



CESPU

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO
DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

A terapia probiótica como estratégia de prevenção da cárie dentária em crianças

Joséphine Claudette Emilia Vistot-Pecqueur

**Dissertação conducente ao Grau de Mestre em
Medicina Dentária (Ciclo Integrado)**

Gandra, 31 de maio de 2020



CESPU

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO
DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Joséphine Claudette Emilia Vistot-Pecqueur

**Dissertação conducente ao Grau de Mestre em
Medicina Dentária (Ciclo Integrado)**

**A terapia probiótica como estratégia de prevenção
da cárie dentária em crianças**

Trabalho realizado sob a Orientação de Prof. Doutor Rui Pinto e Co-orientadora Mestre Marta Jorge

Declaração de Integridade

Eu, acima identificada, declaro ter atuado com absoluta integridade na elaboração deste trabalho, confirmo que em todo o trabalho conducente à sua elaboração não recorri a qualquer forma de falsificação de resultados ou à prática de plágio (ato pelo qual um indivíduo, mesmo por omissão, assume a autoria do trabalho intelectual pertencente a outrem, na sua totalidade ou em partes dele). Mais declaro que todas as frases que retirei de trabalhos anteriores pertencentes a outros autores foram referenciadas ou redigidas com novas palavras, tendo neste caso colocado a citação da fonte bibliográfica.

Declaração do Orientador

Eu, “**Rui Manuel Simões Pinto**”, com a categoria profissional de Professor Doutor do Instituto Universitário de Ciências da Saúde, tendo assumido o papel de Orientador da Dissertação intitulada “*A terapia probiótica como estratégia de prevenção da cárie dentária em crianças*”, da Aluna do Mestrado Integrado em Medicina Dentária, “**Joséphine Claudette Emilia Vistot-Pecqueur**”, declaro que sou de parecer favorável para que a Dissertação possa ser depositada para análise do Arguente do Júri nomeado para o efeito para Admissão a provas públicas conducentes à obtenção do Grau de Mestre.

Gandra, 3 de junho de 2020

O Orientador

Agradecimentos

À minha mãe, meu sol, obrigada por todo o teu apoio e tua presença incansável ao longo desses cinco anos. Obrigada por todas as suas atenções e todos esses momentos passados juntos, não esquecerei. Dedico este trabalho a ti, eu amo-te.

Ao meu pai, obrigada pelo teus encorajamentos ao longo do percurso, e por me levaste a realizar o meu sonho. Eu amo-te.

À minha irmã, obrigada por me apoiar e por poder contar contigo, eu podia ligar-te a qualquer hora do dia ou da noite !

À Mamie Claudette e Papi Albert, obrigada por estarem aqui. Obrigada por me acompanhar nesta aventura e por me visitar no Porto e por me hospedar regularmente em Quarteira. Esses momentos passados com a família permanecerão gravados em minha memória.

À Mamie Emilia, obrigada por me apoiar e por acreditar em mim.

Ao meu colega de quarto, meu irmão de coração, Rémi. Tivemos uma experiência única juntos e não posso expresser a minha gratidão, não poderia ter feito isto sem ti. Tu tiveste sempre um lugar especial no meu coração.

Aos meus amigos Charlotte, Florian, Julien e Alexis, com quem eu podia contar do começo ao fim, apesar da distância. Você foram meu oxigênio.

Para todos aqueles que conheci nesta aventura : Cassandre, Athénaïs, Marie, Irina, Margaux, Maeva, Katia, Charlotte, Barbara, Oriana, Claudia, Damien, Gueric, Vincent, Andrea, ... a lista ainda seria longa. Essas amigas não têm preço. Eu mantenho todos vocês no meu coração.

À Isabel, por sua ajuda na correção deste trabalho.

Ao meu orientador, o Professor Doutor Rui Pinto, e à minha co-orientadora Mestre Marta Jorge, e os meus professores.

À CESPU, por me dar a oportunidade de tornar o meu sonho realidade.

Resumo

Introdução: A cárie dentária é uma doença oral comum na dentição precoce de bebés e de crianças em idade pré-escolar. O uso de probióticos pode intervir na flora microbiana oral a fim de tratar e prevenir doenças orais como a cárie dentária.

Objetivos: Os objetivos desta revisão sistemática integrativa são avaliar o efeito do consumo de probióticos na redução do risco cárie em crianças; avaliar a colonização dos estirpes probióticos mesmo após a interrupção da ingestão de probióticos; concluir se existe potenciais efeitos benéficos sobre a saúde oral e geral.

Material e Métodos: Uma pesquisa eletrónica na base de dados científicos PubMed com combinações de diferentes termos científicos foi realizada. A pesquisa identificou 115 estudos, dos quais 20 foram considerados relevantes para este estudo. Esses estudos forneceram dados importantes como o veículo dos probióticos, a duração de ingestão, a estirpe bacteriana, o nível de *Streptococcus mutans* e de *Lactobacillus*, o risco cárie dentária, e outros dados relativos ao estado de saúde oral e geral.

Resultados: Vários estudos avaliaram os efeitos dos probióticos sobre a sua capacidade para reduzir o número salivar de *Streptococcus mutans*, o principal responsável da iniciação da cárie, e factores avaliando a cárie. O número de *Lactobacillus* mostra a colonização de alguns probióticos durante e após a finalização.

Conclusões: A terapia probiótica mostra efeitos positivos na prevenção da cárie e parece melhorar a saúde oral das crianças durante a ingestão deles e pouco tempo após. Embora, eles estejam alojados apenas temporariamente no ambiente oral e desaparecerem rapidamente após a interrupção do consumo.

Palavras-chave: Probiotics; *Streptococcus mutans*; Dental caries; Prevention; Children

Abstract

Introduction: Dental caries is a common oral disease in the early teething of babies and preschool children. The use of probiotics can intervene in oral microbial flora in order to treat and prevent oral diseases such as dental caries.

Objectives: The objectives of this systematic integrative review are to evaluate the effect of probiotic intake on reducing the risk of caries in children, assess colonisation of probiotic strains even after interruption of probiotic intake. But also conclude whether there are potential beneficial effects on oral and general health.

Material and Methods: An electronic search of the PubMed scientific database with combinations of different scientific terms has been performed. The research identified 115 studies, 20 of which were considered relevant to this study. These studies provided important data such as the probiotic vehicle, duration of ingestion, bacterial strain, *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* level, dental caries risk, and other data on oral and general health status.

Results: Several studies have evaluated the effects of probiotics on their ability to reduce the salivary number of *Streptococcus mutans*, the main cause of caries initiation and factors evaluating caries. Also on the number of *Lactobacillus* showing the colonisation of some probiotics.

Conclusions: Probiotic therapy shows positive effects on caries prevention and seems to improve children's oral health during their ingestion and shortly after. However, they are only temporarily housed in the oral environment and disappear quickly after cessation of consumption.

Keywords: Probiotics; *Streptococcus mutans*; Dental caries; Prevention; Children

Índice

1	INTRODUÇÃO	1
2	OBJETIVOS E HIPÓTESE	2
3	MATERIAL E MÉTODOS	3
4	RESULTADOS	4
5	DISCUSSÃO	12
5.1	Mecanismo dos probióticos contra os agentes patogénicos e sua colonização	12
5.1.1	Mecanismos dos probióticos	12
5.1.2	Veículo	14
5.1.3	Colonização dos probióticos na cavidade oral.....	14
5.2	Lactobacillus spp e a placa bacteriana	15
5.2.1	Lactobacillus spp	15
5.2.2	Placa dentária	15
5.3	Cárie dentária	16
5.4	Outros parâmetros orais e saúde geral.....	18
5.4.1	Imunoestimulação dos probióticos no corpo	18
5.4.2	pH e capacidade tampão	19
6	CONCLUSÕES	19
	REFERÊNCIAS.....	20
	ANEXOS.....	25

Índice das Figuras

Figura 1: Equilíbrio entre o factor patológico e o factor de protecção na cárie dentária	2
Figura 2: Diagrama de fluxo da estratégia de busca utilizada neste estudo	5
Figura 3: Mecanismo dos probióticos	13
Figura 4: ICDAS, International Caries Detection and Assessment System	17
Figura 5: Aspecto clínico e radiográfico das fases de gravidade ICDAS dos dentes	17

Índice das Tabelas

Tabela 1: Dados relevantes recolhidos a partir dos estudos escolhidos	6
---	---

Lista das Abreviaturas

Bifido. : Bifidobacterium

Cap. tampão : Capacidade tampão

Crossover : Randomized Crossover Trial

Dispo. : Disponível/Disponíveis

dmfs/DMFS : Decayed, Missing, Filled Surfaces

HNP : Human Neutrophil Peptide

ICDAS : International Caries Detection and Assessment System

Inter-gr : Inter-grupo

Intra-gr : Intra-grupo probiótico

L. : Lactobacillus

Lb : Lactobacillus

Placa bact. : Placa bacteriana

Probió. : Probiótico(s)/Probiótica(s)

Qdo : Quando

RCT : Randomized Controlled Trial

S. : Streptococcus

SM : Streptococcus mutans

+ : Positivo/Positiva

- : Negativo/Negativa

↑ : Aumentado/Aumentada de maneira significativa

↓ : Diminuído/Diminuída de maneira significativa

1 INTRODUÇÃO

A cárie dentária é uma doença oral comum e multifactorial que afecta todos os grupos etários em todo o mundo ⁽¹⁾. A cárie dentária infantil é um tipo de cárie particularmente devastador que pode danificar a dentição precoce de bebés e de crianças em idade pré-escolar ⁽²⁾.

