

---

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA/PEDIATRIA E  
SAÚDE DA CRIANÇA  
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**GABRIELA DOS SANTOS PINTO**

**Associação entre o uso de iogurte contendo probióticos e a  
redução de Estreptococos do grupo mutans em pacientes sob  
tratamento ortodôntico**

**PORTO ALEGRE  
2011**

---

---

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO RIO GRANDE DO SUL  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MEDICINA/PEDIATRIA E  
SAÚDE DA CRIANÇA  
DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

**GABRIELA DOS SANTOS PINTO**

**Associação entre o uso de iogurte contendo probióticos e a redução de  
Estreptococos do grupo mutans em pacientes sob tratamento  
ortodôntico**

**Porto Alegre**

**2011**

---

---

Gabriela dos Santos Pinto

**ASSOCIAÇÃO ENTRE O USO DE IOGURTE CONTENDO PROBIÓTICOS  
E A REDUÇÃO DE ESTREPTOCOCOS DO GRUPO MUTANS EM  
PACIENTES SOB TRATAMENTO ORTODÔNTICO**

Dissertação de Mestrado apresentada ao curso de Pós-Graduação em Medicina/Pediatria e Saúde da Criança da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Saúde da Criança.

Orientador: Prof. Dr. Marcus Herbert Jones

Porto Alegre, 2011

---

---

## DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)

P659a Pinto, Gabriela dos Santos  
Associação entre o uso do iogurte contendo probióticos e a redução de Estreptococos do grupo mutans em pacientes sob tratamento ortodôntico / Gabriela dos Santos Pinto. Porto Alegre: PUCRS, 2011.

79f.: gráf. tab. Inclui um artigo de periódico submetido à publicação.

Orientador: Prof. Dr. Marcus Herbert Jones.

Dissertação (Mestrado) – Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina. Programa de Pós-Graduação em Medicina/ Pediatria e Saúde da Criança. Mestrado em Pediatria e Saúde da Criança.

1. PROBIÓTICOS. 2. IOGURTE. 3. SUPLEMENTOS DIETÉTICOS. 4. CÁRIE DENTÁRIA/prevenção & controle. 5. CONSUMO DE ALIMENTOS. 6. BOCA/microbiologia. 7. STREPTOCOCCUS MUTANS. 8. ORTODONTIA. 9. ENSAIO CLÍNICO. I. Jones, Marcus Herbert. II. Título.

C.D.D. 613.28  
C.D.U. 613.287:616.314-

Rosária Maria Lúcia Prenna Geremia  
Bibliotecária CRB 10/196

---

---

MESTRANDA: GABRIELA DOS SANTOS PINTO

ENDEREÇO: RUA PADRE ANCHIETA, 1277/401 – CEP: 96015-420

PELOTAS – RS

E-mail: [gabipinto@hotmail.com](mailto:gabipinto@hotmail.com)

Fone: (53) 9159-1010

CONFLITO DE INTERESSE: NENHUM

---

---

## *Dedicatória*

*Aos meus exemplares pais Cleider e Loiva,  
por estarem muito presentes e me fornecerem  
sempre, o amor e apoio necessário para  
que eu pudesse seguir adiante.*

*À minha amada irmã Eleonora,  
por ser o grande motivo da minha  
busca pelo conhecimento e pela felicidade.*

*Ao meu amado irmão Guilherme,  
por sempre ter as palavras certas.*

*À minha avó Auta, por ter a fé necessária.*

*A todos vocês, meu eterno agradecimento pelo apoio  
incondicional em todos os momentos de minha vida.*

---

---

## AGRADECIMENTOS

**Ao meu amor** por ter me mostrado que se tem que ir em frente, atrás do que se acredita que deva ser feito, que não se pode desistir dos sonhos e que a felicidade é possível, basta acreditar.

**À minha Dinda Laura** por me ensinar desde cedo a superar as dificuldades do dia a dia e a valorizar cada conquista. Você é um verdadeiro exemplo de luta, persistência e honestidade.

**Aos voluntários do estudo** que participaram alegremente de todas as fases e permitiram que esta importante etapa fosse concluída.

**Ao meu orientador Prof. Dr. Marcus Herbert Jones** pela paciência, pelo ensinamento e pelo suporte científico.

**Aos meus co-orientadores Prof. Dr. Matias Epifânio** por acreditar que seria possível e por colaborar ativamente de todas as etapas necessárias à execução desta pesquisa e

**Prof. Dr. Maximiliano Sérgio Cenci** pelo acolhimento, pela disponibilidade, pelo incentivo constante e pelo enorme conhecimento compartilhado sem o qual não seria possível a realização deste estudo.

**Aos professores do Programa de Pós-Graduação e em Medicina, Pediatria e Saúde da Criança** pela transmissão do conhecimento.

---

---

**À Carla, secretária do Programa de Pós-Graduação e em Medicina, Pediatria e Saúde da Criança** pela atenção e disponibilidade. Muito obrigada!

**À amiga e colaboradora Magda,** A nossa amizade verdadeira e a tua ajuda profissional foram os fatores que mais me deram forças para superar as dificuldades no decorrer desta caminhada.

**Às queridas Marina, Ane e Tamires,** Sem a dedicação com que vocês me ajudaram nada teria sido possível. Pessoas como vocês são raras. Muito Obrigada!!!

**Aos meus chefes e colegas do Posto Médico da Guarnição de Pelotas,** local onde foram coletados os dados, pela compreensão e apoio incondicional, em especial à Ten Giselle pela amizade e por toda a ajuda na seleção dos pacientes.

**À Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas** por ter me recebido de volta e ter disponibilizado a estrutura física necessária para a realização desta pesquisa. Através da FO-UFPel eu obtive um diploma de graduação e um curso de Mestrado, e se tudo certo o Doutorado.

A todos que de alguma forma contribuíram com minha formação, o meu sincero e carinhoso muito obrigado!

---



---

## RESUMO

Probióticos tem sido extensivamente estudados pelos seus efeitos benéficos à saúde do hospedeiro. O principal campo de pesquisa de probiótico é o trato gastrointestinal. Entretanto, nos últimos anos tem havido um crescente interesse da pesquisa odontológica pelos benefícios dos probióticos na cavidade oral. As infecções orais, em particular a cárie, tem alta prevalência na população brasileira e seu tratamento envolve alto custo. Ações preventivas dirigidas a esta enfermidade teriam um alto potencial de beneficiar um grande número de indivíduos. Atualmente, os esforços da Odontologia visam restaurar o equilíbrio entre os microrganismos patógenos e a microflora benéfica. Novos métodos como a bacterioterapia para reduzir elementos patógenos da microbiota oral vem sendo investigados. Os probióticos são um destes novos agentes promissores na profilaxia da doença cárie. Acredita-se que dentre vários critérios de seleção para a escolha de uma determinada cepa, a adesão pode ser considerada a que mais favorece a expressão da atividade probiótica, assim como o veículo de administração. Probióticos são seguros para o uso de pessoas saudáveis, mas devem ser administrados com cautela em pessoas debilitadas para evitar o risco de bacteremias. Os ensaios clínicos sobre o papel dos probióticos na prevenção da doença cárie ainda são bastante limitados e novos estudos devem ser realizados a fim esclarecer melhor seu mecanismos de ação e efeitos benéficos na cavidade oral.

**Descritores:** Probióticos. Cárie. *Streptococos do grupo mutans*. Saúde Oral. Prevenção.

---

---

## ABSTRACT

Probiotics have been widely studied due to the benefic effects to host health. The main research field of probiotics is gastrointestinal tract. However, there is an increased interest in odontology research due to the benefits of probiotics in oral cavity. Oral infections, mainly caries, show high prevalence in Brazilians and its treatment has high costs. Preventive actions to this disorder should have high potential to benefit a high number of individuals. The efforts of odontology nowadays aim to recover the balance between pathogenic microorganisms and benefic micro flora. New methods, like bacteriotherapy to reduce pathogenic elements of oral micro biota, have being investigated. Probiotics are one of the new promising agents on caries disease. It is believed that among the various criteria to the selection of a certain strain, adhesion is considered the most favor to the expression of probiotic activity as well as administration. Probiotics are safe to the use of healthy people however, they should be cautious administered in ill individuals to avoid bacteremia risk. Clinical trials searching for the role of probiotics in the prevention of caries are limited and new studies should be performed to better identify the mechanisms of action as well as the benefic effects in oral cavity.

**Key-words:** probiotics, caries, *Streptococcus of mutans* group, oral health, prevention.

---

---

---

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1** - Estratégia de busca na literatura para estudos *in vivo* sobre o uso de probióticos na prevenção das doenças orais. ....30
- Figura 1** - Esquema do estudo cruzado com períodos run-in e wash-out ....61
- Figura 2** - contagem de Estreptococos do grupo mutans da saliva e do biofilme.....65
- Figura 3** - contagem de lactobacilos da saliva e do biofilme. ....65
- Figura 4** - contagem de microrganismos totais da saliva e do biofilme. ....67
- 
-

---

---

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Evidências clínicas da eficácia do uso de probióticos na saúde oral.....	33
---	----

---

## LISTA DE ABREVIATURAS

<b>FDA</b>	Food and Agriculture Organization
<b>FO-UFPel</b>	Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas
<b>MEDLINE</b>	Medical Literature Analysis and Retrieval System Online
<b>WHO</b>	World Health Organization

---

---

---

## SUMÁRIO

<b>1 CAPÍTULO I.....</b>	<b>14</b>
1.1 APRESENTAÇÃO.....	15
1.2 JUSTIFICATIVA .....	20
1.3 OBJETIVOS .....	22
1.3.1 Objetivo Geral .....	22
1.3.2 Objetivos Específicos .....	22
1.4 REFERÊNCIAS.....	23
<b>2 CAPÍTULO II.....</b>	<b>24</b>
2.1 ARTIGO DE REVISÃO.....	25
<b>3 CAPÍTULO III.....</b>	<b>53</b>
3.1 ARTIGO ORIGINAL .....	54
<b>4 CAPÍTULO IV .....</b>	<b>75</b>
4.1 CONCLUSÕES .....	76
<b>ANEXOS.....</b>	<b>77</b>
ANEXO 1 - QUESTIONÁRIO .....	78
ANEXO 2 - INSTRUÇÕES AOS VOLUNTÁRIOS .....	79

---

---

---

## **1 CAPITULO I**

Apresentação

Justificativa

Objetivos

Referências

---

## 1.1 APRESENTAÇÃO

A cárie é uma das doenças microbianas mais comuns dos países industrializados, e o maior impacto benéfico na prevalência de cáries foram as medidas de aplicação tópica de flúor, principalmente nos dentifrícios. Bons hábitos de higiene bucal reduziram o acúmulo de biofilme na população, porém mais atualmente, esquemas direcionados à modificação da ecologia do biofilme têm sido demonstrados. A abordagem ecológica da prevenção da cárie aponta na direção do *Streptococcus* do grupo mutans e apresenta uma interação entre a microbiota do biofilme e do meio ambiente oral, sendo este último caracterizado pela ingestão frequente de carboidratos fermentáveis, higiene oral deficiente, e quantidade de fluxo salivar, podendo estas características alterar a composição do biofilme.<sup>1</sup>

Por mais de meio século a cárie dentária foi definida como uma doença infecciosa e transmissível quando na verdade é uma enfermidade complexa que se inicia por uma ação microbiana. As espécies patogênicas, principalmente associadas ao desenvolvimento da cárie, são parte das bactérias endógenas, e não exógenas, que frente a uma alteração do meio ambiente, neste caso favorável ao seu crescimento, aumentam seu número significativamente. De acordo com esta teoria, a cárie é fruto de alterações ecológicas consequentes de um meio ambiente perturbado, onde microrganismos potencialmente patogênicos podem alcançar uma determinada quantidade que predispõem o seu desenvolvimento.<sup>2,3</sup>

---



---

Atualmente as pesquisas sobre controle de cárie enfocam o controle de microrganismos através da bacterioterapia com o uso de probióticos.<sup>4,5,6</sup>

O termo probiótico designa-se a microrganismos vivos que administrados em quantidades adequadas promovem benefícios à saúde do hospedeiro.<sup>7</sup> Ou seja, um agente probiótico pode ser definido como uma formulação dietoterápica que contém um número adequado de microrganismos vivos, os quais possuem a capacidade de modificar a flora bacteriana exercendo um efeito positivo e benéfico para a saúde.<sup>8,9</sup>

Aparelhos ortodônticos são considerados fatores de risco para a saúde oral devido ao grande acúmulo de microrganismos que eles promovem, podendo causar a desmineralização do esmalte, clinicamente visível como lesões de manchas brancas. Além disso, o complexo desenho das bandas e brackets ortodônticos pode criar um meio ambiente ecológico facilitador do estabelecimento e desenvolvimento de cepas cariogênicas de *Streptococos* do grupo mutans.<sup>10</sup> Além da exposição aos fluoretos, evidências muito limitadas foram encontradas e concluiu-se que mais pesquisas de alta qualidade clínica seriam necessárias para sugerir a melhor estratégia de prevenção de cárie durante o tratamento ortodôntico.<sup>11</sup>

No CAPÍTULO II desta dissertação será apresentado o **Artigo de Revisão**, onde se realizou uma revisão da bibliografia a fim de descrever o conhecimento atual sobre a prevenção de cáries através do emprego de probióticos e o resultado de estudos recentes demonstra que certas espécies bacterianas usadas como probióticos podem exercer efeitos benéficos na cavidade oral.

