

Ana Júlia Martins Targino

Avanços na identificação do microbioma periodontal e  
implicações nas formas de controle da doença

Brasília  
2021



Ana Júlia Martins Targino

Avanços na identificação do microbioma periodontal-  
Implicações nas formas de controle da doença

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Odontologia da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília, como requisito parcial para a conclusão do curso de Graduação em Odontologia.

Orientador: Prof. Dr. Maria do Carmo M. Guimarães

Co-orientador: Prof. Dr. Nailê Damé Teixeira

Brasília  
2021



Dedico este trabalho aos meus pais, Mirtes e Arlem.  
Por todo apoio, compreensão e carinho. Sem eles, me faltaria a  
base e porto seguro necessários para os desafios da graduação  
e da vida.



## **AGRADECIMENTOS**

À minha família, pelo apoio inestimável e cuidado a mim investido durante toda minha vida acadêmica (e além dela).

Aos meus amigos, em especial João Lucas, Marco Antônio, Jéssika Figueira, Caroline Toledo e Bárbara Aranha, pela jornada que compartilhamos.

Ao meu namorado, Paulo Levay, pelo carinho e palavras de incentivo.

Aos meus professores, especialmente à professora Maria do Carmo, por tornar o desenvolvimento deste árduo trabalho uma tarefa mais simples.

A todas as pessoas que, direta ou indiretamente, contribuíram para meu crescimento profissional durante essa importante etapa de graduação.

A Deus, por tudo.





## EPÍGRAFE

“O correr da vida embrulha tudo. A vida é assim: esquenta e esfria, aperta e daí afrouxa, sossega e depois desinquieta. O que ela quer da gente é coragem”.

Guimarães Rosa- Grande Sertão: Veredas



## RESUMO

Targino, A.J.M. Avanços na identificação do microbioma periodontal- Implicações nas formas de controle da doença. 2021. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) – Departamento de Odontologia da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade de Brasília.

O microbioma periodontal é alvo de estudos desde que se tem o conhecimento das metodologias mais arcaicas. É fato que o entendimento da etiologia da doença contribui, em última instância, para mudanças nas abordagens terapêuticas indicadas. Novas metodologias de estudo do microbioma periodontal, como os sequenciamentos de alto rendimento do gene 16S rRNA e shotgun, permitiram elucidar características fundamentais da patogênese periodontal, fornecendo dados importantes quanto às trocas metabólicas e sucessão ecológica de saúde à doença periodontal. O presente estudo tem como objetivo discutir os avanços no entendimento do microbioma periodontal e suas implicações nas formas de controle da doença



## **ABSTRACT**

Targino, A.J.M. Advances in the identification of the periodontal microbiome- Implications for treatment options. 2021. Undergraduate Course Final Monograph (Undergraduate Course in Dentistry) – Department of Dentistry, School of Health Sciences, University of Brasília.

The periodontal microbiome has been the subject of studies since the most archaic methodologies are known. It is a fact that understanding the etiology of the disease ultimately contributes to changes in the indicated therapeutic approaches. New methodologies for studying the periodontal microbiome, such as high-throughput 16S rRNA and shotgun, have allowed to elucidate fundamental characteristics of periodontal pathogenesis, providing important data regarding metabolic changes and ecological succession from health to periodontal disease. The present study aims to discuss advances in understanding the periodontal microbiome and its forms of disease control.



## SUMÁRIO

Artigo Científico .....	17
Folha de Título .....	19
Resumo .....	20
Abstract .....	21
Introdução .....	22
Materiais e Métodos.....	25
Nova Classificação das Doenças Periodontais .....	26
Sequenciamento Genético .....	27
Fungos, vírus e arqueas .....	28
Fatores Ambientais e Doença Periodontal.....	30
Formas de controle da doença periodontal.....	39
Discussão.....	48
Conclusão.....	56
Referências.....	58
 Anexos	
Normas da Revista .....	75
Tabelas do artigo.....	77





**ARTIGO CIENTÍFICO**

Este trabalho de Conclusão de Curso é baseado no artigo científico:

Targino, A.J.M; Guimarães, M.C; Martins, V; Damé, N.T. Avanços na identificação do microbioma periodontal- Implicações nas formas de controle da doença. Apresentado sob as normas de publicação da Revista Journal of Clinical Periodontology.



## FOLHA DE TÍTULO

Avanços na identificação do microbioma periodontal- Implicações nas formas de tratamento da doença

Advances in the identification of the periodontal microbiome- Implications for non surgical treatment.

Ana Júlia Martins Targino<sup>1</sup>

Maria do Carmo M. Guimarães<sup>2</sup>

Valéria Martins de Araújo Carneiro<sup>2</sup>

Nailê Damé Teixeira<sup>3</sup>

1 Aluna de Graduação em Odontologia da Universidade de Brasília.

2 Professora de Periodontia do Curso de Odontologia da Universidade de Brasília (UnB).

3 Professora de Dentística do Curso de Odontologia da Universidade de Brasília (UnB).

Correspondência: Prof. Dr. Maria do Carmo Guimarães  
Campus Universitário Darcy Ribeiro - UnB - Faculdade de Ciências da Saúde - Departamento de Odontologia - 70910-900 - Asa Norte - Brasília – DF

E-mail: [anajuliamartins678@gmail.com](mailto:anajuliamartins678@gmail.com) / Telefone: (61) 98215-6812

## RESUMO

Avanços na identificação do microbioma periodontal- Implicações nas formas de tratamento da doença

### Resumo

O microbioma periodontal é alvo de estudos desde que se tem o conhecimento das metodologias mais arcaicas. É fato que o entendimento da etiologia da doença contribui, em última instância, para mudanças nas abordagens terapêuticas indicadas. Novas metodologias de estudo do microbioma periodontal, como o sequenciamento de alto rendimento dos genes 16S rRNA e shotgun, permitiram elucidar características fundamentais da patogênese periodontal, fornecendo dados importantes quanto às trocas metabólicas e sucessão ecológica de saúde à doença periodontal. O presente estudo tem como objetivo discutir os avanços no entendimento do microbioma periodontal e suas implicações nas formas de controle da doença.

### Palavras-chave

Doença periodontal; Terapia periodontal não cirúrgica; Efeitos clínicos; Estudos genômicos; Estudos transcriptômicos; Microbiologia periodontal.

### Relevância clínica

O presente artigo se propõe a realizar uma revisão crítica dos principais avanços no entendimento do microbioma periodontal, podendo corroborar para o levantamento de novas formas de tratamento potencialmente eficazes na prática clínica.

## **ABSTRACT**

Advances in the identification of the periodontal microbiome-  
Implications for treatment options

### Abstract

The periodontal microbiome has been the subject of studies since the most archaic methodologies are known. It is a fact that understanding the etiology of the disease ultimately contributes to changes in the indicated therapeutic approaches. New methodologies for studying the periodontal microbiome, such as high-throughput 16S rRNA and shotgun gene sequencing, have allowed to elucidate fundamental characteristics of periodontal pathogenesis, providing important data regarding metabolic changes and ecological succession from health to periodontal disease. The present study aims to discuss advances in understanding the periodontal microbiome and its forms of disease control.

### Keywords

Periodontal disease; Non-surgical periodontal treatment; Clinical effects; Genomic studies; Transcriptomic studies; Periodontal microbiology.

## INTRODUÇÃO

O termo doença periodontal se refere a diferentes quadros clínicos denominados doenças gengivais ou gengivite quando limitados aos tecidos de proteção e, periodontite quando acometem os tecidos de suporte do dente (Kumar et al, 2003). Atualmente, a nova classificação das doenças periodontais aborda não só as condições associadas à doença, mas também aquelas associadas à saúde, em concordância com as metodologias genômicas e transcriptômicas, que permitiram um melhor entendimento sobre as mudanças clínicas e microbianas que ocorrem de saúde periodontal à periodontite (Chapple et al, 2018).

O desenvolvimento de teorias microbiológicas para explicar a etiopatogenia da doença periodontal existe desde que se tem a possibilidade de identificar microrganismos por meio de lentes de aumento.

Sendo assim, a busca pelos agentes etiológicos das doenças periodontais está em andamento há mais de um século. A pesquisa teve seu início na Era de Ouro da Microbiologia (1880-1920), quando os agentes etiológicos de muitas infecções clinicamente importantes foram determinados.

Investigadores em meados de 1880 sugeriram quatro grupos distintos de microrganismos como possíveis agentes etiológicos das doenças periodontais, incluindo amebas, espiroquetas, fusiformes e estreptococos. A base dessa determinação foi, principalmente, a aparente associação desses organismos com lesões periodontais. No entanto, as formas de tratamento baseadas nessa visão mostraram-se pouco eficazes (Socransky; Haffajee, 1994).

O entusiasmo inicial pela busca do agente etiológico de doenças periodontais destrutivas diminuiu lentamente nas décadas subsequentes, de forma que, em meados da década de 1920,

mudou-se a atitude em relação à etiologia da doença periodontal. Passou a se acreditar que a doença periodontal acontecia devido a algum defeito constitucional por parte do paciente, trauma de oclusão, atrofia por desuso ou combinação desses fatores, diminuindo a relevância da colonização bacteriana para a etiopatogenia da doença periodontal. No entanto, o tratamento de pacientes com base na noção de defeitos constitucionais ou trauma de oclusão também não foi eficaz no controle de doenças periodontais (Socransky; Haffajee, 1994).

Na década de 1950, retorna o entendimento do microbioma periodontal sob uma ótica microbiológica, de forma que um grupo de clínicos, algumas vezes chamados de evangelistas da placa, enfatizou fortemente a necessidade do controle de placa na prevenção e tratamento de doenças periodontais. (Socransky; Haffajee, 1994).

Em congruência a esse entendimento surgiu, então, a Teoria não Específica da Placa Periodontal, quando estudos iniciais sugeriram que a destruição periodontal seria resultado do acúmulo de quaisquer microrganismos em quantidade suficiente para desenvolver uma resposta imune inflamatória na região gengival ou periodontal (Schultz-Haldt et al, 1954; Macdonald, 1956). Em adição a isso, Løe também ressaltou o caráter reversível da gengivite, em que a desorganização do biofilme foi capaz de causar o retorno à saúde nos estudantes de Odontologia acometidos por inflamação gengival após a privação de qualquer método de higiene bucal (Løe et al, 1965).

Esses estudos, embora tenham identificado microrganismos importantes para a patogênese periodontal, apresentaram limitação metodológica por fazerem uso de microscopia e de meios de cultura restritos. Sendo assim, tinha-se uma visão parcial da microbiota envolvida na doença periodontal, limitada aos microrganismos cultiváveis e àqueles que podem ser visualizados por meio de microscopia óptica e eletrônica.

Em meados dos anos 80, surgiu então a Teoria da Placa Específica (Loesche, 1979), segundo a qual a doença periodontal se instalaria como consequência do crescimento de espécies específicas na comunidade periodontal. Essa teoria apresenta limitações similares à anterior, tendo como metodologia a visualização de espécies cultiváveis por meio de microscópio. No entanto, essa visão específica para a doença periodontal corroborou para uma mudança clínica, com a ampliação do uso de agentes antimicrobianos e meios mais invasivos a fim de eliminar por completo as espécies microbianas presentes no ambiente bucal.

Já na década de 90, ganhou força o conceito dos Complexos Microbianos de Socranscry (Socranscry et al, 1998). O microbioma subgengival, de acordo com Socranscry, poderia ser dividido didaticamente em complexos, os quais abrigariam microrganismos capazes de desempenhar função colonizadora, protetora ou patogênica. A sucessão microbiana, nesse sentido, permitiria a colonização por microrganismos patogênicos (aqueles do complexo laranja e vermelho), o que resultaria, em última análise, na destruição tecidual como consequência da atuação metabólica de microrganismos específicos (em especial *P. gingivalis*, *T.denticola* e *T. forsythia*). Esse estudo, por fazer uso da metodologia de hibridização DNA-DNA *checkerboard*, permitiu uma visão mais ampla dos microrganismos associados à doença periodontal e serviu como base para inúmeros estudos que o sucederam. No entanto, ainda apresenta limitações quando comparado à metodologia atual, como o número limitado de sondas utilizadas durante a hibridização e também a marcação de microrganismos já conhecidos e identificados no microbioma periodontal.

Em 2003, a ideia da doença periodontal como uma consequência de sucessão ecológica foi reforçada pelo estudo de Marsh (Marsh et al, 2003). Segundo o autor, fatores ambientais



atuariam de maneira regulatória, alterando a dinâmica da composição microbiana. Esse trabalho resultou em uma nova hipótese para a patogênese das doenças bucais, a Teoria Ecológica da Placa, na qual ganharam destaque as relações de seleção e enriquecimento de bactérias putativas para a doença periodontal.

É importante ressaltar, ainda, que embora os estudos citados (Tabela 1) apresentem limitações metodológicas, todos serviram como suporte para que se desenvolvesse o entendimento da doença periodontal vigente na atualidade, que por sua vez, não deve ser considerado como definitivo.