Hoje, reconhece-se que a causa directa das cáries é a placa cariogénica.

A placa dentária é uma comunidade diversificada de microrganismos encontrados na superfície dentária sob a forma de um biofilme, incorporada numa matriz extracelular de polímeros de origem microbiana e salivar ⁽³⁾.

A placa forma-se naturalmente nos dentes. As bactérias comensais são essenciais para a nossa saúde oral. Pela sua simples presença na boca, protegem-nos contra a invasão de bactérias exógenas e muitas vezes patogénicas, porque colonizam todas as superfícies e deixam muito poucos locais de fixação disponíveis para novas bactérias ⁽⁴⁾.

O consumo frequente de hidratos de carbono fermentáveis pode criar um desequilíbrio neste ambiente. Favorece espécies acidogénicas e acidúricas como o *Streptococcus mutans* e o *Lactobacillus*, e reduz a diversidade da flora comensal e modifica a composição bacteriana do biofilme, levando a uma disbiose com a flora patogénica que se torna maioritária, resultando na desmineralização do esmalte (perda de mineral) ^(5,6). É a ruptura da homeostase entre a flora comensal e a flora bacteriana e a incapacidade tampão da saliva para regular o pH do meio oral que pode ser responsável pela formação de cárie dentária.

O aumento do factor de risco de cárie pode ser o resultado de vários factores, tais como (*Figura 1*):

- O estado de mineralização dos dentes;
- A quantidade e composição da saliva. ⁽⁶⁾

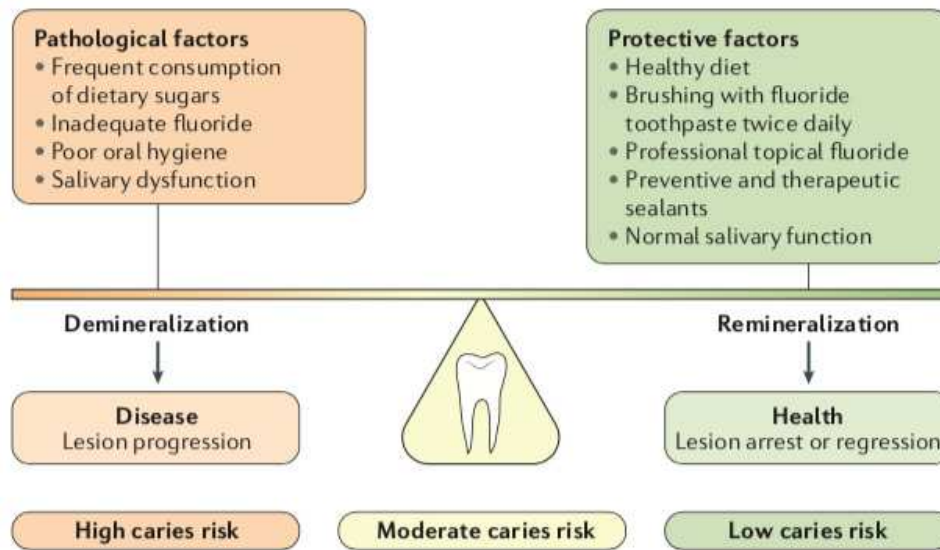


Figura 1: Equilíbrio entre o factor patológico e o factor de protecção na cárie dentária ⁽⁷⁾

É neste ecossistema complexo que entra em jogo o conceito de probióticos, que são "microrganismos vivos que, quando ingeridos em quantidades adequadas, exercem efeitos benéficos sobre a saúde do hospedeiro" ⁽⁸⁾.

A terapia probiótica (bacterioterapia) é quando está implantada uma estirpe de efeito inofensivo na microflora do hospedeiro para manter ou restaurar uma microbiota natural por interferência e/ou inibição de outros microrganismos, especialmente patogénicos ⁽⁵⁾. No entanto, nem todas as estirpes probióticas têm o mesmo efeito ⁽⁹⁾.

Foi demonstrado que as bactérias comensais têm um efeito benéfico sobre o bom funcionamento do intestino. Nos últimos anos, o tema tem sido abordado também para a flora microbiana oral, a fim de tratar e prevenir doenças orais como a cárie ou a gengivite gravídica.

A erupção dentária proporciona novas superfícies para a colonização microbiana e é um acontecimento ecológico importante na boca da criança. Aos 3 anos de idade, a flora oral das crianças já é complexa e se intensifica à medida que crescem ⁽¹⁰⁾.

Na idade adulta atingirá quase seis mil milhões de bactérias, representando mais de 700 espécies bacterianas ⁽¹¹⁾.

2 OBJETIVOS E HIPÓTESE

Os objetivos desta revisão sistemática integrativa são :

- Avaliar o efeito do consumo de bactérias probióticas na redução do risco cárie em crianças, examinando diferentes parâmetros, tais como os níveis de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus*, o desenvolvimento de cárie, o risco cárie, a ocorrência ICDAS ou dfms/DMFS.
- Avaliar a colonização das estirpes probióticas durante e após a interrupção da ingestão de probióticos.
- Concluir se existe potenciais efeitos benéficos sobre a saúde oral e geral.

A hipótese avançada é que o consumo de probióticos seria eficaz para reduzir o risco de cárie dentária em crianças.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Uma pesquisa bibliográfica foi realizada no PubMed (via National Library of Medicine) usando a seguinte combinação de termos de pesquisa:

((“Children“[Mesh] OR “Child“[Mesh]) AND “Dental Caries“[Mesh] AND “Probiotics“[Mesh] AND “Prevention“ [Mesh] AND “Streptococcus Mutans“[Mesh] OR “Bifidobacterium“[Mesh] OR “Lactobacillus reuteri“[Mesh] OR “Lactobacillus Rhamnosus“[Mesh]).

Os critérios de inclusão envolveram artigos publicados em idioma inglês desde junho de 2001 até abril de 2020, que sejam meta-análises, ensaios controlados randomizados em duplo ou triplo cego, ensaios clínicos randomizados crossover; sobre crianças (entre 0 e 18 anos) saudáveis, sem patologia, que ingeriram o probiótico no âmbito da prevenção da cárie ou na avaliação de parâmetros que o impacto; artigos relatando os efeitos de adicionar os probióticos na alimentação das crianças em prevenção da cárie dentária.

O total de artigos foi compilado para cada combinação de palavras-chave e, portanto, as duplicadas foram removidas usando o gerenciador de citações de Mendeley. Uma avaliação preliminar dos resumos foi realizada para determinar se os artigos atendiam ao objetivo do estudo. Os artigos selecionados foram lidos e avaliados individualmente quanto ao objetivo deste estudo. Os seguintes fatores foram recuperados para esta revisão: nomes dos autores e ano de publicação, tipo de estudo, objetivos, idade e número de

participantes das amostras, meio de veículo dos probióticos, duração de ingestão, estirpe bacteriana, e seus resultados.

4 RESULTADOS

A pesquisa bibliográfica identificou um total de 115 artigos no PubMed, conforme mostrado na *Figura 2*. Depois de ler os títulos e resumos dos artigos, 22 foram excluídos por não se encontrarem nos critérios de inclusão. Os restantes 40 estudos potencialmente relevantes foram então avaliados. Desses estudos, 20 foram excluídos por não fornecerem os dados considerando a finalidade do presente estudo. Assim, 20 estudos foram incluídos nesta revisão.

Os artigos não seleccionados para os resultados mas que foram relevantes para o estudo, bem como algumas referências bibliográficas dos artigos seleccionados foram utilizados para completar e apoiar a introdução e a conclusão.