---

---

As bases de dados utilizadas foram o Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (MEDLINE), assim como alguns artigos do acervo pessoal dos autores, sendo incluídos trabalhos originais e de revisão.

Para definição das informações a serem retiradas das publicações, iniciou-se pela análise dos resumos seguindo-se à leitura textual. Integram produções em português, inglês e espanhol datadas de 2000 a 2011.

Os termos para a busca foram: Probióticos (Probiotics), Cárie (Caries), *Streptococos do grupo mutans* e Saúde Oral (Oral Health), a palavra “probiótico” foi utilizada combinada com os demais termos.

Os resultados deste estudo encontram-se no artigo de revisão “O Papel dos probióticos na prevenção da doença cárie”.

No CAPÍTULO III desta dissertação será apresentado o **Artigo Original**. Estudos clínicos com diferentes cepas de probióticos como *Lactobacillus rhamnosus* GG, *Lactobacillus reuteri*, *bifidobacterium* ou um “pool” de lactobacilos tem consistentemente exibido uma redução da prevalência de cárie associada a redução de *Streptococos do grupo mutans*. Segundo Cildir,<sup>11</sup> o consumo a curto prazo de iogurte contendo bifidobacteria poderia afetar os níveis de *Streptococos do grupo mutans* e lactobacillus em pacientes com tratamento ortodôntico.

Todos os esforços utilizados para minimizar os efeitos colaterais do tratamento ortodôntico são válidos, principalmente quando os benefícios podem ser extrapolados para a população em geral. Assim sendo, o estudo dos probióticos e sua influência na redução de *Streptococos do grupo*

---

---

*mutans* e possível redução de cárie é de suma importância para a comunidade odontológica e caracteriza o foco principal deste trabalho.

Realizou-se um estudo do tipo cruzado, duplo-cego, randomizado placebo controlado e consistiu em quatro períodos: os períodos 1 e 3 foram períodos *run-in* e *wash-out*, e os períodos 2 e 4 períodos de ingestão dos iogurtes. Os iogurtes teste e controle foram distribuídos aleatoriamente, tendo características semelhantes, e os potes foram marcados somente com A e B, codificação realizada por um indivíduo não relacionado com as etapas do estudo. Imediatamente antes e após os períodos 2 e 4, foi realizada amostragem da saliva estimulada integral dos voluntários. As amostras de saliva foram transportadas imediatamente em gelo ao Laboratório de Microbiologia (FO-UFPel). Então, a saliva foi homogeneizada em vortex, e diluída serialmente para contagem de microrganismos totais, estreptococos do grupo *mutans*, lactobacilos, *cândida*, e microrganismos acidúricos totais. As unidades formadoras de colônia foram contadas e os resultados expressos em UFC/mL de saliva e em porcentagem de estreptococos do grupo *mutans*, de lactobacilos, *cândida* e microrganismos acidúricos totais em relação aos microrganismos totais cultiváveis.

A partir dos resultados deste estudo, originou-se o Artigo Original **“EFEITO DE IOGURTE CONTENDO PROBIÓTICOS *BIFIDOBACTERIUM ANIMALIS* SUBSP. *LACTIS* DN- 1173010 NA COMPOSIÇÃO DOS BIOFILMES E SALIVA DE ADOLESCENTES SOB TRATAMENTO ORTODÔNTICO: UM ENSAIO CLÍNICO CRUZADO, DUPLO-CEGO, RANDOMIZADO E PLACEBO CONTROLADO.”**

---

Em síntese, conclui-se que o uso de iogurte contendo *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* por período de 2 semanas não afeta os níveis salivares ou presentes nos biofilmes de usuários de aparelho ortodôntico fixo.

---

## 1.2 JUSTIFICATIVA

O risco de desenvolver lesões de cárie ao redor de brackets localizados na face vestibular dos dentes durante o tratamento ortodôntico é alto, assim como pela presença de banda, fios e outros auxiliares do tratamento que dificultam a utilização de métodos de higiene convencionais, tornando prolongado o acúmulo de biofilme na base de brackets e outros dispositivos ortodônticos. Na presença de carboidratos fermentáveis, a desmineralização do esmalte ao redor dos brackets é um processo extremamente rápido e a prevalência de novas lesões de esmalte em pacientes em tratamento ortodôntico é bastante alta.

O uso de medidas preventivas nesta população específica tem sido largamente investigado. Há uma diversidade de métodos sendo aplicados e pesquisados, como o uso de fluoretos e clorexidina em forma de bochechos, géis, vernizes; adesivo de esmalte com flúor; escovas dentais elétricas entre outros. Apesar da larga exposição aos fluoretos, poucas evidências foram encontradas na literatura e concluiu-se que mais pesquisas clínicas de boa qualidade seriam necessárias para definir a melhor estratégia de prevenção de cárie durante o tratamento ortodôntico.

Em vista do que foi citado anteriormente, as pesquisas que visam reduzir o aparecimento de cárie e manchas brancas nos últimos anos enfocam o controle de microrganismos patógenos através da bacterioterapia com o uso de probióticos, pois de modo geral os probióticos promovem a

---

saúde alterando o equilíbrio ecológico pela exclusão competitiva de bactérias patogênicas (“inibição competitiva”).

O efeito dos probióticos sobre a microflora oral de pacientes ortodônticos precisa ser melhor determinado. Portanto, firma-se a importância clínica do tema e a contribuição científica que esta pesquisa pode gerar para diferentes áreas da Odontologia, como a Cariologia, a Odontopediatria e a Ortodontia em primeira instância.

---

### 1.3 OBJETIVOS

#### 1.3.1 Objetivo Geral

- Avaliar *in vivo* se o consumo de iogurte contendo o probiótico *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* (ACTIVIA, Danone) por um período de 2 semanas afeta a contagem de *Streptococos do grupo mutans* na saliva e no biofilme de pacientes em tratamento ortodôntico.

#### 1.3.2 Objetivos Específicos

- Avaliar *in vivo* se o consumo de iogurte contendo probiótico *Bifidobacterium animalis* subsp *lactis* (ACTIVIA, Danone) afeta a contagem de microrganismos totais, acidúricos totais, lactobacilos e *Cândidas albicans* e não *albicans*.
  - Avaliar o conforto/satisfação do paciente após a ingestão diária de iogurte contendo probióticos no período de 2 semanas.
-

---

#### 1.4 REFERÊNCIAS

1. Beighton D. Can the ecology of the dental biofilm be beneficially altered? *Adv Dent Res.* 2009;21(1):69-73.
  2. Bonifait L, Chandad F, Grenier D. Probiotics for oral health: myth or reality? *J Can Dent Assoc.* 2009 Oct;75(8):585-90.
  3. Fejerskov O. Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care. *Caries Res.* 2004 May-Jun;38(3):182-91.
  4. Anderson, M.H.; Shi, W. A Probiotic Approach to Caries Management. *Pediatric Dentistry*, Volume 28, Number 2, March/April 2006 , pp. 151-153(3)
  5. 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.
  6. Montalto M, Vastola M, Marigo L, Covino M, Graziosetto R, Curigliano V, et al. Probiotic treatment increases salivary counts of lactobacilli: a double-blind, randomized, controlled study. *Digestion.* 2004;69(1):53-6.
  7. Joint FAO/WHO Working Group Report on Drafting Guidelines for the evaluation of Probiotics in Food. London, Ontario, Canada, April 30 and May 1, 2002.
  8. Morais M B, Jacob C M A. The role of probiotics and prebiotics in pediatric practice. *J Pediatr.* 2006;82:189-97
  9. Perez-Luyo, A. Probiotics: a new alternative for dental caries prevention?. *Rev. Estomatol. Herediana*, Jan./jun. 2008, vol.18, no.1, p.65-68
  10. Derks A, Katsaros C, Frencken JE, van't Hof MA, Kuijpers-Jagtman AM. Caries-inhibiting effect of preventive measures during orthodontic treatment with fixed appliances. A systematic review. *Caries Res.* 2004 Sep-Oct;38(5):413-20.
  11. Cildir SK, Germec D, Sandalli N, Ozdemir FI, Arun T, Twetman S, et al. 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.
-



---

## **2 CAPITULO II**

Artigo de Revisão

---

## 2.1 ARTIGO DE REVISÃO

**Título: O Papel dos probióticos na prevenção da doença cárie.**

Currículo Lattes: todos os autores possuem currículo Lattes atualizado.

Contribuição específica dos autores: todos os autores participaram da revisão da literatura, leitura e análise dos artigos, redação e aprovação final do manuscrito.

Conflito de interesse: os autores não possuem conflito de interesse.

Instituição: Faculdade e Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul/Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas.

Autor responsável para correspondência e contato:

Gabriela dos Santos Pinto

Fone: (53) 9159-1010

Email: [gabipinto@hotmail.com](mailto:gabipinto@hotmail.com)

Contagem total de palavras do texto (excluindo resumo, abstract, referências bibliográficas, figuras e quadros): 4023

Contagem total de palavras do resumo: 258

Número de quadros: 01

Número de figuras: 01

---

**RESUMO**

Probióticos tem sido extensivamente estudados pelos seus efeitos benéficos à saúde do hospedeiro. O principal campo de pesquisa de probiótico é o trato gastrointestinal. Entretanto, nos últimos anos tem havido um crescente interesse da pesquisa odontológica pelos benefícios dos probióticos na cavidade oral. As infecções orais, em particular a cárie, tem alta prevalência na população brasileira e seu tratamento envolve alto custo. Ações preventivas dirigidas a esta enfermidade teriam um alto potencial de beneficiar um grande número de indivíduos. Atualmente, os esforços da Odontologia visam restaurar o equilíbrio entre os microrganismos patógenos e a microflora benéfica. Novos métodos como a bacterioterapia para reduzir elementos patógenos da microbiota oral vem sendo investigados. Os probióticos são um destes novos agentes promissores na profilaxia da doença cárie. A presente revisão descreve o conhecimento atual sobre a prevenção de cáries através do emprego de probióticos e o resultado de estudos recentes demonstra que certas espécies bacterianas usadas como probióticos podem exercer efeitos benéficos na cavidade oral. Acredita-se que dentre vários critérios de seleção para a escolha de uma determinada cepa, a adesão pode ser considerada a que mais favorece a expressão da atividade probiótica, assim como o veículo de administração. Probióticos são seguros para o uso de pessoas saudáveis, mas devem ser administrados com cautela em pessoas debilitadas para evitar o risco de bacteremias. Os ensaios clínicos sobre o papel dos probióticos na prevenção da doença cárie ainda são bastante limitados e novos estudos devem ser realizados a fim esclarecer melhor seu mecanismos de ação e efeitos benéficos na cavidade oral.

**Descritores:** Probióticos. Cárie. *Streptococos do grupo mutans*. Saúde Oral. Prevenção.

---

## INTRODUÇÃO

Probióticos tem emergido como uma fascinante área científica. De acordo com a Food and Agriculture Organization (FAO) e a World Health Organization (WHO) em 2002, probióticos são microrganismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas conferem benefícios ao seu hospedeiro.<sup>1</sup> O conceito de probióticos data do início de 1900 quando o ucraniano bacteriologista Ilya Metchnikof recebeu o Premio Nobel e destacou a relação entre o iogurte rico em *Lactobacillus bulgaricus* e *Streptococos do grupo termophilus* com a longevidade dos grupos étnicos da Europa Oriental. Estudos recentes demonstram que a ingestão de probióticos é importante para a manutenção do equilíbrio microbiano do corpo humano.<sup>2,3</sup> Este equilíbrio é responsável por reforçar as funções fisiológicas, em especial o sistema imunológico, tornando-se fator relevante para o bem estar.<sup>4,5</sup>

Atualmente as espécies mais comumente relacionadas às propriedades probióticas são pertencentes aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium*, sendo consideradas seguras porque podem residir no corpo humano sem causar danos, além de serem os microorganismos chave para a fermentação do leite e preservação dos alimentos.<sup>6</sup>

Ao longo dos anos, o interesse científico em descobrir, avaliar e analisar as espécies com propriedades probióticas teve um crescimento intenso, e os artigos científicos, atualmente, ultrapassam o número de 7105 (busca efetuada no PubMed em julho de 2011).