O objetivo do presente estudo foi realizar uma revisão crítica dos principais avanços no conhecimento do microbioma periodontal, apresentando os impactos clínicos diretos nessa mudança de paradigma.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

Foi realizada a busca por publicações nas bases de dados PubMed, Lilacs e Scielo, com a inclusão de artigos em língua portuguesa e inglesa no período de 2000 a 2021. Os artigos selecionados deveriam ser do tipo ensaio clínico controlado randomizado, estudos *in vitro* ou revisões sistemáticas e de literatura. Artigos do tipo opinião de especialista também foram utilizados a fim de embasar o entendimento inicial do assunto. Para seleção de artigos, foram utilizadas as palavras-chave doença periodontal, tratamento não cirúrgico, efeitos clínicos, efeitos microbiológicos, antibióticos, antimicrobianos, probióticos, prebióticos e anti-inflamatórios. Os títulos e resumos dos artigos eleitos nesta primeira fase de pesquisa foram revisados e, quando possível, obtidos de maneira integral.

Ademais, por se tratar de uma revisão crítica que tem o intuito de analisar os avanços no entendimento da etiopatogenia da doença periodontal, foram incluídos também estudos clássicos, a fim de se realizar uma investigação comparativa dos principais achados ao longo do tempo.

Por fim, os dados clínicos e microbiológicos obtidos por meio das bases de dados servirão para o desenvolvimento de uma análise comparativa e as principais alternativas terapêuticas serão discutidas, levantando limitações e vantagens importantes para a prática clínica.

## **NOVA CLASSIFICAÇÃO DAS DOENÇAS PERIODONTAIS**

A Nova Classificação de doenças periodontais e peri-implantares foi desenvolvida em um Workshop de especialistas no ano de 2017, com o intuito de permitir correlações mais factíveis entre os achados clínicos e as diferentes condições associadas às doenças periodontais. Nessa classificação, não só os diferentes níveis de doença são delimitados, mas também as condições associadas à saúde recebem atenção especial (Chapple et al, 2018).

As condições anteriormente conhecidas como periodontite crônica e periodontite agressiva englobam agora uma única classe, denominada “periodontite”, em concordância com estudos recentes, os quais mostram que quadros distintos da doença poderiam se dar em razão de mudanças na conformação do microbioma periodontal e de trocas metabólicas específicas (Hajishengallis et al, 2012). Ademais, para identificar os diferentes quadros clínicos possíveis em periodontite, são usadas as subclassificações de estádios e graus, os quais representam quantidade de perda de inserção clínica e progressão da doença, respectivamente.

Outra importante contribuição da Nova Classificação das Doenças Periodontais consiste na identificação e categorização de fatores de risco locais e condições sistêmicas associadas à periodontite. Dessa maneira, é abordada a relação hospedeiro-doença, na qual se entende que pacientes com doenças sistêmicas podem apresentar respostas distintas em relação a uma mesma quantidade de placa bacteriana, quando comparados com pacientes saudáveis do ponto de vista sistêmico (Chapple et al, 2018).

## SEQUENCIAMENTO GENÉTICO

O sequenciamento genético permitiu o estudo de microrganismos não cultiváveis, superando uma limitação comum à literatura pregressa. Desde o desenvolvimento do sequenciamento de primeira geração, como o sequenciamento de Sanger (Sanger et al, 1975), inúmeras foram as evoluções no campo genômico. A iniciativa do Projeto Genoma Humano, seguida pelo *Human Microbiome Database* e mais tarde pelo *Human Oral microbiome Database*, associada ao avanço metodológico presente nessa área, corroboraram para um sequenciamento mais acessível sobre o ponto de vista comercial e técnico.

Em pesquisas recentes, as abordagens *amplicon* e *shot-gun* são as mais comumente utilizadas, tendo suas diferenças explicitadas em diversos estudos (Laura S. et al, 2020; Chen H et al, 2014; Zaura et al, 2012; Tessler, M et al, 2017). Nesse sentido, a abordagem *amplicon* tem como vantagens o custo menor e os recursos operacionais mais simplificados, no entanto os dados fornecidos se mostram limitados quando comparados à abordagem *shot-gun*. Na abordagem *shot-gun*, diferentemente da *amplicon*, há o sequenciamento do metagenoma como um todo. Dessa forma, além de uma visão mais ampla dos microrganismos contidos em uma amostra, com maior cobertura de dados, há acesso também a vias metabólicas e processos funcionais, sendo possível estabelecer relações entre táxons,

genes e funções. Nesse sentido, a partir dos dados obtidos por meio de sequenciamento, são realizadas análises transcriptômicas e proteômicas por meio de *softwares*, a fim de perceber não só quais microrganismos estão ativos na microbiota bucal, mas também quais vias metabólicas são enriquecidas por esses microrganismos. Esses dados, por sua vez, podem ser importantes para a definição de novas abordagens terapêuticas, como será explicitado neste trabalho.

## FUNGOS, ARCHEAS E VÍRUS

O avanço nas metodologias de sequenciamento genético, em especial o desenvolvimento de estudos metagenômicos, permitiu expandir o conhecimento do microbioma bucal para domínios além dos procariontes. Embora estudos preliminares indiquem uma participação de fungos, vírus e archea em apenas 5% da massa do metagenoma encontrado no biofilme subgingival, esses microrganismos parecem apresentar correlações metabólicas com a patogênese periodontal (Dabdoub et al, 2016).

Estudos demonstraram que a prevalência de leveduras foi maior em indivíduos com doenças periodontais graves, em comparação com indivíduos periodontalmente saudáveis. Além disso, *Candida albicans* e *Malassezia* foram identificados como os fungos mais prevalentes no microbioma bucal (Diaz et al, 2020). Nesse sentido, *C.albicans* parece atuar, segundo estudos recentes, por meio de coagregação, coadesão, proteção oxidativa e invasão epitelial, interagindo com importantes periodontopatógenos como *P. Gingivalis* e *Fusobacterium nucleatum*. Apesar de seu potencial patogênico, esse fungo foi classificado como comensal em estudos metagenômicos, por apresentar abundância relativa diminuída em periodontite, quando comparada a sítios saudáveis. Os achados de estudos

metagenômicos são intrigantes e necessitam de complementação, a fim de revelar o papel funcional e as relações patogênicas estabelecidas por *Candida albicans*, entre outros fungos (Canabarro et al, 2013; Sztukowska et al, 2018; Bartnicka et al, 2019; Tamai et al, 2011).

As arqueas, por sua vez, foram identificadas na cavidade bucal no biofilme subgengival e parecem estar associadas ao microbioma patogênico periodontal. Os filos identificados com maior prevalência na placa subgengival foram *Methanobrevibacter smithii*, *Methanosphaera stadtmanae* e *Methanobrevibacter oralis*, segundo estudos metagenômicos recentes. Além disso, a identificação de arqueas no microbioma bucal apresentou correlação com a gravidade da doença periodontal (Huynh et al, 2015; Belay et al, 1988). Sob o ponto de vista funcional, análises demonstraram associação entre fermentação bacteriana e vias metabólicas estabelecidas pelas arqueas em sítios com periodontite. Sugere-se, nesse sentido, que as arqueas poderiam criar um ambiente periodontal disbiótico, por meio de relações sintróficas com bactérias anaeróbias e coagregação com importantes periodontopatógenos (Horz et al, 2015; Stams et al, 2009).

A presença de vírus na cavidade bucal também tem sido foco de investigações na busca por correlações com o desenvolvimento e agravamento de doenças periodontais. De maneira geral, Citomegalovírus, Herpes simplex vírus, Epstein-Barr vírus e Papilomavírus foram identificados como as espécies virais mais prevalentes em periodontite (Diaz et al, 2020). Nesse sentido, estudos sugerem a existência de uma correlação positiva entre a presença de Epstein-Barr e citomegalovírus em sítios bucais e a gravidade de quadros periodontais, além da associação desses vírus com a presença de periodontopatógenos na cavidade bucal (Yost et al, 2015). Embora múltiplos estudos demonstrem correlações entre a presença de vírus da família herpes e

condições periodontais, pouco se sabe sobre os mecanismos intrínsecos que poderiam estar associados à patogênese periodontal. Além disso, deve-se atentar para a colonização facilitada de vírus e fungos em indivíduos imunossuprimidos, os quais apresentam também diferentes respostas a processos inflamatórios, portanto consistindo em um fator confundidor.

## **FATORES AMBIENTAIS E DOENÇA PERIODONTAL**

O curso da doença periodontal parece estar associado, direta ou indiretamente, a fatores genéticos, sistêmicos e comportamentais, como descrito em diversos estudos. Nesse sentido, realizamos o levantamento de alguns dos principais fatores externos relacionados a essa doença e suas possíveis implicações na etiopatogenia periodontal, sob o ponto de vista dos estudos transcriptômicos. E assim, destacamos como os avanços nas técnicas de análise microbiológica permitiram a ampliação do conhecimento da composição do microbioma como um todo em indivíduos que apresentam periodontite associada a fatores externos tais como diabetes melito, tabagismo estresse e dieta. A partir da observação de que a inflamação é um aspecto comum em tais fatores, faz-se necessário o entendimento da relação com a composição e alterações do microbioma.

Em adição a isso, cabe analisar se nos indivíduos com periodontite em progressão, a presença de fatores externos contribui ainda mais para mudanças no perfil metatranscriptômico, levando ao enriquecimento das vias de biossíntese de lipídeo A, resposta de estresse oxidativo, motilidade flagelar e transporte de aminoácidos, ferro e potássio, que em última instância, parecem contribuir para o aumento do potencial patogênico de uma comunidade microbiana (Yost et al, 2015).

Bactérias presentes na comunidade microbiana desbiótica se beneficiam das condições favorecidas pela inflamação e passam a regular o ambiente periodontal. Ao mesmo tempo, o

crescimento seletivo das bactérias inflamatórias perpetua a destruição tecidual e, assim, se estabelece um ciclo vicioso de destruição e favorecimento ao crescimento de determinadas espécies (Hajishengallis et al, 2014).

## **INFLUÊNCIA DO DIABETES MELLITUS NO MICROBIOMA PERIODONTAL**

A relação entre diabetes e periodontite tem sido bem documentada em ensaios clínicos e estudos epidemiológicos, permitindo demonstrar uma associação entre a gravidade da doença e diabetes mal controlada (Polak et al, 2018). Nessa perspectiva, os estudos transcriptômicos permitem aprofundar os conhecimentos anteriormente desenvolvidos, possibilitando o entendimento de alterações microbiológicas específicas e vias metabólicas. Embora a literatura vigente seja escassa e as análises limitadas a amostras pequenas, é notável uma mudança de paradigma nessa área, podendo inclusive contribuir para novas abordagens terapêuticas, considerando-se não só o impacto dos altos níveis glicêmicos em processos inflamatórios e, portanto, no curso da doença periodontal, mas também a influência da carga inflamatória sistêmica presente na periodontite sobre o controle de diabetes.

Sob o ponto de vista microbiológico, estudos recentes parecem demonstrar diferenças significativas na composição microbiana de indivíduos portadores de diabetes. Em um estudo comparando 12 indivíduos com periodontite crônica e diabetes tipo 2 não controlada, e 11 indivíduos com periodontite crônica grave e não diabéticos (Casarin et al, 2013), mudanças importantes foram notadas no perfil microbiano dos diabéticos. Indivíduos portadores de diabetes apresentaram porcentagem

total maior dos gêneros *TM7*, *Aggregatibacter*, *Neisseria*, *Gemella*, *Eikenella*, *Selenomonas*, *Actinomyces*, *Capnocytophaga*, *Fusobacterium*, *Veillonella* e *Streptococcus*, e menores porcentagens de *Porphyromonas*, *Filifactor*, *Eubacteriumma*, *Synergistetes* e *Tanergistetes* ( $p < 0,05$ ). Outro estudo, comparando indivíduos sistemicamente e periodontalmente saudáveis, indivíduos com diabetes e sem periodontite, indivíduos com diabetes tipo 2 e sem periodontite, e indivíduos portadores de diabetes tipo 2 e periodontite (Zhou et al, 2013), por meio de pirosequenciamento 16S rRNA, realizou a análise filogenética e de distribuição de OTUs. Dessa forma, foram identificadas diferenças significativas na abundância de três filos (*Actinobacteria*, *Proteobacteria* e *Bacteroidetes*), dois gêneros (*Actinomyces* e *Aggregatibacter*) e seis OTUs, quando comparados indivíduos diabéticos ou não, portadores de doença periodontal. Os dados apresentados, embora sejam intrigantes e confirmem a influência da diabetes mellitus sobre a composição do microbioma periodontal, não permitem definir uma relação de causalidade, sendo necessários mais estudos, se possível com número amostral mais amplo e desenho longitudinal, a fim de elucidar os mecanismos associados a essas alterações microbiológicas.