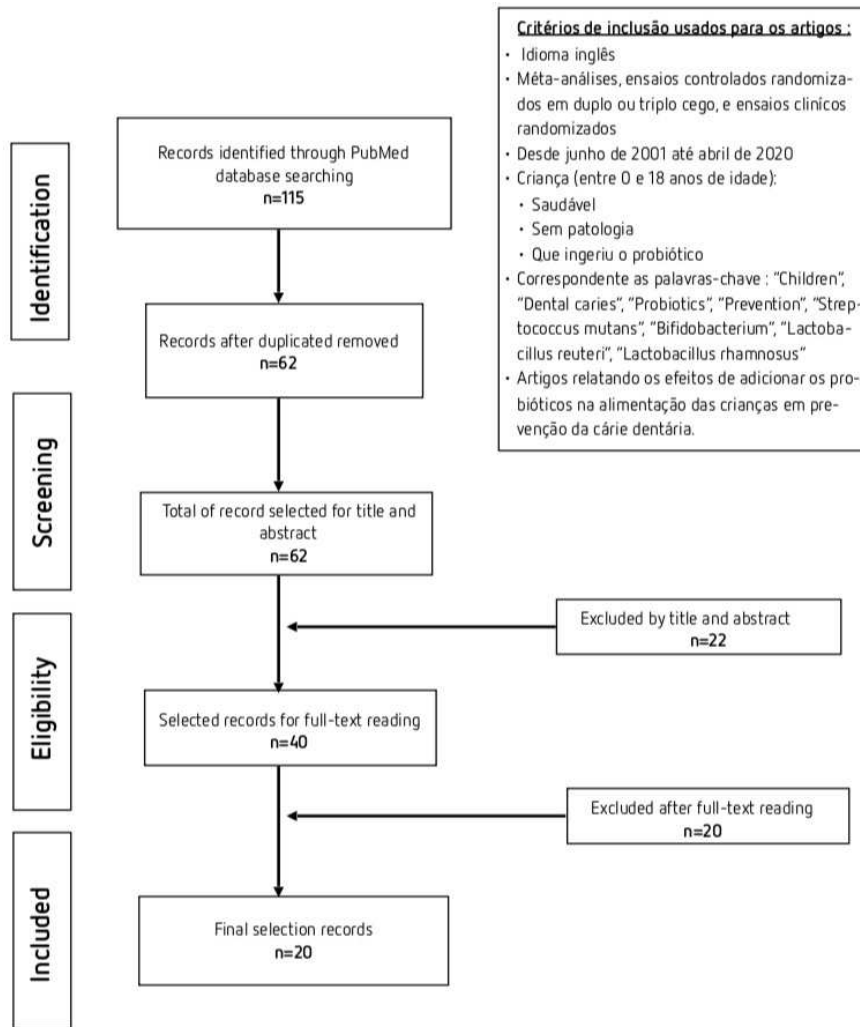


Figura 2: Diagrama de fluxo da estratégia de busca utilizada neste estudo

Dos 20 estudos selecionados, seis (30 %) avaliaram a contagem de *Streptococcus mutans* (12–15), cinco (25%) avaliaram as contagens de *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus* (16–19), cinco (25%) avaliaram as contagens de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* e factores de prevalência da cárie (20–23), um (5%) avaliou as contagens de *Streptococcus mutans* e factores de prevalência da cárie dentária (24), enquanto três (15%) avaliaram factores de prevalência da cárie dentária (25–27).

Os dados recuperados sobre a amostra de participantes, o veículo dos probióticos, a duração de ingestão, a estirpe bacteriana, o nível de *Streptococcus mutans* e de *Lactobacillus*, o risco de desenvolvimento ou crescimento da cárie dentária, e outros dados relativos ao estado de saúde oral ou geral são apresentados na *Tabela 1*.

Tabela 1: Dados relevantes recolhidos a partir dos estudos escolhidos

Autores e ano de publicação	Tipo de estudo	Objetivos	Amostra	Veículo probióticos	Duração de ingestão	Estirpe bacteriana	Resultados
Jindal et al. (2011) ⁽¹²⁾	RCT	Avaliar a contagem de SM e 2 preparações probió.	7-14 anos n= 150	Pó misturado com água Dorolac® Sporolac®	14 dias	L. rhamnosus Bifido. longum L. sporogenes	- SM ↓ (intra-gr)
Taipale et al. (2012) ⁽¹³⁾	RCT	Estudar a administração precoce de Bb12 sobre SM e Bb12	De 1 mês até 2 anos n= 106	Comprimido (por chupeta a liberação lenta ou colher)	24 meses	Bifido. lactis Bb12	- SM ↓ (intra-gr) - Não presença de Bb12 nas amostras orais
Yadav et al. (2014) ⁽¹⁴⁾	Crossover	Avaliar o probió. na contagem de SM	6-8 anos n= 31	Leite	20 dias	L. casei	- SM ↓ (inter e intra-gr)
Yousuf et al. (2015) ⁽¹⁵⁾	RCT	Avaliar probió. dispo. no comércio na contagem de SM	12-15 anos n= 33	Pó misturado com água Prowel® Sporolac®	3 semanas	L. acidophilus Bifido. longum Bifido. bifidum Bifido. lactis L. sporogenes	- SM ↓ a 2da semana (intra-gr)
Singh et al. (2011) ⁽¹⁶⁾	Crossover	Comparar níveis de SM e Lb antes e depois o consumo de probió.	12-14 anos n= 40	Gelado	10 dias	Bifido. lactis Bb12 L. acidophilus La5	- SM ↓ (intra-gr) - Lb mesmo igual (intra-gr)

Burton et al. (2013) ⁽¹⁷⁾	RCT	Comparar a actividade de cárie após tomada de pastilhas contendo <i>S. salivarius</i> M18	5-10 anos n= 83	Pastilha a sugar	3 meses	<i>S. salivarius</i> M18	<ul style="list-style-type: none"> - SM e Lb mesmo igual (inter-gr) - Placa bact. ↓ (intra-gr) - 22% crianças colonizadas por M18 na saliva
Nozari et al. (2015) ⁽¹⁸⁾	RCT	Avaliar o probió. sobre a microflora cariogênica salivar	6-12 anos n= 49	Iogurte	4 semanas	<i>Bifido. lactis</i>	<ul style="list-style-type: none"> - SM mesmo igual (intra-gr) - Lb mesmo igual (intra e inter-gr) - Iogurte normal: SM ↓
Alamoudi et al. (2018) ⁽¹⁹⁾	RCT	Avaliar o número de bact. salivares associadas à carie na placa dentaria e cap. tampão salivar	3-6 anos n= 178	Pastilha Prodentis®	28 dias	<i>L. reuteri</i>	<ul style="list-style-type: none"> - SM e Lb ↓ (inter-gr) - Cap. tampão mesmo igual (inter-gr) - Cap. tampão ↑ qdo foi baixa ou média (intra-gr)
Stecksen-Blicks et al. (2009) ⁽²⁰⁾	Cluster RCT	Avaliar o efeito do leite com probió. e flúor sobre as cáries e saúde geral	1-5 anos n= 248	Leite	21 meses	<i>L. rhamnosus</i> LB21	<ul style="list-style-type: none"> - SM e Lb mesmo igual (intra e inter-gr) - Risco cárie ↓ (inter-gr) - Terapia antibió otite ↓ (intra-gr)
Villavicencio et al. (2017) ⁽²¹⁾	Cluster RCT	Avaliar o leite probió. e o leite normal comparando níveis de SM e Lb	3-5 anos n= 363	Leite	9 meses	<i>L. rhamnosus</i> <i>Bifido. longum</i>	<ul style="list-style-type: none"> - SM mesmo igual (inter-gr) - Lb ↓ (inter-gr) - Crescimento de cárie mesmo igual (inter-gr) - Risco cárie mesmo igual (intra-gr) - Placa bact. e pH mesmo igual (inter-gr) - Cap. tampão salivar ↑ (inter-gr)