---

---

Os estudos mais recentes indicam que os probióticos podem exercer seus efeitos competindo com patógenos, modificando o ambiente intestinal pela redução do pH, em consequência dos produtos da fermentação, interagindo e modulando a resposta inflamatória e imunológica local e sistêmica, entre outros.<sup>5</sup>

Nos últimos anos os probióticos foram introduzidos nas pesquisas odontológicas, após anos de sucesso no manejo das desordens gastrointestinais. A cavidade oral representa a primeira região do trato gastrointestinal, onde os probióticos podem criar um biofilme que age como uma barreira protetora para os tecidos contra as doenças bucais, pois mantém as bactérias patógenas longe destes tecidos, além de competir com bactérias cariogênicas inibindo seu crescimento.<sup>7</sup>

Na Odontologia, estudos com *Lactobacillus rhamnosus*,<sup>8-15</sup> *Lactobacillus reuteri*,<sup>16-22</sup> *Bifidobacterium animalis*<sup>7,23,24</sup> conferem aos probióticos a capacidade de interagir com *Streptococcus do grupo mutans*, reduzindo o número deste patógeno da cárie. Isto sugere que os probióticos tenham um importante papel na profilaxia da cárie.

Na presente revisão discute-se o papel benéfico de algumas espécies de probióticos no âmbito da cavidade oral, com o objetivo de apresentar uma visão geral sobre a administração de probióticos na prevenção da doença cárie e seus efeitos na saúde oral.

---

## MÉTODOS

A pesquisa constitui-se de uma revisão da literatura. Como questão de pesquisa, buscou-se conhecer melhor sobre o potencial benéfico dos probióticos na cavidade oral, com especial ênfase no estado atual das pesquisas sobre prevenção de cárie.

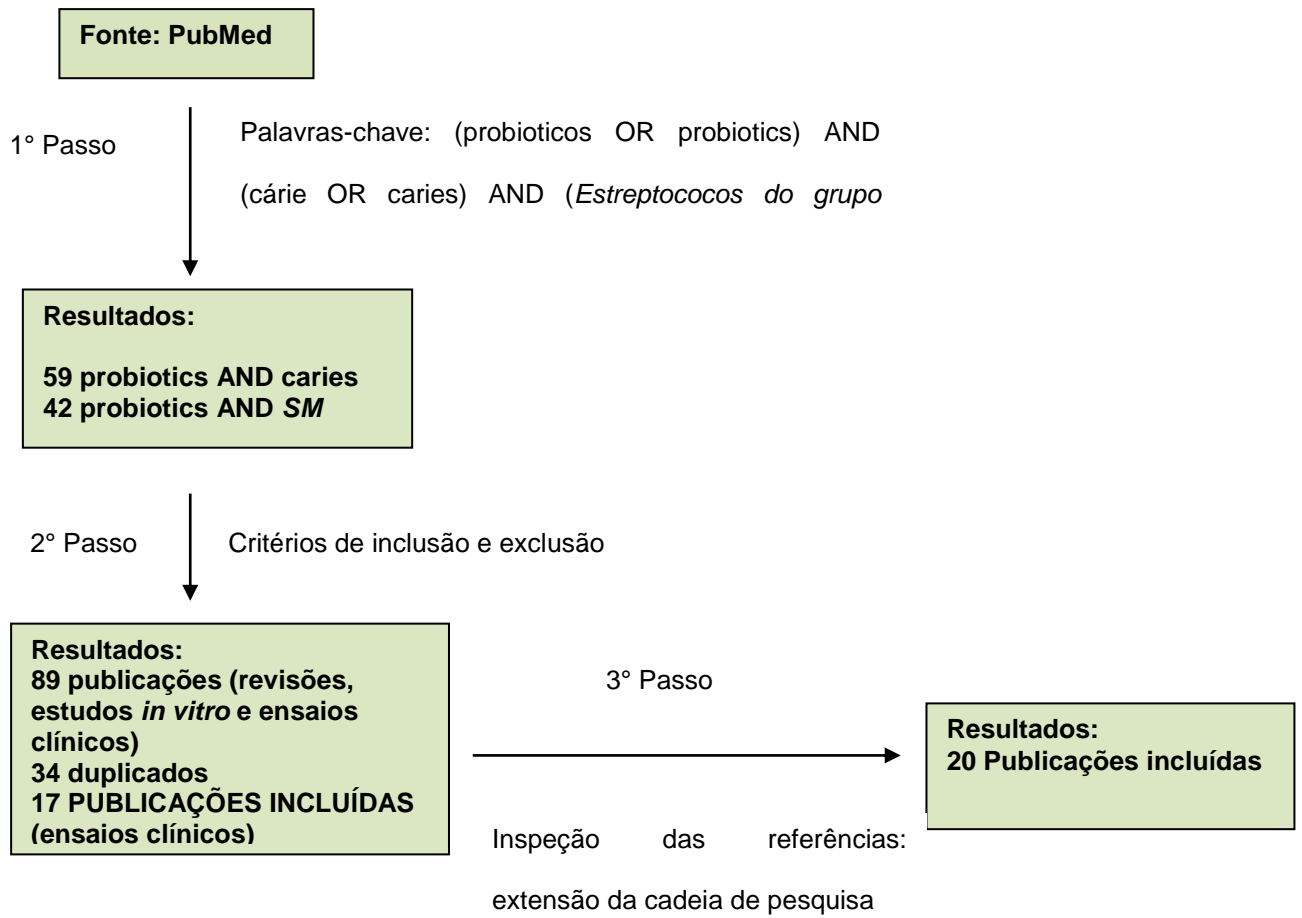
Foi utilizada a base de dado do Medical Literature Analysis and Retrieval System Online (MEDLINE), sendo incluídos trabalhos originais e de revisão.

Para definição das informações a serem retiradas das publicações, iniciou-se pela análise dos resumos seguindo-se à leitura textual. Integram produções em português, inglês e espanhol datadas de 2000 a 2011.

Os termos para a busca foram: Probióticos (Probiotics), Cárie (Caries), *Streptococos do grupo mutans* e Saúde Oral (Oral Health), a palavra “probiótico” foi utilizada combinada com os demais termos.

Para os estudos *in vivo*, três passos da estratégia de busca na literatura usando Medline foram utilizados e estão demonstrados na figura 1. No primeiro passo, artigos publicados entre 2000 e 2011 foram recuperados. No segundo passo, o autor realizou uma triagem das publicações baseado nos resumos. Os artigos incluídos deviam ser ensaios clínicos que utilizassem probióticos na prevenção de doenças bucais. O terceiro passo diz respeito à inspeção das referências dos artigos incluídos levando a uma extensão da cadeia de pesquisa do primeiro passo. Esta sequência de busca resultou em 20 publicações.

---



**Figura 1** - Estratégia de busca na literatura para estudos *in vivo* sobre o uso de probióticos na prevenção das doenças orais.

## RESULTADOS

Foram selecionados e revisados 89 artigos em textos completos, incluindo trabalhos originais e de revisão. Destes, 20 eram estudos *in vivo*. Pesquisas de todos os continentes foram analisadas, sendo que 15 foram realizados na Europa, 4 na Ásia, e 1 na Oceania.

Dos estudos *in vivo*, 16 autores pesquisaram sobre a influência dos probióticos na prevenção de cárie. Twetman et al investigaram a influência dos probióticos em gomas de mascar nos níveis de mediadores inflamatórios no fluido gengival.<sup>25</sup> Burton et al e Iwamoto et al realizaram estudos sobre o efeito do probiótico na halitose<sup>26,27</sup> e Hatakka et al verificaram a relação do uso de probióticos na redução de *Cândida Oral* em pacientes idosos.<sup>28</sup>

A metade dos estudos (n = 10) utilizou leite e seus derivados, como iogurte, queijo, sorvete como veículo de administração dos probióticos. O leite e seus derivados são os alimentos ideais para a adição de probióticos, por se caracterizarem como meio de cultura preferencial para o crescimento desses microrganismos. As bifidobactérias, por exemplo, utilizam como substrato a lactose e a galactose (açúcares naturalmente presentes no leite) em seu metabolismo, o que favorece seu desenvolvimento. Este processo de adição de cepas de bifidobactérias resulta em um iogurte palatável e com alta viabilidade dos probióticos.<sup>29</sup>

Näse et al em 2001 realizaram o primeiro estudo randomizado, duplo-cego, placebo controlado examinando o efeito do leite enriquecido com *L. rhamnosus* GG na redução do risco à cárie. Este estudo foi o maior e mais

---



longo encontrado na literatura, tendo uma duração de 7 meses e incluindo 594 crianças de 1 a 6 anos.<sup>11</sup> O estudo com tempo de duração mais curto encontrado durante esta revisão data de 2011, quando Singh et al realizaram uma pesquisa para comparar os níveis de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* da saliva de escolares antes e depois do consumo de iogurte contendo probiótico e/ou placebo. Os autores concluíram que o consumo de sorvete contendo *Bifidobacterium lactis* Bb-12 ATCC27536 e *Lactobacillus acidophilus* La-5 durante 10 dias pode reduzir os níveis salivares das bactérias associadas à doença cárie.<sup>24</sup>

---

**Tabela 1 - Evidências clínicas da eficácia do uso de probióticos na saúde oral**

Autor/ano	Cepa	Veículo de administração	Duração da ingestão do probiótico	Dose	Eficácia clínica
Ahola et al (2002)	L. rhamnosus GG and L. rhamnosus LC 705	Queijo	3 semanas	5X15g queijo/ Dia	redução do nível de EGM e redução do risco à cárie
Burton et al (2005)	S. salivarius	Pastilha	1 semana	1 pastilha 3x/dia	redução da volatilidade de compostos sulfurados
Çaglar et al (2005b)	Bifidobacterium DN - 173 010	iogurte	2 semanas	200g iogurte/ Dia	redução de EGM
Çaglar et al (2006)	L. reuteri ATCC 55 730 L. rhamnosus GG;	Água com probiótico	3 semanas	200ml 1x/dia	redução do nível de EGM
Cildir et al (2009)	Bifidobacterium DN - 173 010	iogurte	2 semanas	200g iogurte/ Dia	redução dos níveis de EGM em pacientes ortodônticos
Chuang et al (2010)	L. paracasei GMNL-33	Pastilhas	2 semanas	3x/dia	redução da contagem de EGM ao final das 2 semanas
Harini e Anegundi -2010		Bochecho c/probiótico	14 dias	15ml de solução Dia	redução acúmulo de placa
Hatakka et al (2007)	Prorionibacterium JS	Queijo	16 semanas	50g queijo/dia	redução de altos níveis de levedura e hipossalivação
Iwamoto et al (2010)	L. salivarius WB21	Pastilhas	2 e 4 semanas	3 pastilhas/dia	redução da halitose e da volatilidade de compostos sulfurados
Montalto et al (2004)	L. sporogenes, L. bifidum, L. bulgaricus, L. termophilus, L. casei, L. rhamnosus	Líquido, cápsulas	45 dias		aumento da contagem de lactobacillus sem diminuição significante da contagem EGM
Nåse et al (2001)	L. rhamnosus GG	Leite	7 meses	200ml de leite/ Dia	menos cárie e mais baixo nível de EGM
Petti et al(2001)	L. bulgaricus, L. termophilus,	iogurte	8 semanas	125g 2x/dia	redução do número de EGM e lactobacillus salivários
Shimauchi et AL	L. salivarius WB21	Pastilha	8 semanas	1 pastilha 3x/dia	melhor índice de placa
Sinkiewicz et al (2010)	L. reuteri	Suplementação	12 semanas		diminuição da razão entre bactérias "boas/más" subgingivais
Stecksén-Blicks et AL -2009	L. rhamnosus LB21	Leite enriquecido c/ flúor e probiótico	21 meses	150 ml leite/dia	redução do desenvolvimento de cárie em pré-escolares
Twetman (2008)	L. reuteri ATCC 557 L. reuteri ATCC PTA 5289	Goma de mascar	2 semanas	mascar 10' 2x/dia	redução de citocinas pró-inflamatórias

---

## DISCUSSÃO

### Ecologia da doença cárie

A cárie é uma das doenças microbianas mais comuns dos países industrializados e tem enorme impacto social. O papel das bactérias na etiologia da doença cárie está bem definido, e embora bactérias sejam essenciais para o início da doença, a estreita interação entre microbiota, hospedeira e meio ambiente, incluindo hábitos alimentares e de higiene é definitiva para determinar a severidade e progressão das lesões de cárie.<sup>30-33</sup> No entanto, tem se tornado cada vez mais claro que medidas dirigidas a eliminar microrganismos associados à cárie, pertencentes à microflora endógena são extremamente difíceis. Consequentemente, caminhos alternativos para alterar a ecologia oral tem surgido na literatura.<sup>6</sup>

