíduos e grupos de alto risco e seu papel no processo de cárie. *Community Dent Oral Epidemiol* 2005;33:248-55.
- Ben Othman M, Sakamoto K. Effect of inactivated *Bifidobacterium longum* intake on obese diabetes model mice (TSOD). *Food Res Int.* 2020 Mar;129:108792. doi: 10.1016/j.foodres.2019.108792. Epub 2019 Nov 21. PMID: 32036897.
- Bermudez-Brito M, Plaza-Díaz J, Muñoz-Quezada S, Gómez-Llorente C, Gil A. Probiotic mechanisms of action. *Ann Nutr Metab.* 2012;61(2):160-74. doi: 10.1159/000342079. Epub 2012 Oct 2. PMID: 23037511.
- Bonito AJ, Lux L, Lohr KN. Impact of local adjuncts to scaling and root planing in periodontal disease therapy: a systematic review. *J Periodontol.* 2005 Aug;76(8):1227-36. doi: 10.1902/jop.2005.76.8.1227. Erratum in: *J Periodontol.* 2006 Feb;77(2):326. Erratum in: *J Periodontol.* 2006 Feb;77(2):326-327. PMID: 16101353.

Cardoso RS, Messoria MR, Silva PHF, Oliveira LF, Leite-Panissi C, Salvador S, et al. Effects of *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* HN019 on ligature-induced periodontitis in rats with experimental rheumatoid arthritis. *Benef Microbes*. 2020 Feb 19;11(1):33-46. doi: 10.3920/BM2019.0038. Epub 2019 Dec 17. PMID: 32066256.

Chen YT, Hsieh PS, Ho HH, Hsieh SH, Kuo YW, Yang SF, et al. Antibacterial activity of viable and heat-killed probiotic strains against oral pathogens. *Lett Appl Microbiol*. 2020 Apr;70(4):310-317. doi: 10.1111/lam.13275. Epub 2020 Feb 11. PMID: 31955445.

Chuang L, Wu KG, Pai C, Hsieh PS, Tsai JJ, Yen JH, et al. Heat-killed cells of lactobacilli skew the immune response toward T helper 1 polarization in mouse splenocytes and dendritic cell-treated T cells. *J Agric Food Chem*. 2007 Dec 26;55(26):11080-6. doi: 10.1021/jf071786o. Epub 2007 Nov 27. PMID: 18038979.

Cuevas-González PF, Liceaga AM, Aguilar-Toalá JE. Postbiotics and paraprobiotics: From concepts to applications. *Food Res Int*. 2020 Oct;136:109502. doi: 10.1016/j.foodres.2020.109502. Epub 2020 Jun 30. PMID: 32846581.

de Campos RSC. Efeitos da administração de *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* HN019 na periodontite induzida por ligadura em ratos portadores de artrite reumatoide experimental [dissertação]. Ribeirão Preto: Universidade de São Paulo, Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto; 2018. doi:10.11606/D.58.2019.tde_30082018-090259

Derrien M, van Hylckama Vlieg JE. Fate, activity, and impact of ingested bacteria within the human gut microbiota. *Trends Microbiol*. 2015 Jun;23(6):354-66. doi: 10.1016/j.tim.2015.03.002. Epub 2015 Apr 1. PMID: 25840765.

Duque AD, Malheiros Z, Stewart B, Romanelli HJ. Strategies for the prevention of periodontal disease and its impact on general health in Latin America. Section III: Prevention. *Braz Oral Res*. 2020 Apr 9;34(supp1 1):e025. doi: 10.1590/1807-3107bor-2020.vol34.0025. PMID: 32294678.

Dye BA. Global periodontal disease epidemiology. *Periodontol 2000*. 2012 Feb;58(1):10-25. doi: 10.1111/j.1600-0757.2011.00413.x. PMID: 22133364.

Farré R, Fiorani M, Abdu Rahiman S, Matteoli G. Intestinal permeability, inflammation and the role of nutrients. *Nutrients*. 2020 Apr 23;12(4):1185. doi: 10.3390/nu12041185. PMID: 32340206; PMCID: PMC7231157.

Ferreira CL, Nunes CMM, Bernardo DV, Pedroso JF, Longo M, et al. Effect of orthodontic force associated with cigarette smoke inhalation in healthy and diseased periodontium. A histometric and immunohistochemistry analysis in rats. *J Periodontal Res*. 2018 Oct;53(5):924-931. doi: 10.1111/jre.12584. Epub 2018 Jul 25. PMID: 30043971.