Pahumunto et al. (2018) ⁽²²⁾	RCT	Avaliar um efeito redutor de SD1 no SM e nas caries	1,5-5 anos n= 124	Leite	3 meses	L. paracasei SD1	<ul style="list-style-type: none"> - SM ↓ (intra-gr) - Lb mesmo igual (intra-gr) - Crescimento de cárie ↓ (inter-gr) - Reversão da lesão cariosa (ativa não cavitária ou ativa) ↑ (inter-gr)
Wattanarat et al. (2015) ⁽²³⁾	RCT	<u>Follow-up de 6 meses</u> Examinar níveis de SM, Lb e HNP1-3 salivares e suas correlações	13-15 anos n= 60	Leite	6 meses	L. paracasei SD1	<ul style="list-style-type: none"> - SM ↓ de T3 a T6 ; ↑ a T12 (igual ao baseline) (inter-gr) - Lb ↑ de T0 a T12 (inter-gr) - HNP1-3 ↑ entre T3 e T6 ; ↓ a T12 - ICDAS fissuras ↓ a T12 (inter-gr) - Correlação + Lb e HNP1-3 - Correlação – Lb e SM - Não correlação HNP1-3 e SM
Taipale et al. (2013) ⁽²⁴⁾	RCT	<u>Follow-up aos 4 anos</u> 2 anos após a fim da ingestão probió. (seguimento Taipale et al. 2012)	4 anos n= 106	Comprimento (por chupeta a liberação lenta ou colher)	24 meses	Bifido.lactis Bb12	<ul style="list-style-type: none"> - SM ↑ (intra-gr) - Ocorrência ICDAS 2-6 associada com placa visível e SM - Não redução da cárie
Näse et al. (2001) ⁽²⁵⁾	RCT	Avaliar se o leite probiótico tem efeito sobre a cárie	1-6 anos n= 594	Leite	7 meses	L. rhamnosus	<ul style="list-style-type: none"> - Risco cárie ↓ face oclusal (inter e intra-gr) - Terapia antibió. trato respi e ouvido ↓ (intra-gr)
Hedayati-Hajikand et al. (2015) ⁽²⁶⁾	RCT	Avaliar comprimidos probió. no desenvolvimento de cárie	2-3 anos n= 138	Comprimido a mastigar EvoraKids®	12 meses	S. uberis KJ2 S. oralis KJ3 S. rattus JH145	<ul style="list-style-type: none"> - Risco cárie ↓ (inter-gr) - Placa bact. mesmo igual (inter-gr)
Rodríguez et al. (2016) ⁽²⁷⁾	Cluster RCT	Comparar o leite probió. com o normal sobre o incremento de cárie	2-3 anos n= 261	Leite	10 meses	L. rhamnosus SP1	<ul style="list-style-type: none"> - Risco cárie ↓ (inter-gr) - ICDAS 5-6 ↓ (intra-gr)

Manmontri et al. (2019) ⁽²⁸⁾	RCT	<u>Follow-up de 6 meses</u> Determinar as quantidades de SM, Lb e bact. totais na saliva e na placa entre 2 grupos probió e o placebo comparando T0	1-5 anos n= 354	Leite	6 meses	L. paracasei SD1	<ul style="list-style-type: none"> - SM ↓ saliva e placa (inter-gr) a T6 e T12 - Lb ↑ (inter-gr) a T6 e T12 - Grupo diario : SM ↓ na placa e saliva a T6 - Grupo 3x/s : SM ↓ só em saliva a T6 - Correlação + na placa e na saliva entre SM e Lb
Ashwin et al. (2015) ⁽²⁹⁾	RCT	<u>Follow-up a 1 e 6 meses</u> Avaliar o risco cárie e níveis de SM antes e depois o consu. de probió.	6-12 anos n= 60	Gelado	7 dias	Bifido. Lactis Bb12 L. acidophilus La-5	<ul style="list-style-type: none"> - SM ↓ aos 7 dias (intra-gr) - Após 30 dias de período washout : SM ↓ em comparação ao baseline. - À 6 meses mesmo que 30 (intra-gr)
Kavitha et al. (2019) ⁽³⁰⁾	RCT	Avaliar os níveis de SM antes e depois ingestão de probió.	6-12 anos n= 60	Pastilha Bifilac®	30 dias	L. sporogenes	<ul style="list-style-type: none"> - SM ↓ (intra-gr)
Hasslöf et al. (2013) ⁽³¹⁾	RCT	<u>Follow-up de 8 anos</u> Avaliar efeitos ao longo prazo sobre cárie, SM e Lb de uma ingestão de probió. 8 anos antes	De 4 até 13 meses n=118	Cereais	9 meses	L. paracasei F19	<ul style="list-style-type: none"> -SM e Lb mesmo igual (inter-gr) - dmfs/DMFS mesmo igual (inter-gr) - Não colonização com LF19

Os principais resultados são descritos do seguinte modo :

A idade dos participantes situa-se entre 1 mês ⁽¹³⁾ e 15 anos ⁽¹⁵⁾. Os meios de veículo dos probióticos usados nestes estudos são principalmente produtos lácteos como o leite ^(21,22,27,28), o gelado ^(16,29), o iogurte ⁽¹⁸⁾. Há também sob forma de pastilhas ^(17,19,30), de comprimidos ^(13,24,26), de pó ^(12,15) e de cereais ⁽³¹⁾. A duração da ingestão dos probióticos varia de 7 dias ⁽²⁹⁾ a 24 meses ⁽¹³⁾.

A estirpe bacteriana avaliada por os estudos são: *Bifidobacterium lactis* ^(13,15,18,29), *Bifidobacterium longum* ^(12,15,21), *Bifidobacterium bifidum* ⁽¹⁵⁾, *Lactobacillus rhamnosus* ^(12,20,25,27), *Lactobacillus paracasei* ^(19,23,28,31), *Lactobacillus acidophilus* ^(15,16,29), *Lactobacillus casei* ⁽¹⁴⁾, *Lactobacillus sporogenes* ^(12,15,30), *Lactobacillus reuteri* ⁽¹⁹⁾, *Streptococcus salivarius* ⁽¹⁷⁾, *Streptococcus fecalis*, *Streptococcus uberis* e *Streptococcus oralis* ⁽²⁶⁾.

Sobre doze estudos que avaliaram os níveis salivares de *Streptococcus mutans*, seis mostraram uma redução significativa no seio do grupo probiótico entre o início e o fim da experiência ^(12,16,22,30), um comparando o grupo probiótico com o grupo placebo ⁽¹⁹⁾, e um no seio do grupo probiótico e comparando com o placebo ⁽¹⁴⁾.

Um estudo mostrou que os níveis de SM foram iguais no seio do grupo probiótico entre o início e o fim da experiência ⁽¹⁸⁾, dois comparando o grupo probiótico com o grupo placebo ^(17,21), e um no seio do grupo probiótico e comparando com o placebo ⁽²⁰⁾.

Sobre sete estudos que avaliaram os níveis salivares de *Lactobacillus*, dois mostraram níveis iguais no seio do grupo probiótico entre o início e o fim da experiência ^(16,22), e um comparando o grupo probiótico com o grupo placebo ⁽¹⁷⁾, e dois no seio do grupo probiótico e também comparando com o placebo ^(18,20). Dois mostraram que os níveis de Lb foram diminuídos comparando o grupo probiótico com o grupo placebo ^(19,21).

Sobre seis estudos que avaliaram fatores da cárie dentária, três mostraram uma redução significativa do risco cárie comparando os resultados do grupo probiótico com os do grupo placebo ^(20,26,27). Um mostrou uma redução significativa do risco cárie sobre as faces oclusais no seio do grupo probiótico e em comparação com o grupo placebo ⁽²⁵⁾.

Um mostrou que o risco cárie fica igual no seio do grupo probiótico entre o início e o fim da experiência ⁽²¹⁾, mas também que o crescimento de cáries fica igual entre o grupo probiótico e o grupo placebo ⁽²¹⁾. Um mostrou uma redução do crescimento de cáries comparando o grupo probiótico com o grupo placebo, e um aumento da reversão da cárie

ativa para inativa ⁽²²⁾. Um outro estudo mostrou que o índice clínico ICDAS 5-6 diminuí no seio do grupo probiótico ⁽²⁷⁾.

Para os estudos que avaliaram os níveis de SM com o risco ou crescimento de cárie, existe uma causalidade: se os níveis de SM são diminuídos, o crescimento deles está também diminuído ⁽²²⁾; e se os níveis de SM ficarem iguais, o risco carie fica igual também ⁽²¹⁾. Um estudo mostrou níveis de SM ficarem iguais com o risco cárie diminuído ⁽²⁰⁾.

Quatro estudos avaliaram a colonização da cavidade oral feita pelas bactérias probióticas: um mostrou uma colonização mais ou menos abrangente ⁽¹⁷⁾, enquanto dois não encontraram nenhum rasto das bactérias nas amostras orais ^(13,31).