Sob o ponto de vista metabólico, por sua vez, parece haver um consenso maior sobre os mecanismos responsáveis pelo agravamento do estado periodontal em pacientes diabéticos. De acordo com estudos recentes (Bastos et al, 2012; Huang et al, 2015) a hiperglicemia percebida em indivíduos com diabetes não controlada parece causar um estado hiper-inflamatório nos tecidos periodontais, corroborando para o agravamento do quadro clínico de periodontite. Nesse processo, mediadores inflamatórios como TNF- $\alpha$ , IL6 e IL- $\beta$ , encontrados amplamente no fluido crevicular de diabéticos com doença periodontal,



parecem ter papel fundamental. Esse estado hiper-inflamatório pode interferir no microbioma direta ou indiretamente.

Em adição a isso, há evidências que suportam a relação entre o controle de diabetes e a carga inflamatória em quadros de periodontite. Nesse sentido, estudos sugerem que o estresse oxidativo sistêmico aumentado devido à infecção periodontal pode ativar vias metabólicas relacionadas ao estado pró-inflamatório sistêmico, com isso agravando o curso da diabetes (Allen et al, 2011; Bastos et al, 2012). Dessa forma, a literatura tende a confirmar uma relação bidirecional entre as doenças diabetes e periodontite.

Sob a ótica de estudos mais recentes, em um ensaio clínico longitudinal foram comparados achados microbiológicos e transcriptômicos de grupos contendo indivíduos apresentando diabetes associada (8) ou não a periodontite (7), com indivíduos sistemicamente saudáveis com (8) ou sem periodontite (8). Nesse estudo, foram comparadas variáveis dos grupos saudável e com diabetes mellitus em uma avaliação inicial e em visitas subsequentes no período de quatro a sete semanas após a primeira intervenção com terapia mecânica convencional, quando houvesse retorno ao quadro de saúde periodontal em ambos os grupos. Como resultado, os microrganismos presentes após a remissão dos sinais clínicos de periodontite apresentaram maiores semelhanças com a microbiota inicial no grupo com diabetes mellitus, quando comparados ao grupo sistemicamente saudável, no qual as mudanças microbianas foram mais representativas após terapia convencional. Além disso, havia alta abundância relativa de microrganismos associados a periodontite no grupo com diabetes, mesmo quando esses indivíduos apresentavam sinais clínicos compatíveis com saúde periodontal. Além disso, um conjunto de genes foi identificado como sendo potencialmente associados a progressão da doença periodontal. Esses genes, por sua vez, foram enriquecidos significativamente em 21 vias, estabelecendo relações potenciais entre diabetes tipo 2 e periodontite. Sugere-se, nesse sentido, que indivíduos portadores diabetes mellitus seriam mais susceptíveis a mudanças metabólicas em direção à disbiose devido a

deficiências na regulação metabólica e na resposta imune do hospedeiro (Shi et al, 2019). Em um estudo proteômico, os níveis de titina, elastase de neutrófilos e mieloperoxidase foram maiores nos grupos com doença periodontal associada a diabetes mellitus, quando comparados a indivíduos que apresentavam apenas doença periodontal, sugerindo que os mecanismos de adesão celular e resposta imunológica do hospedeiro estariam associados a progressão da doença periodontal (Marinho et al, 2018). Sob o ponto de vista clínico, é esperado que os pacientes portadores de diabetes recebam atenção individualizada, visto o potencial de agravamento dos quadros periodontais nesses casos.

## **INFLUÊNCIA DO TABAGISMO NO MICROBIOMA PERIODONTAL**

O uso de tabaco está relacionado a uma série de condições de saúde, tais como halitose, câncer oral e periodontite (Ogba et al, 2018). Por essa razão, diversos estudos têm se dedicado a esclarecer as implicações clínicas, microbiológicas e metabólicas da exposição ao tabaco no curso de diversas doenças, em destaque a relação já bem estabelecida entre tabagismo e doença periodontal.

Sob o ponto de vista microbiológico, há indícios que corroboram para uma associação entre uso de produtos contendo tabaco e o desenvolvimento de uma microbiota mais patogênica. Nesse aspecto, é possível que fatores como agregação bacteriana facilitada em células epiteliais de fumantes e diminuição da tensão de oxigênio local facilitem a colonização de microrganismos patogênicos, em especial anaeróbios (Buduneli, 2020). Ademais, estudos mostram que pacientes submetidos com êxito a tratamentos para cessação de fumar apresentam microbiota distinta (mais parecida com a microbiota em saúde)

após um acompanhamento de 1 ano, quando comparados com indivíduos fumantes (Delima et al, 2010).

Em outro estudo recente, verificou-se o potencial do tabagismo como fator modificador da doença periodontal. Nesse sentido, o cigarro parece ser capaz de modificar o micronicho periodontal em direção a uma condição pró- inflamatória e oxidativa, corroborando para a seleção de bactérias patogênicas e supressão da microbiota comensal. Verificou-se, ainda, por meio de análises proteômicas e transcriptômicas, que a exposição de tabaco a um nicho contendo bactérias comensais (consistindo em *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis*, *Actinomyces naeslundii*, *Neisseria mucosa* e *Veillonella parvula*) e patogênicas (compreendendo *S.oralis*, *S.sanguis*, *S.mitis*, *A.naeslundii*, *N.mucosa* e *V.parvula*, *Fusobacterium nucleatum*, *Porphyromonas gingivalis*, *Filifactor alocis*, *Dialister pneumosintes*, *Selenomonas sputigena* comunidades *noxia*, *Catonella morbi*, *Parvimonas micra* e *Tannerella forsythia*) *in vitro* alterou a expressão proteica desses microrganismos. Nessa perspectiva, a exposição ao cigarro diminuiu significativamente a ativação metabólica de funções essenciais no microbioma comensal, enquanto aumentou a expressão de genes de virulência relacionados a função flagelar, síntese de cápsulas e lipopolissacarídeos (LPS). Além disso, biofilmes ricos em patógenos apresentaram vias metabólicas com expressão aumentada em resposta à exposição ao tabaco (Shah et al, 2017).

Sob o ponto de vista clínico, o consumo de tabaco parece dificultar o processo de recuperação da homeostase tecidual após um desafio periodontal, diminuindo a responsividade dos sítios após tratamento periodontal cirúrgico e não cirúrgico (Nociti et al, 2015; Haesman et al, 2006; Kotsakis et al, 2015)..Percebe-se, ainda, um certo grau de mascaramento dos sinais clínicos como sangramento à sondagem, em pacientes tabagistas, visto a

influência local e sistêmica da supressão vascular causada por compostos presentes no tabaco (Buduneli et al, 2018). Dessa forma, sugere-se ao cirurgião dentista parcimônia ao avaliar os achados clínicos em pacientes tabagistas e, ainda, a recomendação desses pacientes a programas de cessação de fumar sempre que possível.

## **INFLUÊNCIA DO ESTRESSE NO MICROBIOMA PERIODONTAL**

O estresse pode ser descrito como um conjunto de alterações físicas e psicológicas em resposta a um estímulo ou doença. Embora a associação entre estresse e doenças periodontais necrosantes esteja bem estabelecida e documentada em estudos anteriores (S A Cohen-Cole et al, 1983), há ainda uma lacuna inerente à influência entre fatores estressantes e periodontite crônica, classificação anterior das doenças periodontais, ou periodontite estádios e graus, de acordo com a classificação atual. Nesse sentido, estudos recentes apresentam dados conflitantes quanto às alterações microbiológicas que poderiam acarretar em uma condição periodontal patológica, no entanto parece haver uma responsividade entre microrganismos contidos na cavidade bucal e hormônios do estresse, alterando potencialmente não só a atividade de microrganismos específicos, mas também a ecologia desse microbioma, acarretando em um ambiente mais patogênico. Dessa forma, análises transcriptômicas permitiram observar a ativação aumentada de microrganismos do filo *Fusobacterium* em resposta à presença de cortisol (Duran Pinedo et al, 2018). Além disso, atividades relacionadas à progressão da doença periodontal e disbiose, como resposta imune do hospedeiro, proteólise, transporte de oligopeptídeos e montagem de flagelo

também foram identificadas como enriquecidas durante análises funcionais (Yost et al, 2015; 2017), em reação ao aumento desse mesmo hormônio. Ademais, adrenalina e noradrenalina parecem aumentar a expressão gênica relacionada a fatores de virulência e estresse oxidativo, quando na presença de *P. Gingivalis* (Graziano et al, 2014). Sob o ponto de vista clínico, é recomendada a investigação dos fatores relacionados aos episódios de estresse, no intuito de controlar a exposição do paciente a essas condições, tornando a resolução do quadro clínico potencialmente mais simples.

## **INFLUÊNCIA DA DIETA NO MICROBIOMA PERIODONTAL**

A colonização de nichos microbianos no corpo humano, em especial a cavidade bucal, é resultado de uma série de sucessões ecológicas influenciadas, entre outros fatores, pelos hábitos dietéticos de cada indivíduo. Embora a relação entre consumo de carboidratos e doença cárie seja bem estabelecida (Gustafsson et al, 1954; Zero et al, 2004; Chapple et al, 2017), faltam dados robustos capazes de apontar associações específicas entre dieta e doença periodontal. Nesse sentido, cabe ressaltar a escassez de estudos realizados com o intuito de sanar esta lacuna na literatura, em partes explicada pela complexidade de mecanismos envolvidos na etiopatogenia da doença periodontal e o desafio inicial de cultura de espécies anaeróbias estritas presentes em profundas bolsas periodontais (dificuldade atualmente superada pela utilização da metodologia de sequenciamento).

Estudos comparativos entre a microbiota salivar de indivíduos praticantes de dietas onívora, vegetariana e vegana não apresentaram diferenças estatisticamente significativas em

relação à composição microbiana ou beta-diversidade dos envolvidos (Filippis F et al, 2014). Em contrapartida, formas de amamentação (leite materno x fórmula) em recém nascidos parecem contribuir para diferentes composições microbianas na primeira infância, com a contribuição de espécies de *Lactobacilos*, encontrados no leite materno, na inibição do crescimento de *S. mutans* e *S. Sanguinis* (Holgerson et al, 2013). Micronutrientes também parecem desenvolver um papel modificador na etiologia da doença periodontal, visto que a prevalência de periodontite em indivíduos de diferentes populações apresenta diminuição quando há aumento do consumo e dos níveis plasmáticos de vitamina C nesses sujeitos (van der Velden et al. 2011). Além disso, níveis baixos de magnésio, cálcio e micronutrientes antioxidantes apresentaram correlação significativa com quadros clínicos mais graves de doenças periodontais (Meisel et al. 2005, Iwasaki et al. 2010, van der Velden et al. 2011 ). Cabe ressaltar, sob esse aspecto, que as carências nutricionais citadas são comumente encontradas em indivíduos de baixa renda, muitas vezes sem acesso a informação ou a tratamentos odontológicos, corroborando assim para a evolução do curso da doença.

Em síntese, há indícios que uma dieta anti-inflamatória, pobre em carboidratos e rica em vitamina C, vitamina D, antioxidantes e fibras pode reduzir os sinais clínicos de gengivite e periodontite, por serem doenças de natureza fundamentalmente inflamatória (Woelber et al, 2019). No entanto, os aspectos microbiológicos e metabólicos envolvidos nesse processo parecem ainda pouco evidentes, havendo a necessidade de amplos ensaios clínicos, capazes de sanar possíveis fatores confundidores e estabelecer relações confiáveis.

## **IMPACTO DOS AVANÇOS DO ENTENDIMENTO DO MICROBIOMA NAS FORMAS DE CONTROLE DA PERIODONTITE**

Embora os microrganismos presentes na cavidade bucal sejam responsáveis pelo desenvolvimento de doenças, não seria possível ou prudente eliminar por completo os componentes do microbioma periodontal, visto o papel protetor dos microrganismos comensais e as relações simbióticas entre microrganismos de todo o corpo humano. (Kapila et al, 2021). Nesse sentido, as formas de controle do microbioma periodontal têm por objetivo modular as relações microbianas e garantir a manutenção da saúde bucal. Para alcançar esse propósito, antibióticos, anti-inflamatórios, probióticos e prebióticos se apresentam como alternativas viáveis. As particularidades de cada abordagem terapêutica serão elencadas neste estudo.

### **PREBIÓTICOS**

Prebióticos são definidos como componentes alimentares capazes de afetar benéficamente o hospedeiro por meio da estimulação seletiva da proliferação de bactérias desejáveis em um nicho (Gibson et al, 2010). Quando estes componentes alimentares são administrados em conjunto com probióticos, são classificados como simbióticos. A utilização de prebióticos e probióticos em conjunto parece fornecer vantagens adaptativas ao probiótico, em consequência das alterações de substrato realizadas pela inserção de um prebiótico neste nicho. (Holzapfel, Schillinger, 2002; Puupponen-Pimiä et al., 2002).

A utilização de nitrato como prebiótico reflete sua capacidade de modificar rapidamente a estrutura e funcionamento de comunidades polimicrobianas. Em um estudo *in vitro*, foram comparadas amostras de saliva de indivíduos saudáveis e acrescido nitrato para avaliar crescimento microbiano e ativação de vias metabólicas por meio de sequenciamento genético. Como resultado, observou-se redução da produção de lactato e aumento da produção de amônia, além de aumento de pH.