Festing MF. On determining sample size in experiments involving laboratory animals. *Lab Anim*. 2018 Aug;52(4):341-350. doi: 10.1177/0023677217738268. Epub 2018 Jan 8. PMID: 29310487

Food and Agriculture Organization of the United Nations. Probiotics in food: health and nutritional properties and guidelines for evaluation [Internet]. Roma: FAO; 2006 [cited 2022 Feb 10]. Available from: <https://www.fao.org/3/a0512e/a0512e.pdf>

Fuller R. Probiotics in human medicine. *Gut*. 1991 Apr;32(4):439-42. doi: 10.1136/gut.32.4.439. PMID: 1902810; PMCID: PMC1379087.

Genco RJ, Borgnakke WS. Risk factors for periodontal disease. *Periodontol* 2000. 2013 Jun;62(1):59-94. doi: 10.1111/j.1600-0757.2012.00457.x. PMID: 23574464.

Genco RJ, Sanz M. Clinical and public health implications of periodontal and systemic diseases: An overview. *Periodontol* 2000. 2020 Jun;83(1):7-13. doi: 10.1111/prd.12344. PMID: 32385880.

Geraldo BMC, Batalha MN, Milhan NVM, Rossoni RD, Scorzoni L, Anbinder AL. Heat-killed *Lactobacillus reuteri* and cell-free culture supernatant have similar effects to viable probiotics during interaction with *Porphyromonas gingivalis*. *J Periodontal Res*. 2020 Apr;55(2):215-220. doi: 10.1111/jre.12704. Epub 2019 Nov 6. PMID: 31691977.

Gou W, Fu Y, Yue L, Chen G-d, Cai X, Shuai M, et al. Gut microbiota may underlie the predisposition of healthy individuals to COVID-19. *medRxiv*. 2020. doi: 10.1101/2020.04.22.20076091.

Graziani F, Karapetsa D, Alonso B, Herrera D. Nonsurgical and surgical treatment of periodontitis: how many options for one disease? *Periodontol* 2000. 2017 Oct;75(1):152-188. doi: 10.1111/prd.12201. PMID: 28758300.

Grossi SG, Genco RJ. Periodontal disease and diabetes mellitus: a two-way relationship. *Ann Periodontol*. 1998 Jul;3(1):51-61. doi: 10.1902/annals.1998.3.1.51. PMID: 9722690.

Hatakka K, Ahola AJ, Yliö-Knuutila H, Richardson M, Poussa T, Meurman JH, et al. Probióticos reduzem a prevalência de *Candida* oral em idosos – Um estudo controlado randomizado. *J Dent Res* 2007;86:125-30.

Invernici MM, Furlaneto FAC, Salvador SL, Ouwehand AC, Salminen S, Mantziari A, et al. *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* HN019 presents antimicrobial potential against periodontopathogens and modulates the immunological response of oral mucosa in periodontitis patients. *PLoS One*. 2020 Sep 22;15(9):e0238425. doi: 10.1371/journal.pone.0238425. PMID: 32960889; PMCID: PMC7508403.

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 Oct;45(10):1198-1210. doi: 10.1111/jcpe.12995. Epub 2018 Sep 24. PMID: 30076613; PMCID: PMC6221043.

Islam SU. Clinical uses of probiotics. *Medicine (Baltimore)*. 2016 Feb;95(5):e2658. doi: 10.1097/MD.0000000000002658. PMID: 26844491; PMCID: PMC4748908.

Iwasaki K, Maeda K, Hidaka K, Nemoto K, Hirose Y, Deguchi S. Daily intake of heat-killed lactobacillus plantarum I-137 decreases the probing depth in patients undergoing supportive periodontal therapy. *Oral Health Prev Dent*. 2016;14(3):207-14. doi: 10.3290/j.ohpd.a36099. PMID: 27175447.

Jin Q, Cirelli JA, Park CH, Sugai JV, Taba M Jr, Kostenuik PJ, et al. RANKL inhibition through osteoprotegerin blocks bone loss in experimental periodontitis. *J Periodontol*. 2007 Jul;78(7):1300-8. doi: 10.1902/jop.2007.070073. PMID: 17608585; PMCID: PMC2583091.

Judkins TC, Archer DL, Kramer DC, Solch RJ. Probiotics, nutrition, and the small intestine. *Curr Gastroenterol Rep*. 2020 Jan 13;22(1):2. doi: 10.1007/s11894-019-0740-3. PMID: 31930437.

Kamiya T, Wang L, Forsythe P, Goettsche G, Mao Y, Wang Y, et al. Inhibitory effects of Lactobacillus reuteri on visceral pain induced by colorectal distension in Sprague-Dawley rats. *Gut*. 2006 Feb;55(2):191-6. doi: 10.1136/gut.2005.070987. Epub 2005 Dec 16. PMID: 16361309; PMCID: PMC1856513.