Existe efeitos dos probióticos sobre a cavidade oral e a saúde geral das crianças, tais como:

- A diminuição do tempo de tomada necessária da terapêutica antibiótica relativa às otites ⁽²⁰⁾ ou para as infecções do trato respiratório superior e do ouvido ⁽²⁵⁾.
- A capacidade tampão da saliva que pode ser aumentada ⁽²¹⁾ nomeadamente quando ela está baixa ou média ⁽¹⁹⁾.
- O nível de placa bacteriana pode ser igual ^(21,26) ou diminuído ⁽¹⁷⁾.
- O pH pode ser igual ⁽²¹⁾.

Cinco estudos follow-up de diferentes prazos avaliaram diferentes parâmetros:

O estudo follow-up de Taipale et al. (2013) ⁽²⁴⁾ mostrou que a contagem dos níveis de SM efectuados após dois anos de paragem da ingestão do probiótico mudou para um aumento relativamente à contagem efectuada ao fim da tomada probiótica no grupo probiótico, mas não há diferença sobre o aumento ou diminuição da ocorrência da cárie entre os grupos.

O estudo follow-up de Hasslöf et al. (2013) ⁽³¹⁾ efectuado oito anos após a ingestão mostrou que não mudou os níveis de SM e Lb relativamente à contagem efectuada no fim da tomada probiótica comparando o grupo probiótico com o grupo placebo. Foram efectuadas as medidas dmfs/DMFS que foram semelhantes em todos os aspectos entre o grupo probiótico e o grupo placebo. Podemos observar que não houve nenhuma evidência de colonização pela estirpe probiótica no grupo probiótico.

O Follow-up de Ashwin et al. (2015) ⁽²⁹⁾ que já mostrou uma diminuição de SM após a ingestão dos probióticos. Após trinta dias de washout, mostrou que os níveis de SM

diminuíram, e após 6 meses a diminuição foi significativa relativamente ao baseline mas ao mesmo nível que 30 dias após o paragem no grupo probiótico.

O follow-up de Wattanarat et al. (2015) ⁽²³⁾ mostrou uma diminuição de SM, um aumento de Lb e um aumento de HNP-1 após a ingestão dos probióticos. O follow-up efectuado seis meses após a fim da ingestão modificou os níveis de SM que foram aumentados relativamente à contagem efectuada ao fim da tomada probiótica comparando o grupo probiótico com o grupo placebo. O nível do probiótico na saliva gradualmente diminuído durante os seis meses de follow-up. As percentagens de ocorrência da cárie com o índice ICDAS nas cinco superfícies dentárias, especialmente a superfície da fissura no grupo probiótico foi significativamente inferior ao placebo. Existe também uma correlação positiva entre os níveis salivares de Lb e de HNP1-3, uma correlação negativa entre os níveis salivares de Lb e SM, e nenhuma correlação entre HNP1-3 e SM.

O Follow-up de Manmontri et al. (2019) ⁽²⁸⁾, mostrou ao fim da ingestão de probióticos e seis meses após a fim, uma diminuição de SM na saliva em comparação com os grupos probióticos e placebo, e ao contrário, um aumento de Lb na saliva e na placa. Os níveis de Lb foram significativamente aumentado na saliva comparando o grupo probiótico com o grupo placebo. Existe uma correlação positiva entre os níveis de SM e Lb na placa e na saliva.

5 DISCUSSÃO

5.1 Mecanismo dos probióticos contra os agentes patogénicos e sua colonização

5.1.1 Mecanismos dos probióticos

A presença de SM na placa e saliva em crianças está associada a um risco significativamente aumentado de cárie ⁽³²⁾. SM e Lb estão implicados na iniciação e progressão da cárie ⁽³³⁾.

É por isso interessante tentar baixar estes níveis para agir contra a cárie dentária.

Existem diferentes teorias sobre o modo de acção dos probióticos contra os patogénios orais, os mecanismos não estão claramente estabelecidos.

Estes mecanismos incluem (*Figura 3*) :

- Interferência e competição com outros microrganismos e a capacidade de excluir ou inibir agentes patogénicos;
- Modulação das respostas imunitárias do hospedeiro resultando em efeitos locais e sistémicos;
- Influência na função da barreira epitelial intestinal ⁽³⁴⁾.

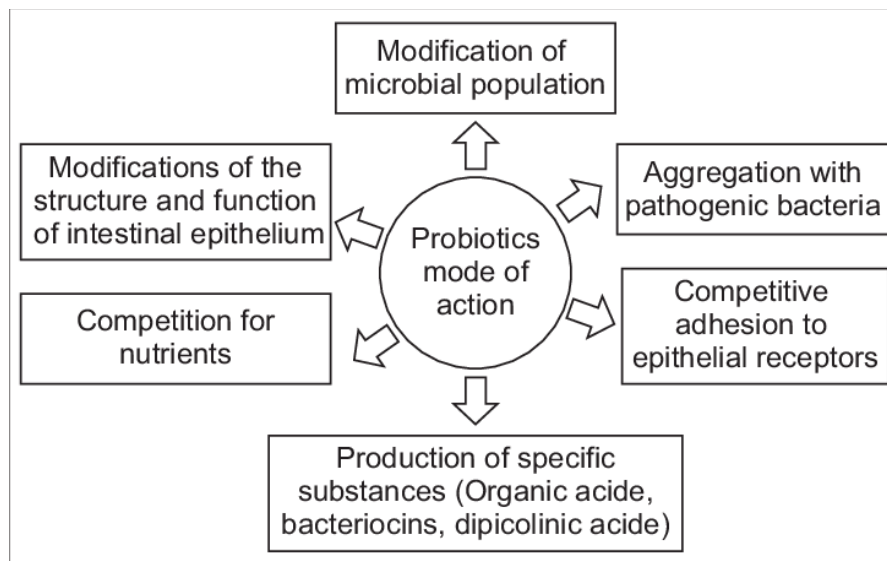


Figura 3: Mecanismo dos probióticos ⁽³⁵⁾

A teoria da competição entre probióticos e bactérias patogénicas poderia explicar a modificação dos níveis de SM na saliva ^(12,14,15). Um estudo *in vitro* realizado por Haukioja et al. (2008) ⁽⁹⁾ descreveu que estirpes probióticas de *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* utilizadas comercialmente podem afectar a ecologia oral através da ligação à hidroxiapatite do esmalte, competindo com algumas bactérias cariogénicas, incluindo o SM, e evitando a sua aderência através da modificação da composição proteica da película salivar, produzindo substâncias como ácido láctico, ácido piroglutâmico ⁽³⁶⁾ que produzem agentes antimicrobianos (bacteriocinas), cuja acção confere o efeito benéfico ⁽³⁷⁾.

Por exemplo, o *Lactobacillus Paracasei* SD1 ^(22,28) produz paracasina SD1, uma proteína antimicrobiana específica dirigida contra vários patogénios orais, que reduz os níveis de SM ⁽³⁸⁾, enquanto modula a resposta inflamatória (humoral e celular). O *Lactobacillus paracasei* SD1 exerce um efeito imunoestimulador através do aumento da produção de

agentes imunes inatos, em especial o HNP1-3 (Human Neutrophil Peptide) a partir de células epiteliais ductais de glândulas salivares submandibulares ⁽³⁹⁾, que são então segregadas na saliva. Assim, a activação da imunidade do hospedeiro resulta num aumento da produção de imunoglobulina secretora A (sIgA), que se revelou anteriormente como um dos principais mecanismos dos probióticos no tracto gastrointestinal ⁽⁴⁰⁾ e na cavidade oral ^(41,42).

5.1.2 Veículo

É também importante notar que a escolha do veículo pelo qual os probióticos são dissolvidos no organismo é também muito importante. Alguns conferem mais benefícios graças à sua constituição original, como o leite ^(16,18), que é um alimento proteico que fornece os aminoácidos e o azoto orgânico que são essenciais para o ser humano. O leite contém igualmente constituintes que possuem atributos protectores contra as cáries, em especial caseína, cálcio, fósforo e a sua capacidade tampão. Os seus benefícios permitem a remineralização do esmalte, impedindo a adesão de bactérias ao dente e obstruindo a formação do biofilme dentário ⁽²¹⁾.

E, graças aos comprimidos contendo probióticos, que se dissolvem mais lentamente e permitem uma verdadeira acção local dos probióticos na cavidade oral ⁽³⁰⁾.

No entanto, não conseguimos estabelecer uma ligação com a diminuição dos níveis de SM e a prática mais regular da higiene oral pelas crianças com seus pais durante a experiência, uma vez que teria sido necessário registar o método de escovagem realizado antes do estudo e compará-lo com o realizado durante a experiência ⁽³⁰⁾.