Ademais, os níveis microrganismos de gêneros associadas a saúde bucal foram aumentados, enquanto gêneros relacionados à halitose e à periodontite (*Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Leptotrichia*, *Prevotella*, *Allprevotella*) apresentaram diminuição (Rosier et al, 2020).

A cúrcuma, por meio do princípio ativo diferuloilmetano, também apresenta-se como importante alternativa prebiótica, em face de seu amplo espectro de ações biológicas. Em periodontite, destacamos sua eficácia como agente anti-inflamatório, antibacteriano, antiviral e antiprotozoário (Chainani- Wu et al, 2003; Singh et al, 2002). Em um ensaio clínico controlado randomizado, foram avaliados os parâmetros clínicos e alterações microbiológicas após administração de gel de cúrcuma a 1% como adjunto à terapia convencional no grupo teste. No grupo controle, foi realizada apenas a terapia convencional por raspagem e alisamento radicular. Os sítios contendo bolsas de no mínimo 5 mm foram avaliados nos períodos de 1, 3 e 6 meses, e apresentaram melhora nos índices de sangramento à sondagem, índice de placa, nível de inserção clínica e profundidade de sondagem em ambos os grupos. Em relação aos índices microbiológicos, foi possível observar diminuição estatisticamente significativa nos níveis de *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Fusobacterium nucleatum* e *capnocytophaga* nos sítios do grupo teste, após o período de 6 meses (Bhatia et al, 2014).

Embora os estudos *in vitro* reflitam vastas opções de prebióticos e propriedades potencialmente importantes para o controle de doenças bucais para além daquelas demonstradas neste artigo, ainda existe uma lacuna na literatura em relação aos efeitos clínicos alcançados por esses agentes em ensaios clínicos controlados randomizados. Em adição a isso, grupos teste utilizando terapêuticas amplamente aceitas devem ser adotados, a fim de garantir resultados mais confiáveis.

## PROBIÓTICOS



Probióticos podem ser descritos como microrganismos vivos que oferecem benefícios à saúde do hospedeiro, quando administrados em quantidade adequada (World Health Organization, 2001; Sanders, 2003). Embora os benefícios da utilização de probióticos na microbiota intestinal sejam amplamente aceitos, sua aplicação na cavidade bucal ainda é controversa.

O princípio biológico que justifica a indicação de probióticos é a existência de uma comunidade microbiana com trocas sinérgicas, as quais determinam o estado de saúde e doença de um nicho. Dessa forma, a inserção de novos microrganismos poderia interferir nas relações intrínsecas de toda uma comunidade, de forma a propiciar um ambiente mais saudável. Os mecanismos específicos envolvidos neste processo são numerosos e parecem modificar as relações de competição entre microrganismos da cavidade bucal. Entre os mecanismos desenvolvidos pelos probióticos, podemos citar a secreção de compostos antimicrobianos, liberação de substâncias que dificultam a adesão epitelial de superfícies, neutralização de toxinas, competição por nutrientes e locais de adesão e estimulação da produção de vitaminas e do sistema imune do hospedeiro (Çaglar et al, 2006; Reid et al, 2002; Silva et al, 2002).

Os estudos relacionados ao uso de prebióticos para tratamento de doenças bucais e periodontite são escassos, no entanto há evidências preliminares que parecem fornecer indícios para a sua prática clínica.

Estudos *in vitro* apontam para a utilização de espécies de *Lactobacillus* e *Streptococcus* como agentes moduladores, uma vez que apresentaram ação antibacteriana contra *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *A. actinomycetemcomitans* e *F. nucleatum* (Zhu et al, 2010; Khalaf et al, 2016). Além disso, espécies de *Lactobacillus* específicas se mostraram efetivas no controle de múltiplos grupos microbianos de interesse para a patogênese periodontal, como por exemplo a inibição de vários microrganismos anaeróbios pela inserção de *L. gasei* em um nicho (Köll et al, 2005).

Em um ensaio clínico, foram administrados sachês de *L. rhamnosus* diariamente em pacientes previamente tratados por terapia convencional e acompanhados nos períodos de 3, 6, 9 e

12 meses. Os resultados clínicos apresentados foram semelhantes àqueles obtidos no grupo controle, o qual realizou terapia mecânica convencional (Morales et al, 2016).

Em outro estudo, foram comparados indivíduos em terapia de manutenção e administrados comprimidos de *Lactobacillus plantarum* L-137 diariamente no grupo caso por três meses, enquanto o grupo controle recebeu apenas tratamento mecânico periodicamente. Os parâmetros clínicos entre grupos foram comparados nos intervalos de 4, 8 e 12 semanas, apresentando melhora nos índices clínicos ao longo do tempo em ambos os grupos. No entanto, no grupo experimental, houve redução estatisticamente significativa na profundidade de sondagem após as doze semanas (Iwasaki et al, 2016).

A utilização de prebióticos e probióticos parece consistir em alternativa importante para o tratamento de doenças periodontais, especialmente no momento em que novas teorias da etiopatogenia periodontal parecem culminar para um modelo polimicrobiano, sinérgico e disbiótico. No entanto, a escassez de estudos sobre o tema, aliada à limitação metodológica dos estudos disponíveis (número amostral pequeno, ausência de padronização de critérios de inclusão e exclusão, heterogeneidade dos participantes, entre outros fatores) não permitem sua indicação clínica baseada em evidências na atualidade. Nesse sentido, há a necessidade do desenvolvimento de novos estudos, em especial ensaios clínicos controlados randomizados e estudos transcriptômicos de boa qualidade, a fim de conduzir à prática clínica segura e eficaz. Além disso, para que os benefícios alcançados pelo consumo de probióticos e prebióticos sejam mantidos, faz-se necessária a cooperação dos pacientes, uma vez que sua administração deve ser realizada diariamente (Lee et al, 2009). Nesse sentido, concentrações seguras, número de doses diárias e formas de apresentação dos agentes devem ser analisados, a fim de avaliar os benefícios a longo prazo desta terapia alternativa.

## **ANTIBIÓTICOS**

O tratamento da doença periodontal tradicional consiste na eliminação ou diminuição dos depósitos de periodontopatógenos por meio de instrumentação mecânica, associado ao controle de biofilme. Em casos específicos nos quais a terapia convencional parece não ser suficiente para o controle da doença, a antibioticoterapia atua como terapêutica complementar.

As bases biológicas para a indicação do uso de antibióticos no controle da doença periodontal consistem na natureza infecciosa da doença, no destaque de microrganismos patogênicos (*keystones*), no curso da doença e na difusão de bactérias pelo fluido crevicular para toda a cavidade bucal. Sob esse aspecto, a antibioticoterapia sistêmica é elencada como terapêutica de escolha por alguns profissionais. As vantagens e desvantagens de cada alternativa farmacêutica serão destacadas a seguir (Haffajee et al, 2004).

Os efeitos clínicos e microbiológicos da administração sistêmica conjunta de amoxicilina e metronidazol foram avaliados em vários estudos. Como resultado, grupos de indivíduos fazendo uso de antibióticos em terapia complementar à raspagem e alisamento radicular apresentaram índices clínicos e marcadores microbiológicos mais favoráveis quando comparados àqueles que se submeteram apenas à terapia convencional, ou à terapia antibiótica isolada. Fatores como sangramento à sondagem, índice de placa, profundidade de sondagem e nível de inserção clínica apresentaram melhora nos grupos em que a antibioticoterapia foi administrada de maneira adjunta à terapia convencional. Nos grupos em que a administração de antibióticos foi realizada de maneira isolada, no entanto, os índices clínicos avaliados apresentaram resultados menos promissores. Além disso, houve a redução dos níveis de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aa), *Porphyromonas gingivalis* (Pg), *Tannerella forsythia* (Tf) e *Prevotella intermedia* (Pi) em grupos que receberam antibióticos como terapia complementar (Berglundh et al, 1998; Winkel et al, 1998).

Em um recente estudo de revisão sistemática e de meta análise, Teughels et al, 2020, concluíram que o uso sistêmico de antimicrobianos em pacientes com periodontite deve ser restrito a certos pacientes e a certas condições periodontais, como em formas graves e progressivas de periodontite. Os autores relataram que não há indicações de que o efeito dos

antimicrobianos sistêmicos seja diferente entre pacientes com periodontite crônica e agressiva (conforme classificação das doenças periodontais de 1999) (Teughels et al, 2020).

Além disso, Feres et al (Feres et al. 2020) propuseram parâmetros de avaliação clínica (*end point*) para se alcançar a remissão ou controle da doença em ensaios periodontais randomizados. De acordo com a proposta dos autores, o ponto clínico final de  $\leq 4$  sítios com PS  $\geq 5$ mm e 10 a 20% sítios com sangramento é eficaz na determinação da remissão/controle da doença após o tratamento periodontal ativo e, portanto, pode representar um ponto final pertinente para a aplicação do conceito de tratamento-a-alvo em ensaios clínicos randomizados. Segundo Feres et al. (2020, o resultado foi considerado um desfecho promissor para o tratamento porque foi capaz de discriminar os efeitos de diferentes tratamentos periodontais e foi precisamente correlacionado com mudanças microbiológicas causadas por tratamentos em que se utilizou terapia antimicrobiana como coadjuvante (Feres et al., 2012; 2015; Tamashiro et al., 2016; Borges et al., 2017).

Dessa forma, os dados disponíveis na literatura parecem corroborar para uma indicação de antibioticoterapia sistêmica como terapêutica adjunta ao debridamento manual, em especial em pacientes com periodontite de recorrência ou periodontite grave (atualmente classificada como periodontite de estágios 3 ou 4 e grau C, ou ainda padrão molar incisivo). No entanto, cabe salientar a importância de uma avaliação individualizada, tendo em vista, primeiramente, o papel central da remoção mecânica do biofilme no sucesso da terapia periodontal e, que muitas vezes, juntamente com o controle de placa, mostra-se eficaz no controle da doença, conforme se evidencia na melhora dos índices clínicos. Além disso, devem ser ponderados os riscos inerentes à utilização de medicamentos, bem como a necessidade de prescrição adequada e adesão do paciente ao tratamento, a fim de evitar resistência antibiótica e permitir o sucesso da terapia escolhida.

O uso sistêmico de antibióticos permite penetração em tecidos periodontais não acessíveis à instrumentação mecânica ou a dispositivos de liberação local, além de realizar o controle da sítios não relacionados aos dentes, como língua e tonsilas, prevenindo reinfecções. No entanto, essa modalidade de

tratamento está associada ao risco aumentado de efeitos adversos quando comparado com dispositivos locais. Nesse sentido, uma série de antimicrobianos de efeito local apresentam-se como adjuntos importantes para o manejo da doença periodontal (Bidault et al, 2007). Em uma análise sistemática, foram comparados estudos com diferentes agentes antimicrobianos de liberação local como adjuntos à terapia convencional. Os estudos incluídos analisavam alterações clínicas provenientes da utilização de quatro agentes terapêuticos distintos (gel de minociclina, minociclina microencapsulada, chip de clorexidina e gel de doxiciclina). Como resultado, os estudos apresentaram aumento estatisticamente significativo no ganho de inserção clínica nos grupos em que a terapia antibiótica local era associada ao debridamento mecânico, quando comparados à terapia convencional isolada. Além disso, não foram relatados efeitos adversos importantes nos indivíduos submetidos a essa forma de intervenção (Hanes et al, 2003). Em outra revisão sistemática, os efeitos da terapia adjunta utilizando *chip* de clorexidina foram analisados, resultando em melhora nos níveis de inflamação gengival, sangramento à sondagem, profundidade de bolsa e composição microbiana. Dois estudos mostraram diminuição estatisticamente significativa nos sítios contendo *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia* e *Porphyromonas gingivalis* quando tratados com chips de clorexidina em adição à terapia convencional (Ma et al, 2020; Singh et al, 2018; Kumar et al, 2014).

Em adição a esses fatores, a utilização de doses subantimicrobianas de doxiciclina parece desenvolver papel direto e indireto no controle da doença periodontal, pela inibição de biomarcadores e mediadores inflamatórios incluindo interleucina 1 beta, fator de necrose tumoral alfa, interleucina 6, interleucina 17, quimioatraente de monócitos, metaloproteinases de matriz e fragmentos de colágeno do tipo 1. (Elavarasu et al, 2012; Golub et al, 2008, Golub et al, 2019) Além disso, a utilização de derivados de tetraciclina como coadjuvantes ao tratamento tradicional foi capaz de inibir a atividade da elastase e reduzir os níveis patologicamente excessivos de espécies reativas de hidrogênio e óxido nítrico no fluido crevicular, resultando na melhora de sinais clínicos como

nível de inserção clínica, profundidade de sondagem, perda óssea verificada radiograficamente e sangramento à sondagem (Golub et al, 1994; Giannobile et al, 1998; Giannobile et al, 2008; Giannobile 1998; Novak et al,2008; Needleman et al, 2007).