Muitas pesquisas odontológicas de prevenção de cárie focam no *Streptococcus* do grupo mutans por ele estar estreitamente associado ao processo. Eles colonizam a superfície dental e tem importantes características patogênicas, como formação de glucanas e propriedades acidúricas e acidogênicas. Outro grupo de microrganismos associado ao desenvolvimento de cáries pertence ao gênero *Lactobacilos*. Estas bactérias são mediadores tardios da progressão das lesões.<sup>30,32</sup> Fejerskov afirma que a doença cárie acontece quando há um desequilíbrio do biofilme, e não apenas pela presença ou ausência de *Streptococcus do grupo mutans*, se a homeostase da microflora é perdida, uma infecção oportunista pode

---

---

acontecer, derivada de microrganismos endógenos do hospedeiro. Este desequilíbrio acontece quando, por exemplo, o pH do biofilme repetidamente encontra-se baixo, após o consumo frequente de açúcares, favorecendo o predomínio de espécies cariogênicas.<sup>34,35</sup>

Segundo o exposto, a doença cárie é consequência de alterações ecológicas, de um meio ambiente alterado, onde microrganismos potencialmente patógenos teriam vantagem, podendo alcançar em determinados nichos, um número tal que predispõem o desenvolvimento desta doença. Uma alternativa de tratamento poderia ser a promoção da colonização do meio oral por bactérias inibidoras da cárie.<sup>36,37</sup>

### **Probióticos e saúde oral**

O conceito de probióticos data do início de 1900 quando o ucraniano bacteriologista Ilya Metchnikof recebeu o Premio Nobel e destacou a relação entre o iogurte rico em *Lactobacillus bulgaris* e *Streptococos do grupo termophilus* com a longevidade dos grupos étnicos da Europa Oriental. Este conceito se sustenta na teoria da bacterioterapia para promover a saúde intestinal alterando a colonização do cólon, através de uma dieta rica em leite fermentado por lactobacilos.<sup>2</sup> O termo probiótico designa-se a microrganismos vivos que administrados em quantidades adequadas promovem benefícios à saúde do hospedeiro. Ou seja, um agente probiótico pode ser definido como uma formulação dietoterápica que contém um número adequado de microrganismos vivos, os quais possuem a capacidade

---

---

de modificar a flora bacteriana exercendo um efeito positivo e benéfico para a saúde. Os probióticos podem ser administrados em quatro formas básicas: como cultivo concentrado agregado a alguma bebida; inoculado em fibras prebióticas; inoculado em alimentos lácteos e como suplemento dietético (pó, cápsulas, tabletes, gelatinas).<sup>6</sup>

De maneira geral, os probióticos promovem a saúde alterando o balanço ecológico mediante a exclusão competitiva de bactérias patogênicas, e exercem sua ação através de múltiplos mecanismos como a fagocitose, inibição do crescimento bacteriano, modulação local da resposta imune e inibição competitiva. Deve-se realçar 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.<sup>2,38</sup>

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. A ingestão de derivados do leite contendo uma ou mais cepas de probióticos pode ser uma opção de tratamento de longo prazo para a prevenção de cáries na infância.<sup>39,40</sup> Embora, atualmente, o número de estudos conduzidos ainda é limitado, os resultados são encorajadores e prevêm maiores avanços nesta área.<sup>40</sup>

---

---

O primeiro ensaio clínico randomizado, duplo-cego, placebo controlado examinando o efeito do leite enriquecido com *Lactobacillus rhamnosus* GG na redução do risco à cárie em crianças quando comparado com leite normal foi concluído em 2001. 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*.<sup>11</sup> Na Finlândia Ahola et al 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. 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.<sup>8</sup> Isto pode ser explicado pelo curto período de tempo da intervenção. Estudando esta mesma cepa de probióticos, Yli-Knuuttila et al, realizaram uma pesquisa com 56 voluntários que 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.<sup>15</sup> Em 2009, Stecksén-Blicks et al, verificaram o efeito do consumo por longo período de tempo de leite suplementado com lactobacilos probióticos e flúor nas cáries e na saúde geral de pré-escolares. Concluíram que o consumo diário de leite suplementado com probiótico e flúor reduz cáries em pré-escolares e tem um efeito benéfico na saúde geral.<sup>14</sup> Lexner et al 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, consumido durante um curto período de tempo, com bactérias probióticas. Este consumo não afetou significativamente o perfil microbiano ou os níveis salivares de bactérias associadas à cárie.<sup>10</sup> O mais recente estudo com *Lactobacillus rhamnosus* GG foi realizado por Peterson et al, em 2011. Este estudo teve um período de intervenção de 15 meses, onde 160 sujeitos consumiram leite enriquecido com o probiótico. Ao final do período, os autores puderam verificar a reversão de lesões cariosas primárias de raiz.<sup>12</sup>

Petti et al realizaram um ensaio clínico randomizado para avaliar o efeito do iogurte na microflora salivar de humanos. Segundo os autores o consumo de iogurte pode diminuir o número de *Streptococos* do grupo *mutans* e lactobacilos salivários, entretanto, não parece ter atividade antibacteriana residual após descontinuado o uso.<sup>41</sup>

Montalto et al realizou um estudo randomizado, duplo-cego e placebo controlado com 35 adultos saudáveis (23 – 37 anos). As bactérias probióticas utilizadas foram *Lactobacillus sporogenes*, *Lactobacillus bifidum*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus termophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus* e a contagem de *Streptococos* do grupo *mutans* e *Lactobacillus* na saliva foi realizada após 45 dias de consumo. A contagem salivar de *Lactobacillus* aumentou significativamente e a contagem de *Streptococos* do grupo *mutans* não teve modificação significativa.<sup>42</sup>

Çaglar et al investigaram o efeito do probiótico *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 nos níveis salivares de *Streptococos* do grupo *mutans* de 120

---

---

adultos jovens (21 a 24 anos). Uma redução significativa dos níveis de *Streptococos do grupo mutans* foi relatada 1 dia após o final da ingestão dos probióticos.<sup>16</sup> Em 2007, Çaglar et al realizaram outro estudo para avaliar 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. Os sujeitos foram em número de 80, eram adultos jovens e saudáveis. As gomas foram utilizadas 3 vezes por dia após as refeições e o período de intervenção foi de 3 semanas. Uma redução significativa dos níveis de *Streptococos do grupo mutans* foi relatada no grupo A e B após a intervenção quando comparados aos valores basais.<sup>17</sup> Para investigar o efeito da goma de mascar contendo probiótico na inflamação gengival, Twetman et al realizaram um estudo com 42 adultos saudáveis. As gomas continham duas cepas de *Lactobacillus reuteri*: *L. reuteri* ATCC 55730 e *L. reuteri* ATCC PTA 5289. Os autores demonstraram que houve uma redução das citocinas pró-inflamatórias após o consumo desta cepa de probiótico. Esta redução pode ser a prova de que os probióticos são capazes de combater inflamações orais.<sup>22</sup> Sinkiewicz et al investigaram a presença de *Lactobacillus reuteri* na saliva após suplementação com esta cepa e o efeito do probiótico no índice de placa e microflora supra e subgengival. Um significativo aumento da contagem total de lactobacilos ocorreu em ambos os grupos do estudo. Nenhum efeito significativo na microbiota supra e subgengival foi observado.<sup>21</sup>

Baseados na observação de estudos prévios, Çaglar et al 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. iogurte sem probiótico. Os autores observaram uma redução estatisticamente significante 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.<sup>23</sup> Cildir et al apresentaram um estudo investigando o efeito de um iogurte de fruta contendo probiótico nos microrganismos associados à cárie.<sup>7</sup> Tal estudo mostrou como resultados que o consumo diário de iogurte com probiótico (*Bifidobacterium* DN - 173 010) durante 2 semanas, diminui a contagem salivar de *Streptococcus mutans* e reforçou achados prévios com *Bifidobacterium* e probióticos derivados de lactobacilos.<sup>23</sup> Mais recentemente, Singh et al também utilizaram bifidobactérias para reduzir os níveis salivares de *Streptococos do grupo mutans*. O veículo de administração do probiótico foi o sorvete e a cepas escolhidas foram *Bifidobacterium lactis* Bb-12 ATCC27536 e *Lactobacillus acidophilus* La-5. Após 10 dias de intervenção houve uma redução dos níveis salivares de *Streptococos do grupo mutans*.<sup>24</sup>

Em Taiwan, República da China, Chuang et al<sup>43</sup> examinaram se o probiótico *Lactobacillus paracasei* GMNL – 33 poderia reduzir a contagem salivar de bactérias associadas à carie em adultos jovens, utilizando comprimidos 3 vezes ao dia por 2 semanas. A capacidade tampão da saliva também foi medida. Os resultados não mostraram diferenças nas contagens de *Streptococos do grupo mutans* e *lactobacillus* entre os grupos controle e intervenção nas coletas realizadas no início, durante a intervenção e 2

---

---

semanas após a medicação. Porém uma significativa redução de *Streptococos do grupo mutans* foi detectada entre as coleta durante a intervenção e a coleta realizada 2 semanas após a intervenção, sugerindo que um período de 2 semanas de administração do probiótico *Lactobacillus paracasei* GMNL – 33 deve ser necessário para que o probiótico seja efetivo na sua ação.<sup>43</sup>

O conhecimento sobre o uso de probióticos nas doenças periodontais ainda é muito pequeno. Para determinar os efeitos dos probióticos na promoção de saúde oral, Shimauchi et al conduziram um ensaio clínico com voluntários saudáveis, sem doença periodontal severa. Tinham como objetivo avaliar se a administração oral de comprimidos contendo o probiótico *Lactobacillus salivarius* WB21 poderia alterar os parâmetros clínicos dos tecidos periodontais e a expressão de marcadores inflamatórios. Segundo os autores os parâmetros clínicos foram melhorados após 8 semanas de intervenção e os resultados indicaram que probióticos podem ser usados para melhorar e manter a saúde oral de sujeitos com risco a desenvolver doença periodontal.<sup>44</sup> Embora doenças periodontais causem halitose, os efeitos do probióticos no mau odor oral permanecem obscuros. *Lactobacillus salivarius* WB21 também foram estudados por Iwamoto et al com o objetivo de avaliar se a administração oral deste probiótico alteraria o grau de halitose e as condições clínicas associadas com halitose. Os autores concluíram que *Lactobacillus salivarius* WB21 administrados via oral melhoram halitose fisiológica e também tem efeitos benéficos na profundidade de sondagem de bolsas periodontais.<sup>27</sup>

---

---

A hipótese de que queijo contendo bactérias probióticas pode reduzir a prevalência de *Cândida* foi testada por Hatakka et al. O estudo com 276 idosos teve um período de intervenção de 16 semanas. O consumo de probióticos reduziu o risco de altas contagens de leveduras em 75%, e o risco de hipossalivação em 56%, podendo assim, ser efetivo no controle de *Cândida* oral e hipossalivação de idosos.<sup>28</sup>

### **Veículos de administração dos probióticos**

Os veículos pelos quais os probióticos são administrados podem influenciar no potencial cariogênico e na colonização da cavidade oral por tais bactérias. Felizmente a forma mais comum advém do leite e seus derivados como iogurtes, queijos, sorvetes e leite fermentado. Quando as bactérias são consumidas nos produtos lácteos, há uma diminuição da produção de ácidos pela capacidade tampão destes alimentos. A presença de cálcio, lactato de cálcio e outros componentes orgânicos e inorgânicos do leite são considerados anticariogênicos e podem reduzir a colonização por patógenos.<sup>7,11,16,45</sup>

Os meios de administração dos probióticos podem influenciar os efeitos observados, como por exemplo, a redução de *Streptococos do grupo mutans*. Para avaliar o papel de outros veículos que não fossem os derivados do leite, Çaglar et al administraram *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 em pastilhas e em água ingerida por um canudo de probióticos por 3 semanas. Os resultados obtidos mostraram que independente do meio de administração a contagem salivar de *Streptococos do grupo mutans* foi

---

significativamente reduzida após o período de intervenção.<sup>16</sup> Quando *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 e ATCC PTA 5289 foram utilizados em gomas de mascar por 3 semanas, a redução de *Streptococos do grupo mutans* foi significativa e comparável com a redução ocorrida na utilização de gomas de mascar com xilitol durante o mesmo período. A administração de uma pastilha contendo probióticos em pacientes saudáveis com altos níveis de *Streptococos do grupo mutans* na saliva resultou em diminuição destes níveis após 3 semanas dias de intervenção.<sup>17</sup>

### **Adesão e estabilidade dos probióticos na cavidade oral**

Dentre vários critérios de seleção para a escolha de uma determinada cepa de probiótico, a adesão pode ser considerada a que mais favorece a expressão da atividade probiótica. A capacidade dos probióticos aderirem às superfícies da cavidade oral pode evitar ou, no mínimo, reduzir a sua rápida exclusão do meio oral.<sup>46,47</sup> Além do mais, o biofilme pode ser considerado um mediador desta adesão dos probióticos no meio oral, pois recobre dentes e mucosa.<sup>48</sup> Estudos *in vitro*, tem avaliado a adesão dos probióticos na hidroxiapatita e epitélio oral. A hidroxiapatita se assemelha ao esmalte dental e os resultados obtidos podem refletir condições *in vivo*. Dentre os probióticos, as cepas de *Lactobacillus rhamnosus* GG demonstraram os maiores valores de adesão, enquanto que os *Lactobacillus bulgaricus* demonstraram pobre adesão à hidroxiapatita.<sup>48</sup>

---

---

Para serem capazes de ter efeitos probióticos na cavidade oral, as bactérias devem aderir-se às superfícies orais de maneira prolongada e persistente a ponto de fazerem parte do biofilme. Entretanto a aderência dos probióticos nas superfícies orais é um aspecto que ainda não está bem claro, assim como se a sua capacidade de inibir a ação das bactérias cariogênicas permanece após a descontinuidade do seu consumo.<sup>15,49,50</sup>

Bactérias probióticas não são capazes de colonizar a cavidade oral permanentemente, para tal devem ser consumidas em quantidades adequadas diariamente.<sup>2,5,15</sup> Yli-knuutila et al em seu estudo realizado com suco de fruta contendo *Lactobacillus rhamnosus* GG consumido por 2 semanas, observaram a permanência destes probióticos por uma semana após a descontinuidade do consumo.<sup>15</sup>

Embora sejam necessárias repetidas intervenções para a manutenção do efeito desejado, o conhecimento de que a adesão e estabilidade dos probióticos na cavidade oral são pobres é confortante quanto à segurança do seu uso.