5.1.3 Colonização dos probióticos na cavidade oral

Relativamente à colonização da cavidade oral por probióticos, a maioria dos autores concorda que as bactérias probióticas se encontram alojadas no meio oral só temporariamente e que, após a cessação do consumo, desaparecem rapidamente ^(11,15,19,30), o que aumenta novamente as quantidades de SM na saliva e promove novamente a progressão da cárie.

Mesmo a administração precoce de probióticos não resulta numa colonização mais permanente ^(13,23,29). Os probióticos são incapazes de colonizar continuamente a cavidade oral, pelo que o seu consumo diário é necessário para notar os seus efeitos positivos.

No entanto, algumas estirpes, como a estirpe probiótica K12 de *S. salivarius*, mostraram uma colonização mais persistente ⁽⁴³⁾, ou ainda o *L. paracasei* SD1 que pode reduzir a progressão das cáries durante a ingestão mas também durante os 6 meses seguintes à cessação do consumo com uma diminuição de SM na saliva ⁽²⁸⁾.

5.2 Lactobacillus spp e a placa bacteriana

5.2.1 Lactobacillus spp

É importante saber que nem todos os géneros *Lactobacillus* conferem benefícios de saúde oral ao hospedeiro ⁽⁸⁾.

Os probióticos são estirpes específicas seleccionadas, como o *L. rhamnosus* ⁽²⁵⁾, que pertence ao *Lactobacillus* homofermentativo, que não pode fermentar sacarose ou lactose. Podem prevenir ou retardar o crescimento de cáries e são saudáveis para os dentes ⁽²⁵⁾.

Algumas estirpes, como *L. paracasei* ^(23,28), seriam mais capazes de colonizar a cavidade oral mesmo depois de parar o probiótico ⁽⁴⁴⁾, o que continuaria a aumentar os níveis de *Lb* em amostras salivares após a experiência ^(23,28).

Contudo, esta estirpe probiótica só pôde exercer um efeito temporário na redução de SM e na indução de HNP1-3 apesar de um aumento prolongado do número de *Lb* nas amostras de saliva. Isto pode ser explicado pelo facto de o método de contagem das colónias no ágar MRS não diferenciar a estirpe probiótica de outras estirpes de *Lb* que já residem na boca dos participantes ⁽²³⁾.

Uma redução dos níveis de *Lb* poderia também dever-se a uma aplicação mais rigorosa da higiene oral pelas crianças e seus pais ⁽¹⁹⁾.

5.2.2 Placa dentária

Os microrganismos vivem no biofilme da placa como uma comunidade algo estática e estável, ao contrário da saliva, que tem flutuações muito mais dinâmicas na quantidade

de microrganismos ⁽⁴⁵⁾. Uma vez que todas as superfícies dos dentes são constantemente banhadas em saliva, a saliva pode reflectir melhor as alterações na composição microbiana do que as amostras de placa bacteriana ^(28,46).

Para Burton, et al. (2013) ⁽¹⁷⁾, após 3 meses de tratamento com pastilhas adicionadas à estirpe probiótica *Streptococcus salivarius* M18, encontraram uma diminuição estatisticamente significativa na placa em comparação com o grupo placebo. Na medida em que as estirpes probióticas reduzem o número de bactérias associadas à cárie dentária, verifica-se uma diminuição da placa bacteriana ⁽²¹⁾.

No estudos de Hedayati et al. (2015) ⁽²⁶⁾, e Villacencio et al. (2017) ⁽²¹⁾, os valores da placa bacteriana diminuíram no grupo probiótico, embora não tenham alcançado significância estatística.

Para o Taipale et al. (2013) ⁽²⁴⁾ e o Hasslof et al. (2013) ⁽³¹⁾, a ingestão precoce de estirpes probióticas não resultou numa redução estatisticamente significativa medida aos 4 e 9 anos de idade.

5.3 Cárie dentária

A avaliação do estado das cáries nos estudos pode ser feita através de diferentes índices :

- O índice clínico ICDAS ^(23,24,27), que é escolhido porque inclui o estado inicial das lesões iniciais e demonstrou ser reprodutível e preciso ⁽⁴⁷⁾ (*Figura 4*) (*Figure 5*).
- O índice dmfs/DMFS ⁽³¹⁾, que é um índice epidemiológico desenvolvido pela OMS para determinar a prevalência de cáries entre países industrializados e países em desenvolvimento ⁽⁴⁸⁾.
- O risco cárie, que se baseou num exame clínico e/ou microbiológico ⁽²⁵⁾. O risco cárie é o risco de um indivíduo desenvolver uma lesão cariogénica. Por definição, o risco cárie destina-se a avaliar a evolução futura. No entanto, só pode ser avaliada com base nos sintomas presentes ou manifestados no momento da avaliação ⁽⁴⁹⁾.

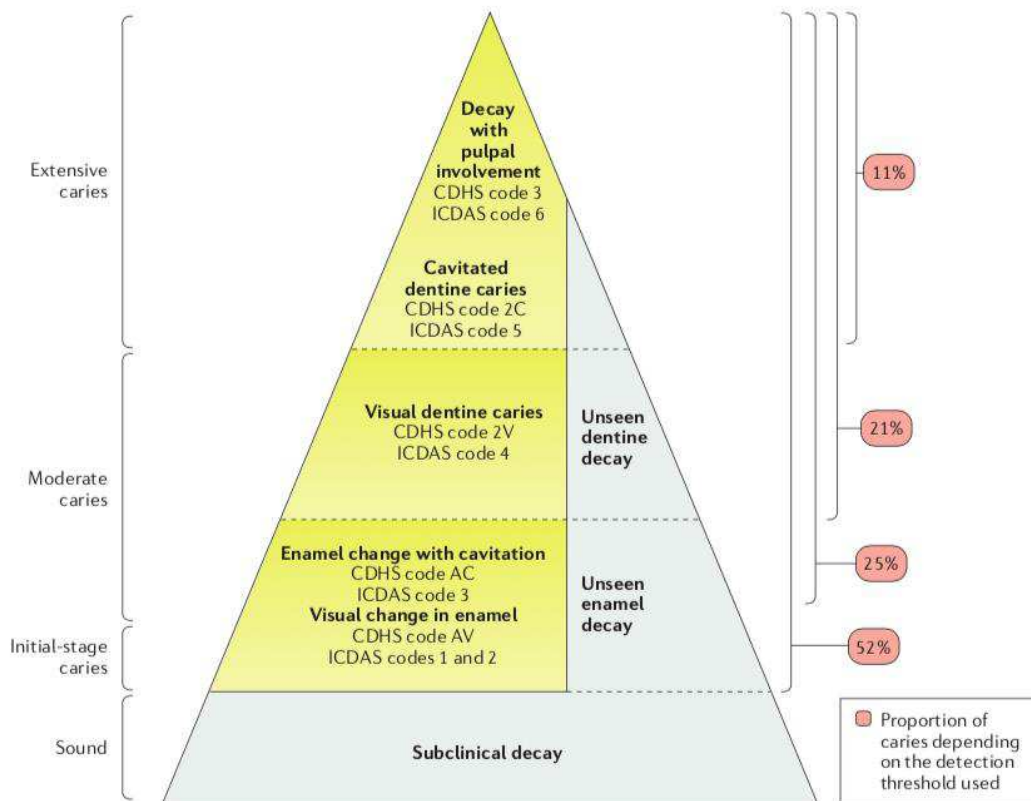


Figura 4: ICDAS, International Caries Detection and Assessment System⁽⁷⁾

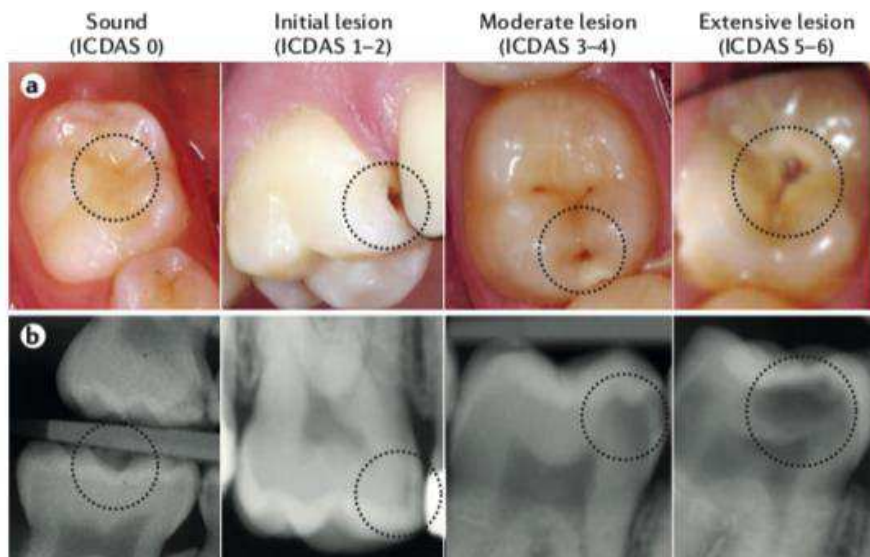


Figura 5: Aspecto clínico e radiográfico das fases de gravidade ICDAS dos dentes⁽⁷⁾

É importante notar que a maioria dos países industrializados pratica a profilaxia de fluoretos, o que já limita a prevalência de cáries⁽²⁵⁾.