Em suma, a literatura atual parece suportar a indicação da utilização de agentes antimicrobianos de liberação local como terapia adjunta à terapêutica convencional. No entanto, há uma variedade significativa de agentes antimicrobianos e meios de liberação disponíveis, o que pode causar dúvidas na prática clínica. Nesse sentido, critérios como retenção e concentração do agente escolhido no fluido crevicular devem ser considerados no momento da escolha do agente antimicrobiano (Joshi et al, 2016) e a seleção da forma de liberação local deve levar em conta não só as particularidades anatômicas dos dentes envolvidos, mas também a habilidade do operador em utilizar corretamente o dispositivo em questão.

## **ANTI- INFLAMATÓRIOS**

O processo de desenvolvimento da doença periodontal parece culminar na seleção e enriquecimento de uma comunidade microbiana inflamofílica. Fatores como interações sinérgicas de proteção contra o sistema imune do hospedeiro, aquisição de nutrientes e resiliência em ambiente inflamatório são características comuns às comunidades microbianas desbióticas presentes em periodontite. Nesse sentido, as bactérias presentes na comunidade microbiana disbiótica parecem se beneficiar das condições favorecidas pela inflamação, atuando como papel regulatório no ambiente periodontal. Por sua vez, o crescimento seletivo das bactérias inflamatórias pode perpetuar a destruição tecidual própria da doença periodontal, resultando em um ciclo vicioso para a progressão da doença (Hajishengallis et al, 2014). A administração de anti-inflamatórios tem o objetivo de modificar o ambiente e alterar a resposta do hospedeiro, dessa maneira rompendo a relação hospedeiro-microbiota capaz de perpetuar a doença periodontal.

O desenvolvimento de bolsas periodontais profundas, próprias da periodontite de estágios 3 e 4, corrobora para a seleção de microrganismos anaeróbios estritos e putativos (aqueles conhecidos pelo seu papel patogênico), além de criar um micro nicho propício à manutenção de um estado inflamatório (Chapple et al, 2016). Nesse sentido, parece prudente que os anti-inflamatórios sejam administrados como terapia adjunta no controle da doença periodontal, em especial nos quadros de remissão ou naqueles em que as condições do paciente propiciem essa indicação (pacientes com boa higiene bucal porém com condições sistêmicas predisponentes à doença).

A indicação de anti-inflamatórios não esteroidais para o manejo da doença periodontal se baseia na inibição seletiva de cicloxigenase, prevenindo, por meio de uma cascata de reações, a síntese de prostaglandinas, tromboxanos e prostacilinas. Nessa relação, pode-se destacar a inibição da prostaglandina E2, pela sua forte correlação com a gravidade da doença periodontal (Drisko et al, 1996; Offenbacher et al, 1986). Como efeito dessas alterações, estudos experimentais em ratos demonstraram redução da reabsorção óssea por meios radiográficos. Nos estudos, o processo de desenvolvimento da doença periodontal foi simulado pela inserção de ligaduras no colo dentário dos molares em ratos e foram comparados grupos sem intervenção e com a utilização de anti- inflamatórios não esteroidais. Como resultado, os grupos que fizeram uso de anti-inflamatório (Meloxicam) por um período de 15 dias apresentaram redução na perda óssea, enquanto os grupos que fizeram uso de sulfato de dextrana por 27 dias não apresentaram diferenças significativas quanto à perda óssea. Nesse aspecto, o tempo decorrido parece ser o fator modificador, uma vez que os ratos que receberam Meloxicam também não apresentaram alterações significativas em um período de 30 dias (Nassar et al, 2003; Johnson et al, 1975).

Em humanos, os efeitos da terapia anti-inflamatória para controle da doença periodontal foram avaliados não apenas em relação à perda óssea, mas também em relação às condições clínicas apresentadas pelos pacientes. Foram comparados diferentes anti-inflamatórios não- esteroidais, sob desenhos de pesquisa também distintos. Como resultado, fatores como nível de placa, índice de sangramento gengival, profundidade de bolsa,

recessão gengival e nível de inserção clínica apresentaram melhora quando comparados os grupos controle e sob uso de anti-inflamatórios (Waite et al, 1981; Feldman et al, 1983).

No entanto, alguns estudos apresentaram resultados conflitantes em relação à perda óssea alveolar- nestes, não parece haver diferença significativa em relação a grupo teste e controle (Heasman & Seymour, 1990). E ainda, não há evidências que suportem uma relação direta entre tempo de uso de anti-inflamatórios esteroidais e redução dos níveis de inserção clínica. Em suma, o uso de anti-inflamatórios parece oferecer vantagens clínicas em relação aos grupos controle, na maior parte dos estudos. Contudo, diferenças nos desenhos de estudo como tempo de administração da droga e das checagens, idade dos indivíduos e condições sistêmicas devem ser considerados a fim de permitir avaliação e indicação clínica mais precisas. Nesse sentido, faz-se necessário o desenvolvimento de estudos adicionais sistematizados no intuito de preencher lacunas na literatura. Na prática clínica, a prescrição deve ser realizada com cautela e sob avaliação minuciosa de cada particularidade do indivíduo e seu quadro clínico.

## **DISCUSSÃO**

Embora a etiopatogenia das doenças periodontais seja alvo de estudos de longa data, essa continua a ser uma das condições de maior prevalência na atualidade. Estudos apontam a periodontite como a segunda doença bucal mais prevalente no mundo, e quarta doença mais frequente na lista de doenças globais (Marcenes et al, 2013; Vos et al, 2012). Nesse sentido, este estudo se propôs a uma análise dos avanços na identificação do microbioma periodontal e as implicações nas formas de controle da doença.

A doença periodontal foi inicialmente descrita como uma resposta inflamatória ao depósito de múltiplos microrganismos em um nicho por um período prolongado, na Teoria não Específica da doença periodontal. Esse entendimento prévio da doença periodontal corroborou para o desenvolvimento da



terapia mecânica convencional como opção terapêutica principal. Não obstante a eficácia desse tratamento, em especial para os pacientes portadores de gengivite, a eficácia da raspagem e alisamento radicular depende de fatores ligados à destreza do profissional e, mesmo entre profissionais experientes, apresenta limitações em determinadas regiões, como áreas de furca e bolsas periodontais muito profundas.

A identificação de microrganismos específicos com qualidades importantes para a evolução da doença periodontal na Teoria Específica da Doença Periodontal, por conseguinte, corroborou para uma mudança no paradigma nas formas de tratamento de doenças bucais. Nesse período, preparos cavitários mais extensos objetivavam eliminar por completo o tecido cariado e os microrganismos entendidos até então como únicos responsáveis pela progressão das lesões cariosas. Em paralelo a isso, embora a forma de terapia empregada para o tratamento das doenças periodontais não fosse até aquele momento alterada, as pesquisas da época iniciaram uma ampla investigação sobre os agentes microbianos intimamente ligados ao desenvolvimento das doenças periodontais e ao agravamento de condições clínicas relacionadas à profundidade de sondagem, nível de inserção clínica e sangramento à sondagem. Por meio desse enfoque específico em microrganismos, a literatura vigente em meados dos anos 80 começou a revelar os patógenos que seriam considerados, nos complexos microbianos de Socransky, como os principais responsáveis pela patogênese periodontal. *P. Gingivalis* por ser um microrganismo facilmente cultivável ganhou destaque inicialmente. No entanto, os avanços tecnológicos e metodologia de sequenciamento permitiram, a longo prazo, explicitar novos patógenos periodontais e vias metabólicas importantes para o desenvolvimento da doença periodontal, como será destacado em breve.

O modelo proposto por Socransky, valendo-se da tecnologia de Hibridização DNA-DNA *checkerboard*, representa esquematicamente os principais microrganismos relacionados à doença periodontal, de forma hierárquica. Nesse modelo, bactérias comensais e patogênicas fazem parte de complexos microbianos distintos, relacionados conforme quantidade, proximidade de vias metabólicas exercidas e nível de correlação com o surgimento de sinais clínicos de periodontite. A

colonização por microrganismos patogênicos do complexo laranja e, subsequentemente os microrganismos do complexo vermelho, *P. gingivalis*, *T.denticola* e *T. forsythia* culminaria na destruição tecidual. Essa representação esquemática apresentou uma evolução significativa no entendimento dos mecanismos responsáveis pela patogenia periodontal, no entanto, configura também uma simplificação demasiada das funções exercidas pelas bactérias na cavidade bucal. Dessa forma, tende-se ao entendimento dos microrganismos como fundamentalmente bons ou ruins, excluindo-se as múltiplas funções adaptativas e vias sinérgicas e deletérias entre eles estabelecidas. Além disso, embora a forma de representação em pirâmide adotada por Socranscry tenha contribuído para o entendimento da doença periodontal e a sucessão de microrganismos envolvida nesse processo, apenas 40 espécies foram identificadas por esse estudo. Dessa forma, esse modelo corrobora para uma compreensão inicial da doença periodontal, no entanto, necessita da complementação propiciada pelo avanço das metodologias aplicadas atualmente, que são responsáveis pelo reconhecimento de múltiplos microrganismos.

A Teoria da Placa Ecológica de Marsh, por sua vez, levantou a importância do meio em que os microrganismos estão inseridos para o desenvolvimento de doenças bucais. Segundo o autor, alterações no substrato ou no pH do meio bucal, por exemplo, seriam responsáveis pelo enriquecimento de bactérias patogênicas, alterando o curso saúde-doença. Essa teoria explicita a participação do hospedeiro no desenvolvimento da doença periodontal, uma vez que o substrato bucal sofre influência de fatores como alimentação, doenças sistêmicas e microbiota residente. Nesse sentido, a utilização de prebióticos e probióticos para modulação das relações microbianas no meio bucal ganha força e é fundamentada por meio da Teoria da Placa Ecológica.

A tecnologia de sequenciamento metagenômico permitiu um conhecimento mais completo e complexo sobre os microrganismos e relações envolvidas na etiopatogenia da doença periodontal. Por meio de novas metodologias, em um estudo comparando indivíduos saudáveis e com doença periodontal, foi possível confirmar a correlação previamente estabelecida entre *P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola* e os

indicadores clínicos de doença periodontal (Socranscry et al,1991; Griffen et al, 2011). Além disso, microrganismos anteriormente não associados a essa doença ganham relevância, como por exemplo os microrganismos do gênero *Treponema* (TM7), os quais foram identificados como os mais abundantes na cavidade bucal em casos de doença periodontal. Ademais, foram identificados novos microrganismos classificados no complexo cinza, grupo destinado aos microrganismos que não apresentam atividade fundamentalmente associada a fatores patogênicos ou comensais. Esses microrganismos parecem possuir papel importante nos processos de sucessão ecológica, por estabelecerem vias metabólicas capazes de interferir na transição saúde-doença em periodontite. Outrossim, as avaliações quanto à abundância absoluta, abundância relativa e metagenômica indicam para o entendimento da doença periodontal como resultante de uma mudança ecológica na estrutura de uma comunidade microbiana, e não como consequência da alteração exclusiva de seus membros. É provável, ainda, que a mudança ecológica se dê pelo aumento de microrganismos não dominantes anteriormente, e não supressão de microrganismos associados à saúde periodontal. Nesse sentido, microrganismos do gênero *Rothia* se apresentam como os mais abundantes em saúde periodontal, seguidos pelo gênero *Actinomyces*. Esses microrganismos, embora tenham sua abundância relativa diminuída pelo enriquecimento de microrganismos do complexo cinza e patógenos, permanecem com abundância absoluta linear ao longo da patogênese periodontal (Abusleme et al, 2013).

Em outro estudo, foram mapeados 16 filos, 106 gêneros e 596 espécies de indivíduos saudáveis e com doença periodontal. Diferenças foram observadas em todos os níveis filogenéticos quando comparados os grupos de indivíduos saudáveis e com doença periodontal, sendo possível o delineamento de perfis comunitários específicos para cada condição periodontal. Os filos *Spirochaetes*, *Synergistetes* e *Bacteroidetes* foram mais abundantes na doença, enquanto as Proteobactérias foram encontradas em níveis mais altos em indivíduos saudáveis. Dentro do filo *Firmicutes*, a classe *Bacilli* foi associado à saúde, enquanto *Clostridia*, *Negativicutes* e *Erysipelotrichia* foram associados à doença. O gênero *Filifactor* foi identificado como o

mais abundante nos grupos com doença periodontal, enquanto outros microrganismos anteriormente considerados imprescindíveis para o desenvolvimento da doença periodontal, como por exemplo *P. gingivalis*, apresentaram abundância menor (sob esse aspecto, cabe a ressalva sobre o papel dos patógenos keystone mesmo em pequenas quantidades). Além disso, não parece mais coerente a ideia inicial de que os microrganismos Gram negativos seriam os mais prevalentes unicamente na doença periodontal, visto sua identificação como parte importante dos filamentos mais abundantes em saúde por esse estudo (Griffen et al, 2012).