### **Segurança do uso de probióticos**

A preocupação com a segurança do uso de probióticos cresce à medida que há, atualmente, um aumento da oferta de alimentos suplementados com probióticos.

A maioria dos probióticos é comercializada como gênero alimentício e não como produto farmacêutico ou biológico, mas é de extrema importância

---

---

que a sua segurança seja levada em consideração. A segurança dos microrganismos tradicionalmente usados é confirmada pelo longo período de pesquisas, principalmente no trato gastrointestinal.

Os fatores que devem ser considerados na avaliação da segurança dos probióticos incluem patogenicidade, infectividade, fatores de virulência com incluindo toxicidade, atividade metabólica, e propriedades intrínsecas do microrganismo. *Bifidobacterium* são as bactérias predominantemente presentes no intestino de bebês durante a amamentação materna e são consideradas contribuintes da saúde destes bebês. A segurança dos probióticos ainda não foi questionada e, relatos de efeitos prejudiciais destes microrganismos no hospedeiro são bastante raros.<sup>51,52,53</sup> Estudos realizados com *Bifidobacterium* sugerem que sua baixa patogenicidade, mas seu perfil de probiótico mais seguro pode estar relacionado ao número reduzido de estudos realizados com esta cepa.<sup>54</sup>

O aumento do consumo de probióticos, inevitavelmente leva a um aumento das concentrações destas espécies no organismo do hospedeiro. Bacteremias por lactobacilos são entidades raras. Qualquer microrganismo vivo é capaz de causar bacteremia, principalmente em pacientes com doenças severas ou imunologicamente comprometidos. A literatura atual apoia a conclusão de que a incidência de bacteremia por lactobacilos é insubstancial e que todos os casos registrados ocorreram em indivíduos que apresentaram doenças sistêmicas como diabetes, doenças cardiovasculares, desordens gastrointestinais e pacientes transplantados.<sup>55</sup>

---

Probióticos são seguros para o uso de pessoas saudáveis, mas devem ser administrados com cautela em pessoas debilitadas para evitar o risco de sepse. Embora ainda haja muito a ser estudado sobre os mecanismos de ação e as adequadas vias de administração dos probióticos, é claro que diferentes cepas podem ter efeitos diferentes em pessoas saudáveis ou doentes, em diferentes estágios de determinadas doenças e em diferentes grupos etários.<sup>55</sup>

---

## **CONCLUSÕES**

A cárie continua sendo uma das doenças microbianas mais comuns dos países industrializados, e o maior impacto benéfico na prevalência de cáries foram as medidas de aplicação tópica de flúor, principalmente nos dentifrícios. Porém mais atualmente, esquemas direcionados à modificação da ecologia do biofilme têm sido demonstrados e as pesquisas sobre controle de cárie enfocam o controle de micorganismos através da bacterioterapia com o uso de probióticos.

A bacterioterapia na forma de probióticos tem se mostrado uma maneira natural de manter a saúde e proteger os tecidos orais de diferentes doenças. As pesquisas atuais demonstram que os benefícios aumentam se a ingestão destas bactérias iniciar precocemente na vida dos indivíduos. A ingestão de derivados do leite contendo uma ou mais cepas de probióticos pode ser uma opção de tratamento de longo prazo para a prevenção de cáries na infância.

Os dados dos efeitos dos probióticos na cavidade oral se acumulam a cada dia, mas o exato mecanismo molecular de ação ainda não está claro. A administração da dosagem exata de probiótico para cada indicação ainda precisa ser melhor definida, assim como os parâmetros de segurança para cada tipo de bacterioterapia.

Novas pesquisas devem ser realizadas a fim de permitir a identificação dos probióticos que melhor se adaptem à utilização oral, bem como os veículos mais adequados: alimentos (leite e seus derivados) ou suplementos.

---



**REFERÊNCIAS**

1. Joint FAO/WHO Working Group Report on Drafting Guidelines for the evaluation of Probiotics in Food. London, Ontario, Canada, April 30 and May 1, 2002.
  2. Meurman JH, Stamatova I. Probiotics: contributions to oral health. *Oral Dis.* 2007 Sep;13(5):443-51.
  3. Saraf K, Shashikanth MC, Priy T, Sultana N, Chaitanya NC. Probiotics--do they have a role in medicine and dentistry? *J Assoc Physicians India.* 2010 Aug;58:488-90, 95-6.
  4. Bonifait L, Chandad F, Grenier D. Probiotics for oral health: myth or reality? *J Can Dent Assoc.* 2009 Oct;75(8):585-90.
  5. Morais M B, Jacob C M A. The role of probiotics and prebiotics in pediatric practice. *J Pediatr.* 2006;82:189-97
  6. Caglar E, Kargul B, Tanboga I. Bacteriotherapy and probiotics' role on oral health. *Oral Dis.* 2005 May;11(3):131-7.
  7. Cildir SK, Germec D, Sandalli N, Ozdemir FI, Arun T, Twetman S, et al. 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.
  8. Ahola AJ, Yli-Knuutila H, Suomalainen T, Poussa T, Ahlstrom 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.
  9. Hatakka K, Savilahti E, Ponka A, Meurman JH, Poussa T, Nase L, et al. Effect of long term consumption of probiotic milk on infections in children attending day care centres: double blind, randomised trial. *BMJ.* 2001 Jun 2;322(7298):1327.
  10. Lexner MO, Blomqvist S, Dahlen 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.
  11. Nase L, Hatakka K, Savilahti E, Saxelin M, Ponka A, Poussa T, et al. 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.
-

12. 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.* 2011 May 123. Becker MR, Paster BJ, Leys EJ, Moeschberger ML, Kenyon SG, Galvin JL, et al. Molecular analysis of bacterial species associated with childhood caries. *J Clin Microbiol.* 2002 Mar;40(3):1001-9.
  13. Pham LC, Hoogenkamp MA, Exterkate RAM, Terefework Z, de Soet JJ, ten Cate JM, et al. Effects of *Lactobacillus rhamnosus* GG on saliva-derived microcosms. *Archives of Oral Biology.* 2011;56(2):136-47.
  14. Stecksén-Blicks C, Sjöström I, Twetman S. Effect of long-term consumption of milk supplemented with probiotic lactobacilli and fluoride on dental caries and general health in preschool children: a cluster-randomized study. *Caries Res.* 2009;43(5):374-81.
  15. Yli-Knuutila H, Snäll J, Kari K, Meurman JH. Colonization of *Lactobacillus rhamnosus* GG in the oral cavity. *Oral Microbiol Immunol.* 2006 Apr;21(2):129-31.
  16. Çağlar 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.
  17. Çağlar E, Kavaloglu S C, Kuscu O O, Sandalli N, Holgerson P L, Twetman S. Effect of chewing gums containing xylitol or probiotic bacteria on salivary mutans streptococci and lactobacilli. *Clin Oral Invest.* 2007 (11):425-9.
  18. Çağlar 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.
  19. Kang MS, Oh JS, Lee HC, Lim HS, Lee SW, Yang KH, et al. Inhibitory effect of *Lactobacillus reuteri* on periodontopathic and cariogenic bacteria. *J Microbiol.* 2011 Apr;49(2):193-9.
  20. Nikawa H, Makihiro S, Fukushima H, Nishimura H, Ozaki Y, Ishida K, et al. *Lactobacillus reuteri* in bovine milk fermented decreases the oral carriage of mutans streptococci. *Int J Food Microbiol.* 2004 Sep 1;95(2):219-23.
  21. Sinkiewicz G, Cronholm S, Ljunggren L, Dahlen G, Bratthall G. Influence of dietary supplementation with *Lactobacillus reuteri* on the oral flora of healthy subjects. *Swed Dent J.* 2010;34(4):197-206.
  22. 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 Feb;67(1):19-24.
23. 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.
24. 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 Apr 5.
25. Twetman L, Larsen U, Fiehn NE, Stecksén-Blicks C, Twetman S. Coaggregation between probiotic bacteria and caries-associated strains: An in vitro study. *Acta Odontol Scand.* 2009 May 27:1-5.
26. Burton J P, Chilcot C N, Moore C J, Speiser G, Tagg J R. A preliminary study of the effect of probiotic *Streptococcus do grupo salivarius* K12 on oral malodour parameters. *J Appl Microbiol.* 2006 Apr; 100(4):754-64.
27. Iwamoto T, Suzuki N, Tanabe K, Takeshita T, Hirofujii T. Effects of probiotic *Lactobacillus salivarius* WB21 on halitosis and oral health: an open-label pilot trial. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2010 Aug;110(2):201-8.
28. Hatakka K, Ahola AJ, Yli-Knuutila 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.
29. Parvez S, Malik KA, Ah Kang S, Kim HY. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *J Appl Microbiol.* 2006 Jun;100(6):1171-85.
30. Becker MR, Paster BJ, Leys EJ, Moeschberger ML, Kenyon SG, Galvin JL, et al. Molecular analysis of bacterial species associated with childhood caries. *J Clin Microbiol.* 2002 Mar;40(3):1001-9.
31. Beighton D. Can the ecology of the dental biofilm be beneficially altered? *Adv Dent Res.* 2009;21(1):69-73. Boyle RJ, Robins-Browne RM, Tang ML. Probiotic use in clinical practice: what are the risks? *Am J Clin Nutr.* 2006 Jun;83(6):1256-64; quiz 446-7.
32. Simark-Mattsson C, Emilson CG, Hakansson EG, Jacobsson C, Roos K, Holm S. *Lactobacillus*-mediated interference of mutans streptococci in caries-free vs. caries-active subjects. *Eur J Oral Sci.* 2007 Aug;115(4):308-14.
-

33. Stamatova I, Meurman JH. Probiotics: health benefits in the mouth. *Am J Dent*. 2009 Dec;22(6):329-38.
  34. Derks A, Katsaros C, Frencken JE, van't Hof MA, Kuijpers-Jagtman AM. Caries-inhibiting effect of preventive measures during orthodontic treatment with fixed appliances. A systematic review. *Caries Res*. 2004 Sep-Oct;38(5):413-20.
  35. Fejerskov O. Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care. *Caries Res*. 2004 May-Jun;38(3):182-91.
  36. Adair SM, Xie Q. Antibacterial and probiotic approaches to caries management. *Adv Dent Res*. 2009;21(1):87-9. Hasslof P, Hedberg M, Twetman S, Steckslen-Blicks C. Growth inhibition of oral mutans streptococci and candida by commercial probiotic lactobacilli--an in vitro study. *BMC Oral Health*. 2010;10:18.
  37. Hasslof P, Hedberg M, Twetman S, Steckslen-Blicks C. Growth inhibition of oral mutans streptococci and candida by commercial probiotic lactobacilli--an in vitro study. *BMC Oral Health*. 2010;10:18.
  38. Reid G. The importance of guidelines in the development and application of probiotics. *Curr Pharm Des*. 2005;11(1):11-6.
  39. Comelli EM, Guggenheim B, Stingle F, Neeser JR. Selection of dairy bacterial strains as probiotics for oral health. *Eur J Oral Sci*. 2002 Jun;110(3):218-24.
  40. Twetman S, Steckslen-Blicks C. Probiotics and oral health effects in children. *Int J Paediatr Dent*. 2008 Jan;18(1):3-10.
  41. 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 Aug;46(8):705-12. Cannon JP, Lee TA, Bolanos JT, Danziger LH. Pathogenic relevance of *Lactobacillus*: a retrospective review of over 200 cases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2005 Jan;24(1):31-40.
  42. Montalto M, Vastola M, Marigo L, Covino M, Graziosetto R, Curigliano V, et al. Probiotic treatment increases salivary counts of lactobacilli: a double-blind, randomized, controlled study. *Digestion*. 2004;69(1):53-6.
  43. Chuang L-C, Huang C-S, Ou-Yang L-W, Lin S-Y. Probiotic *Lactobacillus paracasei* effect on cariogenic bacterial flora. *Clinical Oral Investigations*. 2010.
  44. Shimauchi H, Mayanagi G, Nakaya S, Minamibuchi M, Ito Y, Yamaki K, et al. Improvement of periodontal condition by probiotics with *Lactobacillus salivarius* WB21: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Clin Periodontol*. 2008 Oct;35(10):897-905.
-