O leite adicionado com o probiótico reduz a prevalência de cáries em crianças em idade pré-escolar ^(20,25-27), mostrou uma redução significativa do factor de risco cárie ou de cárie. Stecksén-Blicks et al. (2009) ⁽²⁰⁾ que adicionou flúor ao leite probiótico tornou impossível o isolamento de *L. rhamnosus* para avaliação.

Certos tipos de cárie, como a cárie de selante e fissura (cárie oclusal), estão associadas a maiores quantidades de SM em comparação com superfícies dentárias lisas ⁽⁵⁰⁾. Isto pode explicar uma maior diminuição desta última durante a ingestão probiótica (segundo o mecanismo de competição, ver 5.1.1) em comparação com outras ^(23,25).

Os probióticos estão mais aptos a intervir cedo quando o processo de desmineralização/remineralização do esmalte das cáries é inicial do que em lesões já cavitadas ^(26,27). No entanto, é possível que ajudem também a tornar uma lesão não cavitária ou cavitária ativa para inactiva ⁽²²⁾.

A combinação de duas ou mais estirpes poderia ser um tratamento preventivo de maior eficácia do que uma única estirpe, como a combinação de *Lactobacillus rhamnosus* e *Bifidobacterium longum* ⁽²¹⁾, que mostraram efeitos benéficos na cavidade oral ⁽⁵¹⁾.

Para alguns autores, a prevalência de cáries diminuiu, mas não significativamente, porque o tempo de intervenção foi considerado demasiado curto ^(21,25).

No estudo Taipale et al. (2013)⁽²⁴⁾, 5 crianças que não apresentavam sinais de SM na saliva aos 4 anos de idade tinham lesões de cárie do esmalte (código de lesão ICDAS 2-3). Nenhuma destas 5 crianças apresentava lesões cariosas evidentes da dentina (código de lesão ICDAS 4-6). Deve notar-se que as crianças receberam probióticos durante 24 meses (de um mês a dois anos de idade). Assim, a hipótese actual de que o SM desempenha um papel importante não está necessariamente relacionada causalmente com as cáries ⁽⁵²⁾.

5.4 Outros parâmetros orais e saúde geral

5.4.1 Imunoestimulação dos probióticos no corpo

O objetivo dos probióticos é actuar localmente na cavidade oral através do biofilme e sistemicamente modificando a resposta imunitária ⁽⁵³⁾.

A activação imunitária interna por *Lactobacillus paracasei* SD1 é suportada pela correlação positiva entre os níveis elevados de HNP1-3 e um aumento do número de Lb (23).

Um estudo anterior mostrou níveis significativamente mais elevados de HNP1-3 em amostras de saliva de crianças sem cavidades do que naquelas sensíveis às cavidades (39). Assim, a adição do probiótico *L. paracasei* mostra que ele desempenha um papel favorável na imunidade à medida que a HPN1-3 aumenta nas crianças (23).

Além disso, a imunoestimulação organizada pelos probióticos poderia ser responsável pela redução do tempo de tratamento com antibióticos (20,25).

5.4.2 pH e capacidade tampão

Quanto ao pH, observou-se uma redução do ácido salivar em crianças pré-escolares após 9 meses de ingestão de leite probiótico (21), no entanto, não foram feitos mais estudos em outras crianças pré-escolares para comparar os valores de pH.

A maioria das crianças com capacidade tampão baixa ou média aumentou a sua capacidade tampão (21), enquanto as crianças com capacidade de tampão elevada mantiveram os seus valores elevados (19). No entanto, as alterações na capacidade tampão podem também estar relacionadas com uma melhor higiene oral e não apenas com a terapia probiótica (19).

6 CONCLUSÕES

Neste estudo, os artigos relevantes relataram descobertas significativas sobre o efeito do consumo probiótico sobre a cárie dentária em crianças. As principais conclusões dos estudos seleccionados são as seguintes:

- Os probióticos podem afectar a ecologia oral, ligando-se ao esmalte, e competir com certas bactérias cariogénicas como SM, e impedir a sua adesão à hidroxiapatite, alterando a composição proteica da película salivar através da produção de substâncias, cuja acção confere o efeito benéfico de diminuir o risco cárie. É mais provável que os probióticos

estejam envolvidos no processo de desmineralização/remineralização do esmalte da cárie precoce do que em lesões já cavitantes.

- As bactérias probióticas são alojadas apenas temporariamente no ambiente oral e desaparecem rapidamente após a interrupção do consumo. O consumo de probióticos deve ser diário para que se possam ver os seus efeitos positivos. Existe a hipótese de algumas estirpes serem mais resistentes e mais capazes de colonizar a cavidade oral mesmo depois de parar o probiótico.

- Os probióticos podem actuar localmente na cavidade oral, criando um biofilme e modificando a resposta imunitária através do reforço de mediadores e anticorpos imunitários. Organizam a imunoestimulação que também pode ser responsável pela redução da duração do tratamento com antibióticos.

A hipótese inicial precisa de ser verificada por estudos adicionais durante um período de tempo mais longo e em amostras maiores. No entanto, a terapia probiótica mostra efeitos positivos na prevenção e parece melhorar a saúde oral das crianças. Poderia ser utilizado mais amplamente em termos de prevenção oral, embora observando que até à data não foram encontrados efeitos negativos no organismo.

Outros estudos mostraram que a terapia probiótica poderia ser exportada para prevenir e tratar outras doenças, como a halitose, doenças periodontais ou infecções causadas por *Candida albicans*.

REFERÊNCIAS

1. Kassebaum NJ, Bernabé E, Dahiya M, et al. Global burden of untreated caries: A systematic review and metaregression. *J Dent Res.* 2015;94(5):650–8.
2. Berkowitz RJ. Causes, treatment and prevention of early childhood caries: a microbiologic perspective. *J Can Dent Assoc.* 2003;69(5):304–7.
3. Marsh PD. Dental plaque: Biological significance of a biofilm and community life-style. *J Clin Periodontol.* 2005;32(SUPPL. 6):7–15.
4. Avila M, Ojcius DM, Yilmaz O. The oral microbiota: Living with a permanent guest. *DNA Cell Biol.* 2009;28(8):405–11.