Mais importante que a identificação dos microrganismos presentes na cavidade bucal, contudo, parece ser o mapeamento de achados metatranscriptômicos. Foi possível observar em estudos comparando indivíduos com periodontite e saudáveis o enriquecimento de vias metabólicas em microrganismos associados à doença periodontal, microrganismos relacionados ao grupo core e à saúde periodontal, em indivíduos com periodontite. Nos indivíduos saudáveis, em contrapartida, a ativação de vias metabólicas patogênicas e biomassa nos diferentes grupos de microrganismos se manteve mais baixa. Além disso, a ativação de vias metabólicas por microrganismos específicos, encontrados em baixas quantidades, parece corroborar para a alteração da comunidade microbiana como um todo, enriquecendo vias metabólicas com maior potencial de virulência. Esses microrganismos são denominados *Keystones*, termo do inglês traduzido como pedra angular, pela sua influência para uma conformação estrutural mais patogênica nas comunidades bucais (Curtis et al, 2020; Hajishengallis et al, 2011).

Nesse sentido, um estudo em ratos demonstrou a destruição do tecido ósseo como resposta à inserção de *P. gingivalis* no microbioma comensal bucal. Esse patobionte, quando presente em nicho propício, foi capaz de alterar qualitativa e quantitativamente a composição microbiana, ocasionando em um processo disbiótico, apresentando como consequência a instalação de sinais clínicos compatíveis com periodontite (Hajishengallis et al, 2012; Darveau et al, 2012). O mecanismo pelo qual *P.gingivalis* é capaz de alterar o curso da doença periodontal parece associado a processos imunes e

inflamatórios, em especial a desregulação do Complemento 1. A diminuição do potencial de defesa do hospedeiro, por conseguinte, permite a colonização por microrganismos que, em outra condição, seriam suprimidos pelo organismo, alterando assim as relações metabólicas estabelecidas como um todo, potencialmente tornando o microbioma bucal potencialmente mais patogênico (Hajishengallis et al, 2011).

Em adição a isso, foram observadas mudanças profundas no perfil metatranscriptômico de indivíduos que apresentaram progressão no quadro periodontal, em comparação com indivíduos periodontalmente estáveis. Nessa perspectiva, enriquecimento das vias de biossíntese de lipídeo A, resposta de estresse oxidativo, motilidade flagelar e transporte de aminoácidos, ferro e potássio parecem estar associadas ao aumento do potencial patogênico de uma comunidade microbiana (Yost et al, 2015).

Esses, associados a outros estudos (Tabela 2) permitiram o desenvolvimento de novas teorias e modelos para a etiopatogenia periodontal. Ganha destaque, na atualidade, o Modelo PSD (polimicrobiano, sinérgico, disbiótico), idealizado por Hajishengallis em 2016. O modelo PSD, como o próprio nome sugere, tem seu foco nas relações sinérgicas e processos disbióticos envolvidos na patogênese periodontal, em detrimento da identificação de microrganismos específicos como feito anteriormente por outros estudiosos. Nesse sentido, o autor propõe a representação do desenvolvimento da doença periodontal a partir de um esquema em quebra-cabeça, no qual resposta imune do hospedeiro, comunicação inter-espécies e disbiose causada por microrganismos são peças chave (Hajishengallis, 2016). Análogo ao que o autor propõe, apresentamos algumas situações hipotéticas capazes de ilustrar o embasamento desse modelo na prática. Imaginemos então que a doença periodontal em sua plenitude de manifestação seja equivalente a uma imagem completa de quebra-cabeça. Para formar esta imagem, começaremos pelas colunas externas da gravura, com peças de pouca importância para a identificação da imagem por completo. Essas peças poderiam ser comparadas às bactérias comensais, no geral Gram-positivas, sendo essas representativas de um alicerce para que se possam encaixar novas peças, as bactérias putativas da doença periodontal.

Agora imagine que, tendo as bordas do quebra cabeça montadas, começamos a identificar as peças do meio, que têm papel estrutural. Essas, por sua vez, poderiam ser associadas ao conceito de bactérias do grupo core (Diaz et al, 2016), estabelecendo relação com bactérias base e putativas, permitindo desenvolver uma imagem mais precisa. Por fim, as bactérias conhecidas como *Keystones* podem ser associadas às peças principais, ou aos detalhes do quebra-cabeça. Essas peças, embora constituam uma pequena parte do todo, facilitam a formação da imagem final, podendo haver mudanças nas demais peças estruturais para que estas permaneçam no local correto e permitam identificar a gravura (Hajishengallis et al, 2011). Nesse contexto, como poderiam ser explicadas as diferentes manifestações clínicas por meio desse modelo? Sugerimos, então, que existem pessoas com habilidades especiais para montar este quebra-cabeça, como por exemplo indivíduos imunossuprimidos e diabéticos. Esses indivíduos, em razão de suas particularidades sistêmicas, poderão formar a imagem completa do quebra-cabeça (equivalente a manifestação clínica de perda de inserção clínica e sangramento) mais facilmente quando comparados a indivíduos sistemicamente saudáveis. Outras pessoas, menos entusiastas na arte da montagem, podem optar por comprar um quebra-cabeça infantil. Nesse caso, com menos esforço uma imagem é observada, no entanto essa também terá como resultado uma figura menos detalhada (ou seja, manifestação clínica limitada ao aparato de proteção- gengivite). A evolução nos sinais clínicos em periodontite pode ser influenciada, nesse sentido, por um estado de disfunção do sistema imune do hospedeiro, permitindo a proliferação de microrganismos anteriormente inibidos pela resposta imune inata e adaptativa do hospedeiro, como descrito em detalhes na sessão “anti-inflamatórios” deste artigo (Bradshaw et al, 1994).

Os estudos taxonômicos, genômicos e transcriptômicos enriqueceram o entendimento do microbioma periodontal e da etiopatogenia da doença periodontal, como exposto neste trabalho. Dessa forma, o modelo PSD tem o intuito de explicitar uma nova visão sobre os processos intrínsecos ao desenvolvimento da doença periodontal, em especial a relação microrganismo-hospedeiro. Nesse sentido, tendo em vista a

crescente complexidade na compreensão da etiologia da doença periodontal, percebe-se uma dificuldade em representar de forma esquematizada tamanha magnitude de processos metabólicos. Dessa forma, embora análises metatranscriptômicas e metaproteômicas sejam consideradas no traçado deste modelo, estas não se encontram plenamente abordadas em sua forma gráfica. Além disso, a despeito dos estudos estabelecendo relações preliminares entre fungos, arqueas e vírus com o bacterioma bucal, o modelo PSD, assim como outros modelos desenvolvidos na atualidade, não conta com a contribuição desses microrganismos na etiopatogenia da doença periodontal. Cabe ressaltar, nesse tópico, a necessidade de mais estudos no campo metatranscriptômico, a fim de permitir um panorama mais amplo no que diz respeito às relações sinérgicas responsáveis pelas alterações ecológicas de saúde à doença. Sugerimos, ainda, que o pleno entendimento da etiopatogenia periodontal não pode ser estabelecido pela publicação de um modelo específico, mas pela junção de conceitos pregressos e vindouros.

Além disso, por se tratar de um modelo de apresentação pouco tradicional, o modelo PSD pode apresentar um desafio ao público menos próximo da literatura recente, sendo necessária a abstração do leitor para o seu pleno entendimento. A disposição de um modelo em quebra-cabeça tende a sugerir uma ideia na qual apenas encaixes específicos, ou seja, associações específicas de microrganismos poderiam resultar em processos patogênicos. Nesse sentido, cabe ressaltar o conceito de redundância metabólica, segundo o qual diferentes microrganismos parecem ser capazes de culminar em manifestações clínicas similares da doença, desde que apresentem expressões proteicas semelhantes (Jorth et al, 2014). Novamente, espera-se do leitor abstração neste quebra-cabeça fluido, a fim de possibilitar o entendimento dos encaixes de quebra-cabeça como interações sinérgicas e não como associações microbianas imutáveis. Por fim, embora este modelo apresente correlações significativas e ressalte o papel imprescindível dos microrganismos *keystones* como sendo capazes de alterar as condições ecológicas de um microbioma, tornando-o mais patogênico (Hajishengallis et al, 2012), é importante salientar que a peça principal deste modelo, ou seja,

a alteração metabólica ou alterações metabólicas responsáveis por permitir o curso da doença (o ponto responsável pela mudança saúde-doença) permanecem desconhecidas. Desse modo, novos estudos se fazem necessários a fim de complementar conhecimentos prévios e eliminar fatores confundidores em relação à etiopatogenia da doença periodontal e às diferentes formas de tratamento.

## **CONCLUSÃO**

Sob a ótica dos avanços nas metodologias de sequenciamento genético e desenvolvimento de estudos metatranscriptômicos e metaproteômicos, a literatura atual caminha para um entendimento mais completo e complexo sobre o microbioma oral. Nesse sentido, a identificação de novos microrganismos e de relações sinérgicas e deletérias entre eles estabelecidas corrobora para a promoção de abordagens terapêuticas alternativas, além de uma crescente visão no cuidado individualizado ao paciente com doença periodontal. De acordo com o consenso na literatura atual, pacientes com formas graves de periodontite poderão se beneficiar da terapia antimicrobiana sistêmica como coadjuvante da terapia mecânica. O uso de anti-inflamatórios, bem como de prebióticos e probióticos para o controle da periodontite podem mudar a ecologia do microbioma, em especial nos casos de remissão da doença ou quando há envolvimento de condições sistêmicas. No entanto, este conjunto de terapias coadjuvantes à raspagem são linhas cuja evidência está em construção, sendo necessários ainda outros clínicos controlados randomizados.



## REFERÊNCIAS

1. Abusleme, L., Dupuy, A., Dutzan, N. *et al.* The subgingival microbiome in health and periodontitis and its relationship with community biomass and inflammation. *ISME J* 7, 1016–1025 (2013). <https://doi.org/10.1038/ismej.2012.174>
2. Allen, E. M., Matthews, J. B., O'Halloran, D. J., Griffiths, H. R., & Chapple, I. L. (2011). Oxidative and inflammatory status in Type 2 diabetes patients with periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 38, 894–901. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051x.2011.01764.x>
3. Bartnicka D, Karkowska-Kuleta J, Zawrotniak M, et al. Adhesive protein-mediated cross-talk between *Candida albicans* and *Porphyromonas gingivalis* in dual species biofilm protects the anaerobic bacterium in unfavorable oxic environment. *Sci Rep.* 2019;9(1):437
4. Bartnicka D, Karkowska-Kuleta J, Zawrotniak M, et al. Adhesive protein-mediated cross-talk between *Candida albicans* and *Porphyromonas gingivalis* in dual species biofilm protects the anaerobic bacterium in unfavorable oxic environment. *Sci Rep.* 2019;9(1):4376
5. Bastos, A. S., Graves, D. T., Loureiro, A. P., Rossa Junior, C., Abdalla, D. S., Faulin Tdo, E., ... Orrico, S. R. (2012). Lipid peroxidation is associated with the severity of periodontal disease and local inflammatory markers in patients with type 2 diabetes. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 97, E1353–E1362. <https://doi.org/10.1210/jc.2011-3397>
6. Belay N, Johnson R, Rajagopal BS, Conway de Macario E, Daniels L. Methanogenic bacteria from human dental plaque. *Appl Environ Microbiol.* 1988;54(2):600-603.
7. Berglundh T, Krok L, Liljenberg B, Westfelt E, Serino G, Lindhe J. The use of metronidazole and amoxicillin in the treatment of

advanced periodontal disease. A prospective, controlled clinical trial. *J Clin Periodontol*. 1998;25(5):354-62.