Kechagia M, Basoulis D, Konstantopoulou S, Dimitriadi D, Gyftopoulou K, Skarmoutsou N, et al. Health benefits of probiotics: a review. *ISRN Nutr*. 2013 Jan 2;2013:481651. doi: 10.5402/2013/481651. PMID: 24959545; PMCID: PMC4045285.

Kitamoto S, Kamada N. Periodontal connection with intestinal inflammation: Microbiological and immunological mechanisms. *Periodontol 2000*. 2022 Jun;89(1):142-153. doi: 10.1111/prd.12424. Epub 2022 Mar 4. PMID: 35244953; PMCID: PMC9018512.

Klausen B. Microbiological and immunological aspects of experimental periodontal disease in rats: a review article. *J Periodontol*. 1991 Jan;62(1):59-73. doi: 10.1902/jop.1991.62.1.59. PMID: 2002433.

Kuhr A, Popa-Wagner A, Schmoll H, Schwahn C, Kocher T. Observations on experimental marginal periodontitis in rats. *J Periodontol Res*. 2004 Apr;39(2):101-6. doi: 10.1111/j.1600-0765.2004.00710.x. PMID: 15009517.

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. PMID: 26970230.

Matsubara VH, Bandara HM, Ishikawa KH, Mayer MP, Samaranayake LP. The role of probiotic bacteria in managing periodontal disease: a systematic review. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2016 Jul;14(7):643-55. doi: 10.1080/14787210.2016.1194198. Epub 2016 Jun 3. PMID: 27224284.

McCabe LR, Irwin R, Schaefer L, Britton RA. Probiotic use decreases intestinal inflammation and increases bone density in healthy male but not female mice. *J Cell Physiol*. 2013 Aug;228(8):1793-8. doi: 10.1002/jcp.24340. PMID: 23389860; PMCID: PMC4091780.

Messora MR, Oliveira LF, Foureaux RC, Taba M Jr, Zangerônimo MG, Furlaneto FA, et al. Probiotic therapy reduces periodontal tissue destruction and improves the intestinal morphology in rats with ligature-induced periodontitis. *J Periodontol*. 2013 Dec;84(12):1818-26. doi: 10.1902/jop.2013.120644. Epub 2013 Jan 17. PMID: 23327675.

Messora MR, Pereira LJ, Foureaux R, Oliveira LF, Sordi CG, Alves AJ, et al. Favourable effects of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* on experimental periodontitis in rats. *Arch Oral Biol*. 2016 Jun;66:108-19. doi: 10.1016/j.archoralbio.2016.02.014. Epub 2016 Feb 26. PMID: 26945169.

Meurman JH. Probiotics: do they have a role in oral medicine and dentistry? *Eur J Oral Sci*. 2005 Jun;113(3):188-96. doi: 10.1111/j.1600-0722.2005.00191.x. PMID: 15953242.

Miyazawa K, He F, Kawase M, Kubota A, Yoda K, Hiramatsu M. Enhancement of immunoregulatory effects of *Lactobacillus gasseri* TMC0356 by heat treatment and culture medium. *Lett Appl Microbiol*. 2011 Aug;53(2):210-6. doi: 10.1111/j.1472-765X.2011.03093.x. Epub 2011 Jul 5. PMID: 21623846.

Moraes RM, Lescura CM, Milhan NVM, Ribeiro JL, Silva FA, Anbinder AL. Live and heat-killed *Lactobacillus reuteri* reduce alveolar bone loss on induced periodontitis in rats. *Arch Oral Biol*. 2020 Nov;119:104894. doi: 10.1016/j.archoralbio.2020.104894. Epub 2020 Sep 8. PMID: 32950917.

Moraes RM, Lima GM, Oliveira FE, Brito AC, Pereira RC, Oliveira LD, et al. Exenatide and sitagliptin decrease interleukin 1 β , matrix metalloproteinase 9, and nitric oxide synthase 2 gene expression but does not reduce alveolar bone loss in rats with periodontitis. *J Periodontol*. 2015 Nov;86(11):1287-95. doi: 10.1902/jop.2015.150278. Epub 2015 Jul 24. PMID: 26205746.

Oliveira LF, Salvador SL, Silva PH, Furlaneto FA, Figueiredo L, Casarin R, et al. Benefits of *bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* probiotic in experimental

periodontitis. *J Periodontol.* 2017 Feb;88(2):197-208. doi: 10.1902/jop.2016.160217. Epub 2016 Sep 23. PMID: 27660886.