5. Twetman S. Are we ready for caries prevention through bacteriotherapy? *Braz Oral Res.* 2012;26(SPL. ISS.1):64–70.
6. Tanner ACR, Kressirer CA, Rothmiller S, et al. The Caries Microbiome: Implications for Reversing Dysbiosis. *Adv Dent Res.* 2018;29(1):78–85.
7. Pitts N, Zero DT, Marsh PD, et al. Dental caries. *Nat Rev Dis Prim.* 2017;3(1):1–16.
8. Joint FAO/WHO Working Group Guidelines. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food [Internet]. 2002. p. 1–11. Available from: <ftp://ftp.fao.org/es/esn/food/wgreport2.pdf>
9. Haukioja A, Loimaranta V, Tenovou J. Probiotic bacteria affect the composition of salivary pellicle and streptococcal adhesion in vitro. *Oral Microbiol Immunol.* 2008;23(4):336–43.
10. Langella P. Le biofilm dentaire et l' équilibre du microbiote oral : des concepts majeurs pour le maintien de la santé buccale *Sciences du Vivant [q-bio]* [Internet]. 2017. Available from: [dumas-01779523](#)
11. Wade WG. The oral microbiome in health and disease. *Pharmacol Res* [Internet]. 2013;69(1):137–43. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.phrs.2012.11.006>
12. Jinjal G, Pandey RK, Agarwal J, et al. A comparative evaluation of probiotics on salivary mutans streptococci counts in Indian children. *Eur Arch Paediatr Dent.* 2011;12(4):211–5.
13. Taipale T, Pienihäkkinen K, Salminen S, et al. Bifidobacterium animalis subsp. lactis BB-12 administration in early childhood: A randomized clinical trial of effects on oral colonization by mutans streptococci and the probiotic. *Caries Res.* 2012;46(1):69–77.
14. Yadav M, Poornima P, Roshan NM, et al. Evaluation of probiotic milk on salivary mutans streptococci count: An in vivo microbiological study. *J Clin Pediatr Dent.* 2014;39(1):23–6.
15. Yousuf A, Nagaraj A, Ganta S, et al. Comparative Evaluation of Commercially Available Freeze Dried Powdered Probiotics on Mutans Streptococci Count: A Randomized, Double Blind, Clinical Study. *J Dent (Tehran).* 2015;12(10):729–72938.
16. Singh R, 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;69(6):389–94.
17. Burton JP, Drummond BK, Chilcott CN, et al. Influence of the probiotic *Streptococcus salivarius* strain M18 on indices of dental health in children: A randomized double-blind, placebo-controlled trial. *J Med Microbiol.* 2013;62(PART6):875–84.
 18. Nozari A, Motamedifar M, Seifi N, et al. The Effect of Iranian Customary Used Probiotic Yogurt on the Children's Salivary Cariogenic Microflora. *J Dent (Shiraz, Iran)* [Internet]. 2015;16(2):81–6. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26046102> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4445856>
 19. Alamoudi NM, Almabadi ES, El Ashiry EA, et al. Effect of probiotic *Lactobacillus reuteri* on salivary cariogenic bacterial counts among groups of preschool children in Jeddah, Saudi Arabia: A randomized clinical trial. *J Clin Pediatr Dent.* 2018;42(5):331–7.
 20. 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.
 21. Villavicencio J, Villegas LM, Arango MC, et al. Effects of a food enriched with probiotics on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* spp. salivary counts in preschool children: a cluster randomized trial. *J Appl Oral Sci.* 2018;26:e20170318.
 22. Pahumunto N, Piwat S, Chankanka O, et al. Reducing mutans streptococci and caries development by *Lactobacillus paracasei* SD1 in preschool children: a randomized placebo-controlled trial. *Acta Odontol Scand* [Internet]. 2018;76(5):331–7. Available from: <https://doi.org/10.1080/00016357.2018.1453083>
 23. Wattanarat O, Makeudom A, Sastraruji T, et al. Enhancement of salivary human neutrophil peptide 1-3 levels by probiotic supplementation. *BMC Oral Health.* 2015;15(1):1–11.

24. Taipale T, Pienihäkkinen K, Alanen P, et al. Administration of bifidobacterium animalis subsp. lactis bb-12 in early childhood: A post-trial effect on caries occurrence at four years of age. *Caries Res.* 2013;47(5):364–72.
25. Näse L, Hatakka K, Savilahti E, 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;35(6):412–20.
26. Hedayati-Hajikand T, Lundberg U, Eldh C, et al. Effect of probiotic chewing tablets on early childhood caries - a randomized controlled trial. *BMC Oral Health* [Internet]. 2015;15(1):1–5. Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s12903-015-0096-5>
27. Rodríguez G, Ruiz B, Faleiros S, et al. Probiotic compared with standard milk for high-caries children. *J Dent Res.* 2016;95(4):402–7.
28. Manmontri C, Nirunsittirat A, Piwatet S, et al. Reduction of *Streptococcus mutans* by probiotic milk: a multicenter randomized controlled trial. *Clin Oral Investig.* 2019;10.1007/s00784-019-03095-5.
29. Ashwin D, Ke V, Taranath M, et al. Effect of probiotic containing ice-cream on salivary mutans streptococci (SMS) levels in children of 6-12 years of age: A randomized controlled double blind study with six-months follow up. *J Clin Diagnostic Res.* 2015;9(2):ZC06–9.
30. Kavitha M, Prathima GS, Kayalvizhi G, et al. Evaluation of *Streptococcus mutans* serotypes e, f, and k in saliva samples of 6-12-year-old school children before and after a short-term daily intake of the probiotic lozenge. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2019;37:67–74.
31. Hasslöf P, West C, Videhult FK, et al. Early intervention with probiotic *Lactobacillus paracasei* F19 has no long-term effect on caries experience. *Caries Res.* 2013;47(6):559–65.
32. Thenisch NL, Bachmann LN, Imfeld T, et al. Are mutans streptococci detected in preschool children a reliable predictive factor for dental caries risk? A systematic review. *Caries Res.* 2006;40(5):366–74.
33. Usha C, Sathyanarayanan R. Dental caries - A complete changeover (Part I). *J Conserv Dent.* 2009;12(2):46.
34. Servin AL. Antagonistic activities of lactobacilli and bifidobacteria against

- microbial pathogens. *FEMS Microbiol Rev.* 2004;28(4):405–40.
35. Tiwari G, Tiwari R, Pandey S, et al. Promising future of probiotics for human health: Current scenario. *Chronicles Young Sci.* 2012;3(1):17.
 36. Huttunen E, Noro K, Yang Z. Purification and identification of antimicrobial substances produced by two *Lactobacillus casei* strains. *Int Dairy J.* 1995;5(5):503–13.
 37. Seminario-Amez M, López-López J, Estrugo-Devesa A, et al. Probiotics and oral health: A systematic review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2017;22(3):e282–8.
 38. Wannun P, Piwat S, Teanpaisan R. Purification and characterization of bacteriocin produced by oral *Lactobacillus paracasei* SD1. *Anaerobe* [Internet]. 2014;27:17–21. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.anaerobe.2014.03.001>
 39. Dale BA, Tao R, Kimball JR, et al. Oral antimicrobial peptides and biological control of caries. *BMC Oral Health.* 2006;6(SUPPL. 1):1–7.
 40. Fukushima Y, Kawata Y, Hara H, et al. Effect of a probiotic formula on intestinal immunoglobulin A production in healthy children. *Int J Food Microbiol.* 1998;42(1–2):39–44.
 41. Ericson D, Hamberg K, Bratthall G, et al. Salivary IgA response to probiotic bacteria and mutans streptococci after the use of chewing gum containing *Lactobacillus reuteri*. *Pathog Dis.* 2013;68(3):82–7.
 42. Stensson M, Koch G, Abrahamsson TR, et al. Oral administration of *Lactobacillus reuteri* during the first year of life reduces caries prevalence in the primary dentition at 9 years of age. *Caries Res.* 2014;48(2):111–7.
 43. Horz HP, Meinelt A, Houben B, et al. Distribution and persistence of probiotic *Streptococcus salivarius* K12 in the human oral cavity as determined by real-time quantitative polymerase chain reaction. *Oral Microbiol Immunol.* 2007;22(2):126–30.
 44. Teanpaisan R, Piwat S. *Lactobacillus paracasei* SD1, a novel probiotic, reduces mutans streptococci in human volunteers: A randomized placebo-controlled trial. *Clin Oral Investig.* 2014;18(3):857–62.
 45. Kilian M, Chapple ILC, Hannig M, et al. The oral microbiome - An update for oral healthcare professionals. *Br Dent J.* 2016;221(10):657–66.

46. Damle SG, Lombaa A, Dhindsa A, et al. Correlation between dental caries experience and mutans streptococci counts by microbial and molecular (polymerase chain reaction) assay using saliva as microbial risk indicator. *Dent Res J (Isfahan)*. 2016;13(6):552–9.
47. Jablonski-Momeni A, Stachniss V, Ricketts DN, et al. Reproducibility and accuracy of the ICDAS-II for detection of occlusal caries in vitro. *Caries Res*. 2008;42(2):79–87.
48. World Health Organisation. Oral health information systems [Internet]. Available from: https://www.who.int/oral_health/action/information/surveillance/en/
49. Reich E, Lussi A, Newbrun E. Caries-risk assessment. FDI/World Dent Press. 1999;(0020-6539/99/01015-1):15–26.
50. Marsh PD. Microbiology of dental plaque biofilms and their role in oral health and caries. *Dent Clin North Am* [Internet]. 2010;54(3):441–54. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cden.2010.03.002>
51. Sharma C, Singh BP, Thakur N, et al. Antibacterial effects of Lactobacillus isolates of curd and human milk origin against food-borne and human pathogens. *3 Biotech*. 2017;7(1).
52. Takahashi N, Nyvad B. The role of bacteria in the caries process: Ecological perspectives. *J Dent Res*. 2011;90(3):294–303.
53. Twetman S, Stecksén-Blicks C. Probiotics and oral health effects in children. *Int J Paediatr Dent*. 2008;18(1):3–10.

ANEXOS