8. Bhatia, M.; Urolagin, S.S.; Pentyala, K.B.; Urolagin, S.B.; K, B.M.; Bhoi, S. Novel therapeutic approach for the treatment of periodontitis by curcumin. *J. Clin. Diagn. Res.* 2014, 8, ZC65–ZC69
9. Bidault P, Chandad F, Grenier D. Systemic antibiotic therapy in the treatment of periodontitis. *J Can Dent Assoc.* 2007;73(6):515-20.
10. Borges I, Faveri M, Figueiredo LC, Duarte PM, Retamal-Valdes B, Montenegro SCL, Feres M. Different antibiotic protocols in the treatment of severe chronic periodontitis: A 1-year randomized trial. *J Clin Periodontol*. 2017 Aug;44(8):822-832. doi: 10.1111/jcpe.12721. Epub 2017 Jul 26. PMID: 28303587.
11. Bradshaw DJ, Homer KA, Marsh PD, Beighton D. Metabolic cooperation in oral microbial communities during growth on mucin. *Microbiology*. 1994;140(Pt 12):3407-3412.
12. Buduneli, N. Environmental factors and periodontal microbiome. *Periodontol* 2000. 2020; 85: 112-125. <https://doi.org/10.1111/prd.12355>
13. Buduneli, N., & Scott, D. A. (2018). *Tobacco-induced suppression of the vascular response to dental plaque*. *Molecular Oral Microbiology*, 33(4), 271–282. doi:10.1111/omi.12228
14. Çaglar E, Cildir SK, Ergeneli S, Sandalli N, Twetman S (2006) Salivarius mutans streptococci and lactobacilli levels after ingestion of the probiotic bacterium *Lactobacillus reuteri* ATCC 55739 by straws or tables. *Acta Odontol Scand* 64:314–318

15. Canabarro A, Valle C, Farias MR, Santos FB, Lazera M, Wanke B. Association of subgingival colonization of *Candida albicans* and other yeasts with severity of chronic periodontitis. *J Periodontal Res.* 2013;48(4):428-43
16. Canabarro A, Valle C, Farias MR, Santos FB, Lazera M, Wanke B. Association of subgingival colonization of *Candida albicans* and other yeasts with severity of chronic periodontitis. *J Periodontal Res.* 2013;48(4):428-432
17. Casarin, R. C., Barbagallo, A., Meulman, T., Santos, V. R., Sallum, E. A., Nociti, F. H. Goncalves, R. B. (2013). Subgingival biodiversity in subjects with uncontrolled type-2 diabetes and chronic periodontitis. *Journal of Periodontal Research*, 48, 30–36. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2012.01498.x>
18. Chainani-Wu N. Safety and anti-inflammatory activity of curcumin: a component of tumeric(*Curcuma longa*) *J Altern Complement Med.* 2003;9(1):161–68. [[PubMed](#)] [[Google Scholar](#)]
19. Chapple I L C, Mealey B L, Van Dyke T E et al. Periodontal health and gingival diseases and conditions on an intact and a reduced periodontium: Consensus report of workgroup 1 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Clin Periodontol* 2018; 45 Suppl 20: S68–S77.
20. Chapple IL, Bouchard P, Cagetti MG, Campus G, Carra MC, Cocco F, Nibali L, Hujoel P, Laine ML, Lingstrom P, Manton DJ, Montero E, Pitts N, Rangé H, Schlueter N, Teughels W, Twetman S, Van Loveren C, Van der Weijden F, Vieira AR, Schulte AG. Interaction of lifestyle, behaviour or systemic diseases with dental caries and periodontal diseases: consensus report of group 2 of the joint EFP/ORCA workshop on the boundaries between caries and periodontal diseases. *J Clin Periodontol.* 2017 Mar;44 Suppl 18:S39-S51. doi: 10.1111/jcpe.12685. PMID: 28266114.

21. Chen H, Jiang W. Application of high-throughput sequencing in understanding human oral microbiome related with health and disease. *Front Microbiol.* 2014;5:508. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2014.00508>
22. Cohen-Cole SA, Cogen RB, Stevens AW Jr, Kirk K, Gaitan E, Bird J, Cooksey R, Freeman A. Psychiatric, psychosocial, and endocrine correlates of acute necrotizing ulcerative gingivitis (trench mouth): a preliminary report. *Psychiatr Med.* 1983 Jun;1(2):215-25. PMID: 6599850. communities in periodontitis. *Sci Rep.* 2016;6:38993
23. Curtis, MA, Diaz, PI, Van Dyke, TE. The role of the microbiota in periodontal disease. *Periodontol 2000.* 2020; 83: 14–25. <https://doi.org/10.1111/prd.12296>
24. Dabdoub SM, Ganesan SM, Kumar PS. Comparative metagenomics reveals taxonomically idiosyncratic yet functionally congruent communities in periodontitis. *Sci Rep.* 2016;6:38993
25. Darveau RP, Hajishengallis G, Curtis MA. *Porphyromonas gingivalis* as a potential community activist for disease. *J Dent Res.* 2012;91(9):816-820.
26. De Filippis F, Vannini L, La Stora A, Laghi L, Piombino P, Stellato G, et al. (2014) The Same Microbiota and a Potentially Discriminant Metabolome in the Saliva of Omnivore, Ovo-Lacto-Vegetarian and Vegan Individuals. *PLoS ONE* 9(11): e112373. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0112373>
27. Delima SL, McBride RK, Preshaw PM, Haesman PA, Kumar PS. Response of subgingival bacteria to smoking cessation. *J Clin Microbiol.* 2010;48(7):2344-2349.

28. Diaz PI, Hoare A, Hong BY. Subgingival Microbiome Shifts and Community Dynamics in Periodontal Diseases. *J Calif Dent Assoc.* 2016 Jul;44(7):421-35. PMID: 27514154 Review.
29. Diaz, PI. Subgingival fungi, Archaea, and viruses under the omics loupe. *Periodontol* 2000. 2020; 85: 82 . <https://doi.org/10.1111/prd.12352>
30. DRISKO. Review: Non-surgical pocket therapy: pharmacotherapeutics. *Ann. Periodontol.*, Chicago, v. 1, n. 1, 1996
31. Duran-Pinedo AE, Solbiati J, Frias-Lopez J. The effect of the stress hormone cortisol on the metatranscriptome of the oral microbiome. *NPJ Biofilms Microbiomes.* 2018;4:25.
32. Elavarasu S, Sekar S, Murugan T. Host modulation by therapeutic agents. *J Pharm Bioallied Sci.* 2012;4(Suppl 2):S256-S259
33. Feldman RS, Szeto B, Chauncey HH, Goldhaber P. Non-steroidal anti-inflammatory drugs in the reduction of human alveolar bone loss. *J Clin Periodontol.* 1983 Mar;10(2):131-6
34. Feres M, Soares GM, Mendes JA, Silva MP, Faveri M, Teles R, Socransky SS, Figueiredo LC. Metronidazole alone or with amoxicillin as adjuncts to non-surgical treatment of chronic periodontitis: a 1-year double-blinded, placebo-controlled, randomized clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2012 Dec;39(12):1149-58. doi: 10.1111/jcpe.12004. Epub 2012 Sep 27. PMID: 23016867.

35. Feres M, Figueiredo LC, Soares GM, Faveri M. Systemic antibiotics in the treatment of periodontitis. *Periodontol* 2000. 2015 Feb;67(1):131-86. doi: 10.1111/prd.12075. PMID: 25494600.
36. Feres M, Retamal-Valdes B, Faveri M, Duarte P, Shibli J, Soares GMS, Miranda T, Teles F, Goodson M, Hasturk H, Van Dyke T, Ehmke B, Eickholz P, Schlagenhaut U, Meyle J, Koch R, Kocher T, Hoffmann T, Kim TS, Kaner D, Figueiredo LC, Doyle H. Proposal of a Clinical Endpoint for Periodontal Trials: The Treat-to-Target Approach. *J Int Acad Periodontol*. 2020 Apr 1;22(2):41-53. PMID: 32224549.
37. Functional signatures of oral dysbiosis during periodontitis progression *Genome Med*. 2015;7(1):27.
38. Giannobile WV, Payne JB, Sorsa T. Tetracyclines inhibit connective tissue breakdown by multiple non-antimicrobial mechanisms. *Adv Dent Res*. 1998;12:12-26
39. Giannobile WV. Host-response therapeutics for periodontal diseases. *J Periodontol*. 2008;79(8 Suppl):1592-1600.
40. Gibson GR, Scott KP, Rastall RA, et al. (2010) Dietary prebiotics: current status and new definition. *Food Sci Technol Bull: Funct Foods* 7, 1–19
41. Golub LM, Wolff M, Roberts S, Lee HM, Leung M, Payonk GS. Treating periodontal diseases by blocking tissue-destructive enzymes. *J Am Dent Assoc*. 1994;125:163-169. 2
42. Golub LM, Lee HM, Stoner JA, et al. Subantimicrobial-dose doxycycline modulates gingival crevicular fluid biomarkers of 202 periodontitis in postmenopausal osteopenic women. *J Periodontol*. 2008;79:1409-1418. 55.
43. Golub, L. M., & Lee, H. (2019). Periodontal therapeutics: Current host-modulation agents and future directions. *Periodontology* 2000, 82(1), 186–204. doi:10.1111/prd.12315

44. Graziano TS, Closs P, Poppi T, et al. Catecholamines promote the expression of virulence and oxidative stress genes in *Porphyromonas gingivalis*. *J Periodontol Res*. 2014;49(5):660-669.
45. Griffen, A., Beall, C., Campbell, J. *et al.* Distinct and complex bacterial profiles in human periodontitis and health revealed by 16S pyrosequencing. *ISME J* 6, 1176–1185 (2012). <https://doi.org/10.1038/ismej.2011.191>
46. GUSTAFSSON, B. E.; QUENSEL, C. E.; LANKE, L. S.; LUNDQUIST, C.; GRAHNÉN, H.; BONOW, B. E.; KRASSE, B. The Vipeholm dental caries study: the effect of different levels of carbohydrate intake on caries activity in 436 individuals observed for five years. *Acta Odontol Scand*, v. 11, p. 332-364, 1954.
47. Haesman L, Stacey F, Preshaw PM, McCracken GI, Hepburn S, Haesman PA. The effect of smoking on periodontal treatment response: a review of clinical evidence. *J Clin Periodontol*.2006(4);33:241-253.
48. Haffajee AD, Uzel NG, Arguello EI, Torresyap G, Guerrero DM, Socransky SS. Clinical and microbiological changes associated with the use of combined antimicrobial therapies to treat "refractory" periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2004;31(10):869-77.
49. Hajishengallis G, Darveau RP, Curtis MA. The keystone-pathogen hypothesis. *Nat Rev Microbiol*. 2012;10(10):717-725.
50. Hajishengallis G, Lamont RJ. Beyond the red complex and into more complexity: the polymicrobial synergy and dysbiosis (PSD) model of periodontal disease etiology. *Mol Oral Microbiol*. 2012 Dec;27(6):409-19.
51. Hajishengallis G, Liang S, Payne MA, et al. Low-abundance biofilm species orchestrates inflammatory periodontal disease

- through the commensal microbiota and complement. *Cell Host Microbe*.2011;10:497-506.
52. Hajishengallis G. The inflammophilic character of the periodontitis-associated microbiota. *Mol Oral Microbiol*. 2014 Dec;29(6):248-57. doi: 10.1111/omi.12065. Epub 2014 Sep 8. PMID: 24976068; PMCID: PMC4232466.
  53. Hajishengallis, G. and Lamont, R.J. (2016). The polymicrobial synergy and dysbiosis model of periodontal disease pathogenesis. In *The Human Microbiota and Chronic Disease* (eds L. Nibali and B. Henderson). <https://doi.org/10.1002/9781118982907.ch14>
  54. Hajishengallis, G., Liang, S., Payne, M.A. et al. (2011) Low-abundance biofilm species orchestrates inflammatory periodontal disease through the commensal microbiota and complement. *Cell Host Microbe* 10: 497–506.
  55. Hanes PJ, Purvis JP. Local anti-infective therapy: pharmacological agents. A systematic review. *Ann Periodontol*. 2003 Dec;8(1):79-98. doi: 10.1902/annals.2003.8.1.79. PMID: 14971250.
  56. Heasman PA, Seymour RA. An association between long-term non-steroidal anti-inflammatory drug therapy and the severity of periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 1990 Oct;17(9):654-8.
  57. Holgerson, P. L., Vestman, N. R., Claesson, R., Öhman, C., Domellöf, M., Tanner, A. C. R., ... Johansson, I. (2013). *Oral Microbial Profile Discriminates Breast-fed From Formula-fed Infants*. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*, 56(2), 127–136. doi:10.1097/mpg.0b013e31826f2bc6
  58. Holzapfel, W.H.; Schillinger, U. Introduction to pre- and probiotics. *Food Res. Int.*, Amsterdam, v.35, n.2/3, p.109-116, 2002.