- 
45. Teughels W, Van Essche M, Sliepen I, Quirynen M. Probiotics and oral healthcare. *Periodontol* 2000. 2008;48:111-47.
  46. Haukioja A, Yli-Knuuttila H, Loimaranta V, Kari K, Ouwehand AC, Meurman JH, et al. Oral adhesion and survival of probiotic and other lactobacilli and bifidobacteria in vitro. *Oral Microbiol Immunol*. 2006 Oct;21(5):326-32.
  47. Samot J, Lebreton J, Badet C. Adherence capacities of oral lactobacilli for potential probiotic purposes. *Anaerobe*. 2011 Apr;17(2):69-72.
  48. Stamatova I, Kari K, Vladimirov S, Meurman JH. In vitro evaluation of yoghurt starter lactobacilli and *Lactobacillus rhamnosus* GG adhesion to saliva-coated surfaces. *Oral Microbiol Immunol*. 2009 Jun;24(3):218-23.
  49. Haukioja A, Loimaranta V, Tenovuo J. Probiotic bacteria affect the composition of salivary pellicle and streptococcal adhesion in vitro. *Oral Microbiol Immunol*. 2008 Aug;23(4):336-43.
  50. Wei H, Loimaranta V, Tenovuo J, Rokka S, Syvaioja EL, Korhonen H, et al. Stability and activity of specific antibodies against *Streptococcus* do grupo mutans and *Streptococcus* do grupo sobrinus in bovine milk fermented with *Lactobacillus rhamnosus* strain GG or treated at ultra-high temperature. *Oral Microbiol Immunol*. 2002 Feb;17(1):9-15.
  51. Ishibashi N, Yamazaki S. Probiotics and safety. *Am J Clin Nutr*. 2001 Feb;73(2 Suppl):465S-70S.
  52. Stamatova I, Meurman JH, Kari K, Tervahartiala T, Sorsa T, Baltadjieva M. Safety issues of *Lactobacillus bulgaricus* with respect to human gelatinases in vitro. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2007 Oct;51(1):194-200.
  53. Tanzer JM, Thompson A, Lang C, Cooper B, Hareng L, Gamer A, et al. Caries inhibition by and safety of *Lactobacillus paracasei* DSMZ16671. *J Dent Res*. 2010 Sep;89(9):921-6.
  54. Boyle RJ, Robins-Browne RM, Tang ML. Probiotic use in clinical practice: what are the risks? *Am J Clin Nutr*. 2006 Jun;83(6):1256-64; quiz 446-7.
  55. Cannon JP, Lee TA, Bolanos JT, Danziger LH. Pathogenic relevance of *Lactobacillus*: a retrospective review of over 200 cases. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2005 Jan;24(1):31-40.
-

---

## **3 CAPITULO III**

Artigo Original

---

### 3.1 ARTIGO ORIGINAL

**Título: EFEITO DE IOGURTE CONTENDO PROBIÓTICOS  
*BIFIDOBACTERIUM ANIMALIS* SUBSP. *LACTIS* DN- 1173010 NA  
COMPOSIÇÃO DOS BIOFILMES E SALIVA DE ADOLESCENTES EM  
TRATAMENTO ORTODÔNTICO: UM ENSAIO CLÍNICO CRUZADO,  
DUPLO-CEGO, RANDOMIZADO E PLACEBO CONTROLADO.**

Submissão: Este manuscrito será submetido ao American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics.

Currículo Lattes: todos os autores possuem currículo Lattes atualizado.

Contribuição específica dos autores: todos os autores participaram da revisão da literatura, leitura e análise dos artigos, redação e aprovação final do manuscrito.

Conflito de interesse: os autores não possuem conflito de interesse.

Instituição: Faculdade e Medicina da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul/Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas.

Autor responsável para correspondência e contato:

Gabriela dos Santos Pinto

Fone: (53) 9159-1010

Email: [gabipinto@hotmail.com](mailto:gabipinto@hotmail.com)

Contagem total de palavras do texto (excluindo resumo, abstract, referências bibliográficas e quadros): 2277

Contagem total de palavras do resumo: 243

Número de quadros: 0

Número de figuras: 4

---

---

**RESUMO**

**Objetivo:** avaliar *in vivo* se o consumo de iogurte contendo o probiótico *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* DN- 1173010 (ACTIVIA, Danone) por um período de 2 semanas afeta os níveis salivares ou nos biofilmes de estreptococos do grupo mutans e lactobacilos de pacientes em tratamento ortodôntico.

**Métodos:** Um ensaio clínico cruzado, randomizado, duplo-cego, placebo controlado foi realizado com vinte e seis voluntários durante 4 períodos. Durante o período 2 e 4 (2 semanas cada) os voluntários ingeriram diariamente 200g de iogurte contendo probiótico ou o iogurte controle que não continha probiótico. Os períodos 1 e 3 foram períodos run-in e wash-out de 1 e 4 semanas, respectivamente. Amostras experimentais de saliva e biofilme foram coletadas de cada participante ao final de cada uma das fases. Estreptococos do grupo mutans e lactobacilos, microrganismos acidúricos totais, *Cândida* spp. e microrganismos totais cultiváveis foram contados. Os valores pré e pós tratamento foram comparados com o teste de wilcoxon ( $p < 0,05$ ).

**Resultados:** Não houve diferença entre iogurte contendo probiótico ou o iogurte controle para todas as variáveis estudadas ( $p > 0,05$ ). Foi observada redução nas contagens de microrganismos acidúricos totais e microrganismos totais cultiváveis nos biofilmes após os períodos de uso dos iogurtes (controle e contendo probiótico;  $p < 0,05$ ), mas essa redução não foi observada na saliva ( $p > 0,05$ ).

**Conclusão:** Na nossa amostra uso de iogurte contendo *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* por período de 2 semanas não reduziu a contagem de microrganismos na saliva ou no biofilme de usuários de aparelho ortodôntico fixo.

---



## INTRODUÇÃO

Probióticos são definidos pela Organização Mundial de Saúde como organismos vivos que quando administrados em quantidades adequadas conferem benefícios à saúde do hospedeiro.<sup>1</sup> O principal campo de pesquisa de probiótico é o trato gastrointestinal. Entretanto, nos últimos anos tem havido um crescente interesse da pesquisa odontológica pelos benefícios dos probióticos na cavidade oral.<sup>2-12</sup> Como a boca representa a primeira parte do trato gastrointestinal, existem muitas razões para acreditarmos que algumas cepas de probióticos podem desempenhar um papel importante na microbiota oral.<sup>13</sup>

A cárie é uma das doenças microbianas mais comuns dos países industrializados e tem enorme impacto social. O papel das bactérias na etiologia da doença cárie está bem definido, e embora bactérias sejam essenciais para o início da doença, a estreita interação entre microbiota hospedeira e meio ambiente, incluindo hábitos alimentares e de higiene é definitiva para determinar a severidade e progressão das lesões de cárie.<sup>14-17</sup> A avaliação do risco de cárie constitui uma complexa discussão, inúmeras pesquisas tem sido realizadas a fim de definir os fatores capazes de prever o desenvolvimento de lesões de cárie e muitas variáveis tem sido investigadas. Os indicadores de risco podem incluir fatores sócio-econômicos, fatores psicossociais assim como hábitos de saúde oral, variáveis clínicas, conteúdo de cálcio da saliva além de parâmetros microbiológicos como as contagens de *Streptococos* do grupo mutans e

---

lactobacilos.<sup>18</sup> Neste contexto encontram-se os aparelhos ortodônticos fixos, considerados facilitadores do acúmulo de microrganismos na cavidade oral.<sup>19</sup> O risco de desenvolver lesões de cárie ao redor de brackets localizados na face vestibular dos dentes durante o tratamento ortodôntico é alto, assim como pela presença de banda, fios e outros auxiliares do tratamento que dificultam a utilização de métodos de higiene convencionais, tornando prolongado o acúmulo de biofilme na base de brackets e outros dispositivos ortodônticos. Na presença de carboidratos fermentáveis, a desmineralização do esmalte ao redor dos brackets é um processo extremamente rápido e a prevalência de novas lesões de esmalte em pacientes em tratamento ortodôntico é bastante alta.<sup>20</sup>

Ainda é controverso na literatura odontológica a capacidade dos probióticos promoverem uma diminuição na contagem de *Streptococos* do grupo mutans. A redução dos níveis salivares de *Streptococos* do grupo mutans tem sido demonstrada em associação ao consumo de diversas cepas de probióticos<sup>17,24</sup> porém alguns estudos não demonstraram os mesmos resultados ao utilizar probióticos para reduzir a microbiota cariogênica.<sup>21,22</sup> Os pacientes que fazem uso de aparelho ortodôntico podem ter o risco de desenvolver lesões de cárie aumentado e o possível efeito dos probióticos na microflora salivar destes pacientes tem sido pouco estudado.

O objetivo do presente estudo foi avaliar *in vivo* se o consumo de iogurte contendo o probiótico *Bifidobacterium animalis* subesp. *Lactis* DN 173010 (ACTIVIA, Danone) por um período de 2 semanas afeta os níveis de *Streptococos* do grupo mutans e as contagens de microrganismos

---

acidúricos totais, lactobacilos, cândida oral. A nossa hipótese é que a ingestão de iogurte contendo probiótico irá reduzir a contagem de Estreptococos do grupo mutans da saliva e do biofilme de pacientes em tratamento ortodôntico.

---

---

## MATERIAIS E MÉTODOS

### SUJEITOS

O tamanho da amostra foi baseado no estudo prévio de Cildir et al.<sup>19</sup> Foi realizado um cálculo de tamanho de amostra considerando dois grupos paralelos independentes quanto à redução de *Estreptococos* do grupo *mutans* e de *lactobacilos* nos grupos intervenção (probiótico) e controle. Foi considerado erro tipo I de 5% e poder de 80% para realização do cálculo. Para fim de cálculo da redução de *Estreptococos do grupo mutans* e de *lactobacilos*, foram consideradas proporções de indivíduos com contagem maior do que  $10^{23}$  no basal e após o período experimental. Sendo o estudo desenhado com o objetivo de verificar redução de *mutans*, um N apropriado usando o iogurte do artigo de Cildir et al<sup>19</sup> seria de 30 indivíduos, 15 por grupo (25 + 10% para eventuais perdas de segmento).

A população do estudo foram pacientes em tratamento ortodôntico atendidos no Posto Médico da Guarnição de Pelotas (RS) convidados a participar da pesquisa através da fixação de folhetos e chamadas periódicas até a obtenção do número amostral, perfazendo um total de 30 pacientes, posteriormente foram alocados aleatoriamente em dois grupos (controle e intervenção). Todos os sujeitos tinham excelente saúde oral, ou seja, não apresentavam lesões de cárie ativa, doença periodontal moderada ou severa. Foram incluídos na pesquisa pacientes em tratamento ortodôntico bimaxilar e que não referiam doenças crônicas. Foram excluídos da

---

---

pesquisa pacientes em tratamento com antibióticos e/ou antimicrobiano nas últimas 3 semanas, pacientes que fizeram uso de flúor ou clorexidina tópicos nos últimos 3 meses, pacientes com lesões cáries cavitadas ou ativas, pacientes intolerantes à lactose.