Oliveira LFF, da Silva GA, Silva PHF, Moreira ALG, Salvador SL, da Cruz AG, et al. Comparison between different delivery vehicles for the probiotic bifidobacterium animalis subsp. lactis hn019 on experimental periodontitis in rats. *Probiotics Antimicrob Proteins.* 2022 Apr;14(2):313-325. doi: 10.1007/s12602-022-09930-8. Epub 2022 Mar 9. PMID: 35260963.

Parkin J, Cohen B. An overview of the immune system. *Lancet.* 2001 Jun 2;357(9270):1777-89. doi: 10.1016/S0140-6736(00)04904-7. PMID: 11403834.

Patterson E, Ryan PM, Cryan JF, Dinan TG, Ross RP, Fitzgerald GF, et al. Gut microbiota, obesity and diabetes. *Postgrad Med J.* 2016 May;92(1087):286-300. doi: 10.1136/postgradmedj-2015-133285. Epub 2016 Feb 24. PMID: 26912499.

Pretzl B, Sälzer S, Ehmke B, Schlagenhaut U, Dannewitz B, Dommisch H, et al. Administration of systemic antibiotics during non-surgical periodontal therapy—a consensus report. *Clin Oral Investig.* 2019 Jul;23(7):3073-3085. doi: 10.1007/s00784-018-2727-0. Epub 2018 Oct 29. PMID: 30374830.

Pujia AM, Costacurta M, Fortunato L, Merra G, Cascapera S, Calvani M, et al. The probiotics in dentistry: a narrative review. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* 2017 Mar;21(6):1405-1412. PMID: 28387884.

Ricoldi MST, Furlaneto FAC, Oliveira LFF, Teixeira GC, Pischiotini JP, Moreira ALG, et al. Effects of the probiotic *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* on the non-surgical treatment of periodontitis. A histomorphometric, microtomographic and immunohistochemical study in rats. *PLoS One.* 2017 Jun 29;12(6):e0179946. doi: 10.1371/journal.pone.0179946. PMID: 28662142; PMCID: PMC5491108.

Rinninella E, Raoul P, Cintoni M, Franceschi F, Miggiano GAD, Gasbarrini A, et al. What is the healthy gut microbiota composition? a changing ecosystem across age, environment, diet, and diseases. *Microorganisms.* 2019 Jan 10;7(1):14. doi: 10.3390/microorganisms7010014. PMID: 30634578; PMCID: PMC6351938

Rode Sde M, Gimenez X, Montoya VC, Gómez M, Blanc SL, Medina M, et al. Daily biofilm control and oral health: consensus on the epidemiological challenge—Latin American Advisory Panel. *Braz Oral Res.* 2012;26 Suppl 1:133-43. doi: 10.1590/s1806-83242012000700020. PMID: 23318756.

Rovin S, Costich ER, Gordon HA. The influence of bacteria and irritation in the initiation of periodontal disease in germfree and conventional rats. *J Periodontal Res.* 1966;1(3):193-204. doi: 10.1111/j.1600-0765.1966.tb01860.x. PMID: 4225530.

Santos TA, Scorzoni L, Correia R, Junqueira JC, Anbinder AL. Interaction between *Lactobacillus reuteri* and periodontopathogenic bacteria using in vitro and in vivo (*G. mellonella*) approaches. *Pathog Dis*. 2020 Nov 11;78(8):ftaa044. doi: 10.1093/femspd/ftaa044. PMID: 32845308.

Sanz M, Herrera D, Kebschull M, Chapple I, Jepsen S, Beglundh T, et al; EFP Workshop Participants and Methodological Consultants. Treatment of stage I-III periodontitis-The EFP S3 level clinical practice guideline. *J Clin Periodontol*. 2020 Jul;47 Suppl 22(Suppl 22):4-60. doi: 10.1111/jcpe.13290. Erratum in: *J Clin Periodontol*. 2021 Jan;48(1):163. PMID: 32383274; PMCID: PMC7891343.

Sartor RB. Microbial influences in inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology*. 2008 Feb;134(2):577-94. doi: 10.1053/j.gastro.2007.11.059. PMID: 18242222.

Schmidt TS, Hayward MR, Coelho LP, Li SS, Costea PI, Voigt AY, et al. Extensive transmission of microbes along the gastrointestinal tract. *Elife*. 2019 Feb 12;8:e42693. doi: 10.7554/eLife.42693. PMID: 30747106; PMCID: PMC6424576.

Seminario-Amez M, López-López J, Estrugo-Devesa A, Ayuso-Montero R, Jané-Salas E. Probiotics and oral health: A systematic review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2017 May 1;22 (3):e282-8.