## DESCRIÇÃO DO ESTUDO

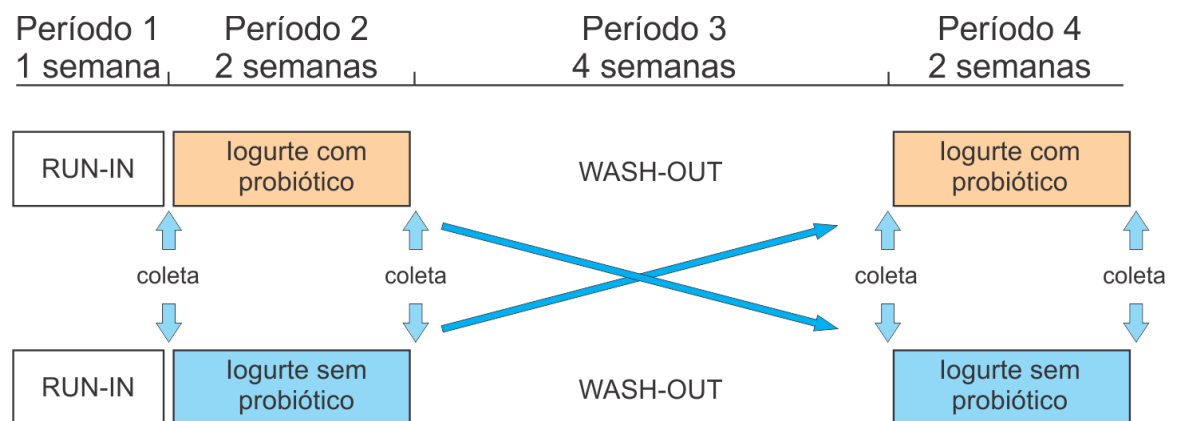
Um estudo cruzado, randomizado, duplo-cego, placebo controlado foi realizado inicialmente com trinta voluntários durante 4 períodos. Os períodos 1 e 3 foram períodos *run-in* e *wash-out*, respectivamente. Durante os períodos 2 e 4 de duas semanas cada, os voluntários foram subdivididos aleatoriamente em 2 grupos de 15.

O processo de randomização foi realizado através da geração de números aleatórios em programa de computador (Excel 2007 for Windows), os quais foram utilizados para criar a sequência de tratamento dos participantes. Após a criação da sequência de tratamentos, o tratamento destinado a cada paciente foi armazenado em um envelope pardo numerado (1 a 30). Esses procedimentos foram realizados por um pesquisador não envolvido com as fases clínica e analítica do estudo.

Antes do período *run-in* os sujeitos receberam as seguintes orientações: não consumir nenhum tipo de iogurte durante o período do estudo, não utilizar bochechos, fio dental com flúor, clorexidina, manter seus hábitos de higiene e alimentares, utilizar apenas o dentífrico e a escova dados pelos pesquisadores.

---

No período 2, os voluntários foram instruídos a consumir 200g de iogurte por dia, sendo que 15 indivíduos consumiram do iogurte com probiótico e 15 do iogurte controle. O período wash-out teve a duração de 4 semanas. No período 4, os subgrupos de voluntários alternaram o uso dos iogurtes, de acordo com o delineamento cruzado do estudo (Fig.1). A cada coleta das amostras de biofilme e saliva foi reforçada a complacência dos voluntários e verificados os possíveis efeitos adversos e fatores confundidores.



**Figura 1** – Esquema do estudo cruzado com períodos run-in e wash-out.

#### AMOSTRA DE SALIVA E BIOFILME E AVALIAÇÃO MICROBIOLÓGICA

Imediatamente antes e após os períodos 2 e 4, foi realizada amostragem da saliva estimulada integral dos voluntários. Após bochecho

---

por 30 s com água, os voluntários mascaram filme de parafina por 5 min (Parafilm "M"®, American National Can™, Chicago, IL, EUA) para obtenção de saliva estimulada em frascos graduados. A velocidade do fluxo salivar foi determinada em mL/min. As amostras de saliva foram transportadas imediatamente em gelo ao Laboratório de Microbiologia (FO-UFPel). Então, a saliva foi homogeneizada em vortex, e diluída serialmente para contagem de microrganismos totais, estreptococos do grupo mutans, lactobacilos, cândida, e microrganismos acidúricos totais. As suspensões foram diluídas em RTF em séries até 1:10<sup>24</sup> e imediatamente inoculadas em duplicata nos seguintes meios de cultura: Ágar sangue para microrganismos totais; Ágar mitis salivarius com 0,2 unidades de bacitracina/mL (MSB), para quantificação de estreptococos do grupo mutans (GOLD; JORDAN; VAN HOUTE, 1973); Ágar Rogosa SL para lactobacilos; CHROMagar Cândida para quantificação e diferenciação presuntiva de espécimes de cândida; e BHI com pH ajustado a 4,7 para quantificação de microrganismos totais acidúricos. As placas foram incubadas em condição de anaerobiose (80% N<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub> e 10% H<sub>2</sub>), a 37°C por 96h. As unidades formadoras de colônia foram contadas e os resultados expressos em UFC/mL de saliva e em porcentagem de estreptococos do grupo mutans, de lactobacilos, cândida e microrganismos acidúricos totais em relação aos microrganismos totais cultiváveis. Após remoção da alíquota da suspensão microbiana inicial (original) para quantificação, a suspensão foi centrifugada. O sobrenadante desprezado e o precipitado armazenado a -80°C para análises futuras.

---

## ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram inseridos no software SigmaStat (Versão 3.01, Systat Software Inc.) e explorados para verificar a aderência ao modelo de distribuição normal e homogeneidade de variância. Para todos os testes foi considerado o valor  $p < 0,05$  como estatisticamente significativo.

Foi aplicado o teste não-paramétrico de Wilcoxon (comparação intragrupo) para determinar a existência de diferenças estatisticamente significantes nos dois períodos de avaliação (basal e 14 dias após a intervenção) e verificar a diferença entre os dois tipos de tratamento (grupo controle e grupo probiótico)

## ASPECTOS ÉTICOS

A pesquisa foi encaminhada e aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Pelotas-RS. Os voluntários e/ou seus pais ou responsáveis legais receberam uma carta de informações do estudo e aqueles que tiveram sua participação autorizada assinaram o termo de consentimento esclarecido.

---



## **RESULTADOS**

Trinta pacientes foram incluídos no estudo e quatro foram excluídos da análise por não comparecimento nas coletas. Dados completos foram obtidos em vinte e seis pacientes, dezesseis eram do sexo feminino (53,33%). A mediana da idade dos pacientes foi de 15 (amplitude 10 a 30 anos).

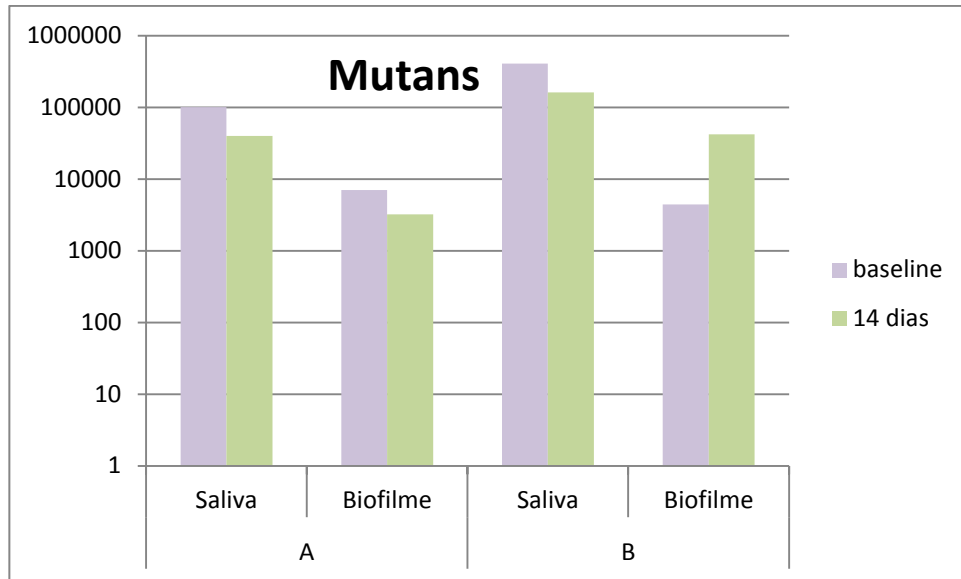
### **DESCONFORTO E SATISFAÇÃO**

Desconforto gástrico foi relatado por um indivíduo durante o uso de iogurte sem probiótico. Dois indivíduos relataram que o sabor do iogurte sem probiótico era melhor que o iogurte com probiótico. Estas observações não atingiram significância estatística.

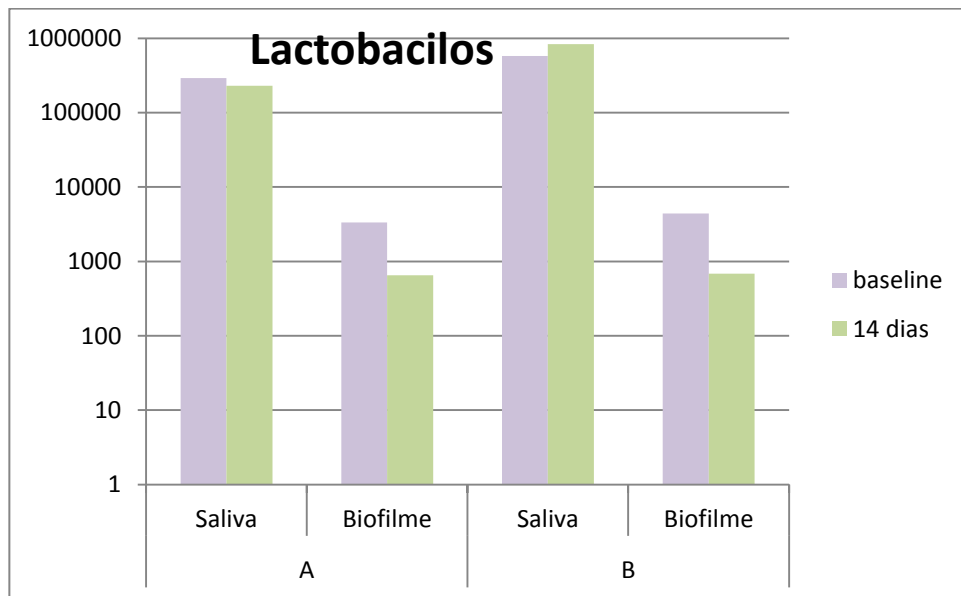
### **ESTREPTOCOCOS DO GRUPO MUTANS E LACTOBACILOS**

Os valores pré e pós-tratamento de Estreptococos do grupo mutans e lactobacilos estão demonstrados nas figuras 2 e 3, respectivamente.

---



**Figura 2** - contagem de Estreptococos do grupo mutans da saliva e do biofilme.



**Figura 3** - contagem de lactobacilos da saliva e do biofilme.

**A** = iogurte contendo probiótico    **B** = iogurte controle

Observamos uma redução na contagem de Estreptococos do grupo mutans na saliva em ambos os tratamentos. Não houve diferença significativa na redução da contagem de Estreptococos do grupo mutans com o uso de probióticos ( $p = 0.459$ ), tanto na saliva como no biofilme.

---

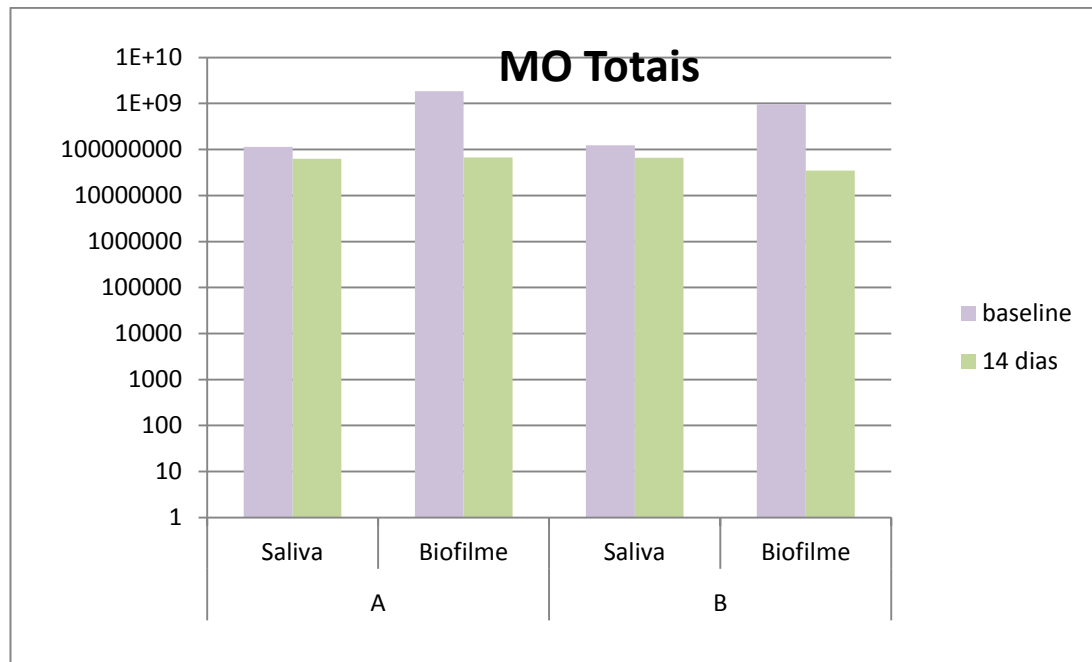
A contagem de lactobacilos também não foi reduzida pelo uso de probióticos ( $p = 0.927$ ).

#### MICROORGANISMOS TOTAIS

A figura 4 apresenta a contagem de microrganismos totais. Houve diminuição significativa na contagem de microrganismos totais após o consumo do probiótico ( $p = 0.008$ ), assim como após o consumo do iogurte sem probiótico ( $p = 0.002$ ). Entretanto, a redução nos microrganismos totais com uso de probióticos não foi significativamente diferente da observada com uso de iogurte sem probióticos, tanto na saliva quanto no biofilme ( $p = 1,00$  e  $p = 0,280$  respectivamente).

Na contagem de microrganismos acidúricos totais do biofilme houve uma diferença estatística significativa após o uso de probióticos ( $p = <0.001$ ) havendo também uma redução significativa na contagem destes microrganismos no grupo placebo ( $p = 0.010$ ). A diferença entre os tratamentos também não foi significativa (dados não apresentados)

---



**Figura 4** - contagem de microrganismos totais da saliva e do biofilme.

**A** = iogurte contendo probiótico    **B** = iogurte controle

## CÂNDIDAS ALBICANS E NÃO ALBICANS

Nenhuma diferença foi detectada nas contagens de *Cândida Albicans* e Não *Albicans* do biofilme entre o período inicial e após o uso dos probióticos ( $p = 0.195$  e  $p = 0.077$  respectivamente).

## DISCUSSÃO

Os resultados deste estudo sugerem que o consumo de iogurte contendo probiótico *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* DN- 1173010 não reduz a contagem salivar e de biofilme de Estreptococos do grupo mutans, bem como de lactobacilos, microrganismos acidúricos totais e *Candida albicans* e não *albicans*. Entretanto, observamos uma redução significativa na contagem de microrganismos totais em ambos os grupos (tratamento e controle) durante o acompanhamento. Esta redução provavelmente ocorreu porque os voluntários estavam envolvidos em um ensaio clínico que tinha por objetivo avaliar a redução de Estreptococos do grupo mutans, principal microrganismo envolvido na doença cárie.<sup>16,20</sup> Esta interpretação é apoiada pela observação de que a redução de MO foi mais acentuada no biofilme e não na saliva.

Em concordância com o nosso estudo, pesquisas recentes utilizaram cepas de bifidobactérias objetivando reduzir as contagens de Estreptococos do grupo mutans e outros microrganismos envolvidos na doença cárie na saliva e no biofilme.<sup>19,23,25</sup> Çaglar et al<sup>23</sup> realizaram um estudo utilizando bifidobactérias com o objetivo de avaliar se o uso de sorvete contendo probiótico reduz a contagem de Estreptococos do grupo mutans e lactobacilos da saliva de 24 adultos jovens. Os autores observaram uma redução significativa tanto no grupo que ingeriu probiótico como no grupo controle e ao comparar os valores basais e imediatamente após a intervenção não observaram diferença significante. Em contraponto, o

---

---

estudo de Cildir et al,<sup>19</sup> com um delineamento bastante parecido com este estudo realizado por nós, obteve diferentes resultados. Ao analisar se o consumo de iogurte de frutas contendo bifidobactérias afetaria as contagens salivares de *Streptococos* do grupo mutans e lactobacilos de pacientes em tratamento ortodôntico, observaram uma redução significativa na contagem de *Streptococos* do grupo mutans após o consumo do iogurte com probiótico, porém a mesma redução não foi observada na contagem de lactobacilos.

A semelhança entre os resultados dos dois grupos do nosso estudo encontram explicação na forma de administração do probiótico. Os veículos pelos quais os probióticos são administrados podem influenciar no potencial cariogênico e na colonização da cavidade oral.<sup>26</sup> A forma mais comum advém do leite e seus derivados como iogurtes, queijos, sorvetes e leite fermentado. Quando as bactérias probióticas são consumidas nos produtos lácteos, há uma diminuição da produção de ácidos pela capacidade tampão destes alimentos. A presença de cálcio, lactato de cálcio e outros componentes orgânicos e inorgânicos do leite são considerados anticariogênicos e podem reduzir a colonização por patógenos independentemente da presença de probióticos.<sup>1,18,27,28</sup>

Os achados devem, por inúmeras razões, serem interpretados com cautela. Primeiro, o número da amostra foi limitado e o tempo de intervenção foi curto. Segundo, ainda não existe um número suficiente de pesquisas de longo tempo de duração capaz de avaliar o real efeito dos probióticos na microbiota oral. Por fim, mais pesquisas com diferentes cepas

---

de probióticos são necessárias, e talvez combinações de cepas de probióticos possa ser mais efetivo. A influência dos probióticos na prevenção da doença cárie e na manutenção da saúde oral ainda tem de ser melhor estabelecida.

---

**CONCLUSÕES**

Dentro das limitações desse estudo, os resultados sugerem que o uso de iogurte contendo *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* por período de 2 semanas não reduziu a contagem de *Streptococos* do grupo mutans e lactobacilos na saliva ou no biofilme de usuários de aparelho ortodôntico fixo.

---



**REFERÊNCIAS**

1. Teughels W, Van Essche M, Sliepen I, Quirynen M. Probiotics and oral healthcare. *Periodontol 2000*. 2008;48:111-47.
  2. Caglar E, Topcuoglu N, Cildir SK, Sandalli N, Kulekci G. Oral colonization by *Lactobacilos reuteri* ATCC 55730 after exposure to probiotics. *Int J Paediatr Dent*. 2009 Sep;19(5):377-81.
  3. 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.
  4. Lexner MO, Blomqvist S, Dahlen 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.
  5. 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*. 2011 May 12.
  6. 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 *Lactobacilos acidophilus* La5. *Acta Odontol Scand*. 2011 Apr 5
  7. Sinkiewicz G, Cronholm S, Ljunggren L, Dahlen G, Bratthall G. Influence of dietary supplementation with *Lactobacilos reuteri* on the oral flora of healthy subjects. *Swed Dent J*. 2010;34(4):197-206.
  8. Souza CVA, Hirata RJ, Maia KD, Uzeda M, Weyne SC, Efeitos do consumo diário de probiótico sobre a microbiota cariogênica. *Rev. bras. odontol.*, 2011 jan./jun;68(1):128-131.
  9. Stecksén-Blicks C, Sjöström I, Twetman S. Effect of long-term consumption of milk supplemented with probiotic lactobacilli and fluoride on dental caries and general health in preschool children: a cluster-randomized study. *Caries Res*. 2009;43(5):374-81.
  10. Yli-Knuuttila H, Snäll J, Kari K, Meurman JH. Colonization of *Lactobacilos rhamnosus* GG in the oral cavity. *Oral Microbiol Immunol*. 2006 Apr;21(2):129-31.
-

11. Twetman S, Stecksén-Blicks C. Probiotics and oral health effects in children. *Int J Paediatr Dent*. 2008 Jan;18(1):3-10.
  12. Yli-Knuutila H, Snäll J, Kari K, Meurman JH. Colonization of *Lactobacillus rhamnosus* GG in the oral cavity. *Oral Microbiol Immunol*. 2006 Apr;21(2):129-31.
  13. Parvez S, Malik KA, Ah Kang S, Kim HY. Probiotics and their fermented food products are beneficial for health. *J Appl Microbiol*. 2006 Jun;100(6):1171-85.
  14. Becker MR, Paster BJ, Leys EJ, Moeschberger ML, Kenyon SG, Galvin JL, et al. Molecular analysis of bacterial species associated with childhood caries. *J Clin Microbiol*. 2002 Mar;40(3):1001-9.
  15. Beighton D. Can the ecology of the dental biofilm be beneficially altered? *Adv Dent Res*. 2009;21(1):69-73.
  16. Fejerskov O. Changing paradigms in concepts on dental caries: consequences for oral health care. *Caries Res*. 2004 May-Jun;38(3):182-91.
  17. Stamatova I, Kari K, Vladimirov S, Meurman JH. In vitro evaluation of yoghurt starter lactobacilli and *Lactobacillus rhamnosus* GG adhesion to saliva-coated surfaces. *Oral Microbiol Immunol*. 2009 Jun;24(3):218-23.
  18. Nase L, Hatakka K, Savilahti E, Saxelin M, Ponka A, Poussa T, et al. 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.
  19. Cildir SK, Germec D, Sandalli N, Ozdemir FI, Arun T, Twetman S, et al. 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.
  20. Derks A, Katsaros C, Frencken JE, van't Hof MA, Kuijpers-Jagtman AM. Caries-inhibiting effect of preventive measures during orthodontic treatment with fixed appliances. A systematic review. *Caries Res*. 2004 Sep-Oct;38(5):413-20.
  21. Martinem A, Haukioja A, Karjalainen S, Nylund L, Satokari L, Öhman C, Holgerson P, Twetman S, Söderling E. Short-term consumption of probiotic lactobacilli has no effect on acid production on supragingival plaque. *Clin Oral Invest*. 2011 Jul 6. [Epub ahead of print]
  22. Montalto M, Vastola M, Marigo L, Covino M, Graziosetto R, Curigliano V, et al. Probiotic treatment increases salivary counts of lactobacilli: a double-blind, randomized, controlled study. *Digestion*. 2004;69(1):53-6
-

- 
23. Caglar 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 Jun;6(3):154-8.
  24. Çaglar E, Kavaloglu S C, Kuscu O O, Sandalli N, Holgerson P L, Twetman S. Effect of chewing gums containing xylitol or probiotic bacteria on salivary mutans streptococci and lactobacilli. *Clin Oral Invest.* 2007 (11):425-9.
  25. Jindal G, Pandey RK, Agarwal J, Singh M. A comparative evaluation of probiotics on salivary mutans streptococci counts in Indian children. *Eur Arch Paediatr Dent.* 2011 Aug;12(4):211-5.
  26. Comelli EM, Guggenheim B, Stinglele F, Neeser JR. Selection of dairy bacterial strains as probiotics for oral health. *Eur J Oral Sci.* 2002 Jun;110(3):218-24.
  27. Ahola AJ, Yli-Knuutila H, Suomalainen T, Poussa T, Ahlstrom 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.
  28. 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.
-

---

## 4 CAPÍTULO IV

---

#### 4.1 CONCLUSÕES

A presente pesquisa possibilitou as seguintes conclusões:

- Atualmente a abordagem ecológica do biofilme traça novas estratégias de prevenção da doença cárie, tais como a inibição do crescimento de bactérias cariogênicas e o controle de microrganismos através da bacterioterapia com o uso de probióticos.
  - Neste estudo concluímos que o uso de iogurte contendo *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* por período de 2 semanas não afeta a contagem de microrganismos envolvidos na doença cárie na salivares e no biofilme de usuários de aparelho ortodôntico fixo.
  - A semelhança entre os resultados dos grupos controle e intervenção encontram explicação na forma de administração do probiótico. Os veículos pelos quais os probióticos são administrados podem influenciar no potencial cariogênico e na colonização da cavidade oral.
  - Novas pesquisas devem ser realizadas a fim de permitir a identificação dos probióticos que melhor se adaptem à utilização na prevenção e manutenção da saúde oral.
-

---

## **ANEXOS**

---

---

**ANEXO 1 - QUESTIONÁRIO**Antes do uso dos iogurtes

1. Nome Completo:
2. No caso de menores de 18 anos, nome da mãe ou responsável legal:
3. Data de nascimento:
4. Endereço:
5. Telefone:
6. Quando escova os dentes?
7. Qual a frequência do uso de fio dental?
8. Fez uso de algum medicamento nas últimas 3 semanas? Qual?
9. Faz uso frequente do iogurte ACTIVIA, Danone?
10. Parou de tomar o iogurte ACTIVIA, Danone nos últimos 15 dias?

Após o uso dos iogurtes

11. Ingeriu o iogurte do estudo todos os dias?
  12. Observou algum desconforto ao consumir os iogurtes?
  13. Usou somente a pasta do estudo?
  14. Fez uso de algum medicamento durante as semanas do estudo?  
Qual?
  15. Em uma escala de 1 a 10, onde 10 é ótimo e 1 é ruim, qual nota daria aos iogurtes?
-

## **ANEXO 2 - INSTRUÇÕES AOS VOLUNTÁRIOS**

Antes do início da pesquisa, cada voluntário receberá um dentifrício fluoretado e uma escova dental e antes do início de cada fase os voluntários receberão os frascos de iogurte.

### **INSTRUÇÕES GERAIS**

- utilizar apenas o dentifrício e a escova dados pelos pesquisadores
- não utilizar bochechos, fio dental com flúor, clorexidina.
- ingerir diariamente 200g (1 frasco) do iogurte ao entardecer
- não escovar os dentes antes de completar uma hora da ingestão do iogurte
- não fazer uso de nenhum tipo de iogurte durante o período da pesquisa
- remover o iogurte da geladeira somente no momento do consumo

### **INSTRUÇÕES PARA O TÉRMINO DE CADA FASE** (a cada 14 dias)

Ao acordar no dia da coleta:

- não escove os dentes 12h antes
- não tome água
- não se alimente de forma alguma

Será fornecido um lanche para os voluntários após o término das coletas.

---