Shimabukuro N, Cataruci ACS, Ishikawa KH, de Oliveira BE, Kawamoto D, Ando-Sugimoto ES, et al. Bifidobacterium strains present distinct effects on the control of alveolar bone loss in a periodontitis experimental model. *Front Pharmacol*. 2021 Sep 24;12:713595. doi: 10.3389/fphar.2021.713595. PMID: 34630089; PMCID: PMC8497694.

Shin HS, Park SY, Lee DK, Kim SA, An HM, Kim JR, et al. Hypocholesterolemic effect of sonication-killed *Bifidobacterium longum* isolated from healthy adult Koreans in high cholesterol fed rats. *Arch Pharm Res*. 2010 Sep;33(9):1425-31. doi: 10.1007/s12272-010-0917-7. Epub 2010 Oct 14. PMID: 20945142.

Silva GA, Moreira ALG, Silva PHF, Salvador SL, Casarin RCV, Vicente RM, et al. The use of probiotics can reduce the severity of experimental periodontitis in rats with metabolic syndrome: An immunoenzymatic and microtomographic study. *J Periodontol*. 2022 Feb;93(2):e1-e12. doi: 10.1002/JPER.21-0285. Epub 2021 Nov 15. PMID: 34374081.

Stamatova I, Meurman JH. Probiotics and periodontal disease. *Periodontol* 2000. 2009;51:141-51. doi: 10.1111/j.1600-0757.2009.00305.x. PMID: 19878473.

Szkaradkiewicz AK, Stopa J, Karpiński TM. Effect of oral administration involving a probiotic strain of *Lactobacillus reuteri* on pro-inflammatory cytokine response in patients with chronic periodontitis. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*. 2014

Dec;62(6):495-500. doi: 10.1007/s00005-014-0277-y. Epub 2014 Feb 9. PMID: 24509697; PMCID: PMC4244533.

Taverniti V, Guglielmetti S. The immunomodulatory properties of probiotic microorganisms beyond their viability (ghost probiotics: proposal of paraprobiotic concept). *Genes Nutr.* 2011 Aug;6(3):261-74. doi: 10.1007/s12263-011-0218-x. Epub 2011 Apr 16. PMID: 21499799; PMCID: PMC3145061.

Teughels W, Feres M, Oud V, Martin C, Matesanz P, Herrera D. Efeito adjuvante de antimicrobianos sistêmicos na terapia da periodontite. Uma revisão sistemática e meta-análise. *J Clin Periodontol* 2020; 22:257-281.

Tsukasaki M, Komatsu N, Nagashima K, Nitta T, Pluemsakunthai W, Shukunami C, et al. Host defense against oral microbiota by bone-damaging T cells. *Nat Commun.* 2018 Feb 16;9(1):701. doi: 10.1038/s41467-018-03147-6. PMID: 29453398; PMCID: PMC5816021.

Twetman S, Derawi B, Keller M, Ekstrand K, Yucel-Lindberg T, Stecksén-Blicks C. Short-term effect of chewing gums containing probiotic *Lactobacillus reuteri* on the levels of inflammatory mediators in gingival crevicular fluid. *Acta Odontol Scand.* 2009;67(1):19-24. doi: 10.1080/00016350802516170. PMID: 18985460.

van Hoffen E, Korthagen NM, de Kivit S, Schouten B, Bardoel B, Duivelshof A, et al. Exposure of intestinal epithelial cells to UV-killed *Lactobacillus GG* but not *Bifidobacterium breve* enhances the effector immune response in vitro. *Int Arch Allergy Immunol.* 2010;152(2):159-68. doi: 10.1159/000265537. Epub 2009 Dec 16. PMID: 20016198.

Wilson AS, Koller KR, Ramaboli MC, Nesengani LT, Ocvirk S, Chen C, et al. Diet and the human gut microbiome: an international review. *Dig Dis Sci.* 2020 Mar;65(3):723-740. doi: 10.1007/s10620-020-06112-w. PMID: 32060812; PMCID: PMC7117800.

Zhang C, Derrien M, Levenez F, Brazeilles R, Ballal SA, Kim J, et al. Ecological robustness of the gut microbiota in response to ingestion of transient food-borne microbes. *ISME J.* 2016 Sep;10(9):2235-45. doi: 10.1038/ismej.2016.13. Epub 2016 Mar 8. PMID: 26953599; PMCID: PMC4989305.

Żółkiewicz J, Marzec A, Ruszczyński M, Feleszko W. Postbiotics-A step beyond pre- and probiotics. *Nutrients.* 2020 Jul 23;12(8):2189. doi: 10.3390/nu12082189. PMID: 32717965; PMCID: PMC7468815.