59. Horz HP, Robertz N, Vianna ME, Henne K, Conrads G. Relationship between methanogenic archaea and subgingival microbial complexes in human periodontitis. *Anaerobe*. 2015;35(Pt A):10-12.
60. Huang, X., Yang, X., Ni, J., Xie, B., Liu, Y., Xuan, D., & Zhang, J. (2015).Hyperglucose contributes to periodontitis: Involvement of the NLRP3 pathway by engaging the innate immunity of oral gingival epithelium.*Journal of Periodontology*, 86, 327–335. <https://doi.org/10.1902/jop.2014.140403>
61. Huynh HT, Pignoly M, Nkamga VD, Drancourt M, Aboudharam G. The repertoire of archaea cultivated from severe periodontitis. *PLoS One*. 2015;10(4):e0121565.
62. Iwasaki K, Maeda K, Hidaka K, Nemoto K, Hirose Y, Deguchi S. Daily Intake of Heat-killed *Lactobacillus plantarum* L-137 Decreases the Probing Depth in Patients Undergoing Supportive Periodontal Therapy. *Oral Health Prev Dent*. 2016;14(3):207-14. doi: 10.3290/j.ohpd.a36099. PMID: 27175447.
63. Johnson IH. Effects of local irritation and dextran sulphate administration on the periodontium of the rat. *J Periodontal Res*. 1975 Dec;10(6):332-45. doi: 10.1111/j.1600-0765.1975.tb00042.x. PMID: 129558.
64. 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
65. Jorth P, Turner KH, Gumus P, Nizam N, Buduneli N, Whiteley M. Metatranscriptomics of the human oral microbiome during health and disease. *MBio* 2014; 5(2): e01012-14
66. Joshi D, Garg T, Goyal AK, Rath G. Advanced drug delivery approaches against periodontitis. *Drug Deliv*. 2016;23:363–77. <https://doi.org/10.3109/10717544.2014.935531>

67. Khalaf H, Nakka SS, Sandén C, Svärd A, Hulténby K, Scherbak N, et al. Antibacterial effects of Lactobacillus and bacteriocin PLNC8 ab on the periodontal pathogen Porphyromonas gingivalis. BMC Microbiol 2016;16:188.
68. Kilian M, Chapple IL, Hannig M, Marsh PD, Meuric V, Pedersen AM, Tonetti MS, Wade WG, Zaura E. The oral microbiome - an update for oral healthcare professionals. Br Dent J. 2016;221(10):657–66
69. Köll-Klais P, Mändar R, Leibur E, Marcotte H, Hammarström L, Mikelsaar M. Oral lactobacilli in chronic periodontitis and periodontal health: species composition and antimicrobial activity. Oral Microbiol Immunol 2005;20:354–61.
70. Kotsakis GA, Javed F, Hinrichs JE, Karoussis IK, Romanos GE. Impact of cigarette smoking on clinical outcomes of periodontal flap surgical procedures: a systematic review and meta-analysis. J Periodontol. 2015;86(2):254-263.
71. Kumar AJ, Reddy BR, Chava VK. Effect of chlorhexidine chip in the treatment of chronic periodontitis. J Natural Sci Biol Med. 2014;5:268. [https://doi.org/ 10.4103/0976-9668.136159](https://doi.org/10.4103/0976-9668.136159).
72. Kumar PS, Griffen AL, Barton JA, Paster BJ, Moeschberger ML. New bacterial species associated with chronic periodontitis. J Dent Res. 2003; 82: 338-44
73. Lee YK & Salminen S (2009) Handbook of Probiotics, 2nd ed. Hoboken, NJ: John Wiley & Sons.
74. Løe, H., Theilade, E., & Jensen, S. B. (1965). *Experimental Gingivitis in Man*. *Journal of Periodontology*, 36(3), 177–187. doi:10.1902/jop.1965.36.3.177

75. Loesche, W.J. (1979) Clinical and microbiological aspects of chemotherapeutic agents used according to the specific plaque hypothesis. *J Dent Res* 58: 2404–2412.
76. Ma, L., & Diao, X. (2020). *Effect of chlorhexidine chip as an adjunct in non-surgical management of periodontal pockets: a meta-analysis*. *BMC Oral Health*, 20(1). doi:10.1186/s12903-020-01247-8
77. Macdonald, J.B., Sutton, R.M., Knoll, M.L., Madlener, E.M. and Grainger, R.M. (1956) The pathogenic components of an experimental fusospirochetal infection. *J Infect Dis* 98: 15–20
78. Marcenes W, Kassebaum NJ, Bernabe E, et al. Global burden of oral conditions in 1990-2010: a systematic analysis. *J Dent Res*. 2013;92(7):592-597.
79. Marinho, M. C., Pacheco, A. B. F., da Costa, G. C. V., Ortiz, N. D., Zajdenverg, L., & Sansone, C. (2018). *Quantitative gingival crevicular fluid proteome in type 2 diabetes mellitus and chronic periodontitis*. *Oral Diseases*. doi:10.1111/odi.12996
80. Marsh PD. Are dental diseases examples of ecological catastrophes? *Microbiology (Reading)*. 2003 Feb;149(Pt 2):279-294. doi: 10.1099/mic.0.26082-0. PMID: 1262419
81. Morales A, Carvajal P, Silva N, Hernandez M, Godoy C, Rodriguez G, Caballero R, Garcia-Sesnich J, Hoare A, Diaz PI, Gamonal J (2016) Clinical effects of *Lactobacillus rhamnosus* in non-surgical treatment of chronic periodontitis: a randomized placebo controlled trial with 1-year follow-up. *J Periodontol* 87:944–952
82. Nassar, C.A.; Nassar, P.O.; Inagaki, N.S.; Girelli Jr., C. The effect of antiinflammatory drug in the development of induced periodontal disease. Radiographic evaluation in rats. *Rev. odontol. UNESP*, vol.32, n2, p.125-130, 2003

83. Needleman I, Suvan J, Gilthorpe MS, et al. A randomized-controlled trial of low-dose doxycycline for periodontitis in smokers. *J Clin Periodontol.* 2007;34(4):325-333. 54.
84. Novak MJ, Dawson DR, Magnusson I, et al. Combining host-modulation and antimicrobial therapy in the management of moderate to severe periodontitis: a randomized multi-center trial. *J Periodontol.* 2008;79(1):33-41
85. Nociti FH Jr, Casati MZ, Duarte PM. Current perspective of the impact of smoking on the progression and treatment of periodontitis. *Periodontol 2000.* 2015;67(1):187-210
86. Offenbacher, S. et al. The use of crevicular fluid prostaglandin E levels as a predictor of periodontal attachment loss. *J. Periodontal Res., Copenhagen*, v. 21, n. 2, p. 101-112, Mar. 1986.
87. Oral microbiome of Tobacco Smokers: A shift in Composition. O. Ogba, J. Ewa, and O. Olorode. *Journal of Global Oncology* 2018 4:Supplement 2, 57s-57s
88. Polak, D, Shapira, L. An update on the evidence for pathogenic mechanisms that may link periodontitis and diabetes. *J Clin Periodontol.* 2018; 45: 150166. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12803>
89. Puupponen-Pimiä, R.; Aura, A.M.; Oksmancaudentey, K.M.; Myllärinen, P.; Saarela, M.; Mattila-Sanholm, T.; Poutanen, K. Development of functional ingredients for gut health. *Trends Food Sci. Technol., Amsterdam*, v.13, p.3-11, 2002.
90. Radaic A, Kapila YL. The oralome and its dysbiosis: New insights into oral microbiome-host interactions. *Comput Struct Biotechnol J.* 2021 Feb 27;19:1335-1360. doi: 10.1016/j.csbj.2021.02.010. PMID: 33777334; PMCID: PMC7960681

91. Reid G, Burton J (2002) Use of *Lactobacillus* to prevent infection by pathogenic bacteria. *Microbes Infect* 4:319–324 revealed by microbial metatranscriptome analysis. reveals taxonomically idiosyncratic yet functionally congruente
92. Rosier BT, Buetas E, Moya-Gonzalvez EM, Artacho A, Mira A. Nitrate as a potential prebiotic for the oral microbiome. *Sci Rep* 2020;10:12895.
93. Sanders, M.E. Probiotics: considerations for human health. *Nutr. Rev.*, New York, v.61, n.3, p.91-99, 2003.
94. Sanger, F. & Coulson, A. A rapid method for determining sequences in DNA by primed synthesis with DNA polymerase. *Journal of molecular biology* 94, 441–448 (1975). URL <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0022283675902132>
95. Schultz-Haudt, S., Bruce, M.A. and Bibby, B.G. (1954) Bacterial factors in nonspecific gingivitis. *J Dent Res* 33:454–458.
96. Shah SA, Ganesan SM, Varadharaj S, Dabdoub SM, Walters JD, Kumar PS. A criação de um miscreant: a fumaça do tabaco e a criação de biofilmes ricos em patógenos. *NPJ Biofilmes Microbiomas*. 24 de outubro de 2017;3:26. doi: 10.1038/s41522-017-0033-2. PMID: 29081982; PMCID: PMC5655325.
97. Shi, B., Lux, R., Klokkevold, P., Chang, M., Barnard, E., Haake, S., & Li, H. (2019). *The subgingival microbiome associated with periodontitis in type 2 diabetes mellitus*. *The ISME Journal*. doi:10.1038/s41396-019-0544-3
98. Silva J, Carvalho AS, Teixeira P, Gibbs PA (2002) Bacteriocin productin by spray-dried lactic acid bacteria. *Lett Appl Microbiol* 34:77–81

99. Singh M, Gupta R, Dahiya P, Kumar M, Bhardwaj R. Assessment of efficacy of chlorhexidine chip as an adjunct to scaling and root planning using NbenzoylDL-arginine-2-naphthylamide test kit. *Asian Pacific J Health Sci.* 2018; 5:111–5.
100. Singh R, Chandra R, Bose M, Luthra PM. Antibacterial activity of curcumin longa rhizome extract on penopathogenic bacteria. *Curr Sci.* 2002;83:737–40. [[Google Scholar](#)]
101. Socransky, S.S., Haffajee, A.D., Cugini, M.A., Smith, C. and Kent, R.L. Jr (1998) Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol* 25: 134–144.
102. Socransky SS, Haffajee AD. Evidence of bacterial etiology: a historical perspective. *Periodontol* 2000. 1994. Jun;5:7-25.
103. Stams AJ, Plugge CM. Electron transfer in syntrophic communities of anaerobic bacteria and archaea. *Nat Rev Microbiol.* 2009;7(8):568-577
104. Sztukowska MN, Dutton LC, Delaney C, et al. Community development between *Porphyromonas gingivalis* and *Candida albicans* mediated by InIJ and Als3. *MBio.* 2018;9(2):e00202-18
105. Sztukowska MN, Dutton LC, Delaney C, et al. Community development between *Porphyromonas gingivalis* and *Candida albicans* mediated by InIJ and Als3. *MBio.* 2018;9(2):e00202-18 29.
106. Tamai R, Sugamata M, Kiyoura Y *Candida albicans* enhances invasion of human gingival epithelial cells and gingival fibroblasts by *Porphyromonas gingivalis*. *Microb Pathog.* 2011;51(4):250-254.
107. Tessler, M., Neumann, J.S., Afshinnekoo, E. *et al.* Large-scale differences in microbial biodiversity discovery between 16S

amplicon and shotgun sequencing. *Sci Rep* 7, 6589 (2017).  
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-06665-3>

108. Teughels W, Feres M, Oud V, Martín C, Matesanz P, Herrera D. XVI European Workshop on Periodontology: Evidence-based Guidelines for Periodontal Therapy Systemic Anti-microbial Adjuncts. Adjunctive effect of systemic antimicrobials in periodontitis therapy. A systematic review and meta-analysis. *J.Clin Periodontol.* 2020.
109. Van der Velden,U, Kuzmanova, D & Chapple,I.L.C. (2011) Micronutritional approaches to periodontal therapy. *Journal of Clinical Periodontology* 38 (Suppl.11), 142-158
110. Vos T, Flaxman AD, Naghavi M, Lozano R, Michaud C, Ezzati M. Years lived with disability (YLDs) for 1160 sequelae of 289 diseasesand injuries 1990–2010: a systematic analysis for the Global Burdenof Disease Study 2010. *Lancet.* 2012;380(9859):2163-2196.
111. Waite IM, Saxton CA, Young A, Wagg BJ, Corbett M. The periodontal status of subjects receiving non-steroidal anti-inflammatory drugs. *J Periodontal Res.* 1981 Jan;16(1):100-8.
112. Weyrich LS. The evolutionary history of the human oral microbiota and its implications for modern health. *Periodontol* 2000. 2021 Feb;85(1):90-100. doi: 10.1111/prd.12353. Epub 2020 Nov 23. PMID: 33226710.
113. Winkel EG, van Winkelhoff AJ, van der Velden C. Additional clinical and microbiological effects of amoxicillin and metronidazole after initial periodontal therapy. *J Clin Periodontol.* 1998;25(11 Pt1):857-64.
114. Woelber JP, Gärtner M, Breuninger L, Anderson A, König D, Hellwig E, Al-Ahmad A, Vach K, Dötsch A, Ratka-Krüger P, Tennert C. The influence of an anti-inflammatory diet on gingivitis. A randomized controlled trial. *J Clin Periodontol.* 2019

Apr;46(4):481-490. doi: 10.1111/jcpe.13094. Epub 2019 Apr 2. PMID: 30941800.

115. Yost S, Duran-Pinedo AE, Krishnan K, Frias-Lopez J. Potassium is a key signal in host-microbiome dysbiosis in periodontitis. *PLoSPathog*. 2017;13(6):e1006457.
116. Yost S, Duran-Pinedo AE, Teles R, Krishnan K, Frias-Lopez J. Functional signatures of oral dysbiosis during periodontitis progression revealed by microbial metatranscriptome analysis.
117. Zaura E. Next-generation sequencing approaches to understanding the oral microbiome. *Adv Dent Res*. 2012;24(2):81-85. <https://doi.org/10.1177/0022034512449466>
118. Zero DT. Sugars - the arch criminal? *Caries Res*. 2004 May-Jun;38(3):277-85. doi: 10.1159/000077767. PMID: 15153701
119. Zhou, M., Rong, R., Munro, D., Zhu, C., Gao, X., Zhang, Q., & Dong, Q. (2013). Investigation of the effect of type 2 diabetes mellitus on subgingival plaque microbiota by high-throughput 16S rDNA pyrosequencing. *PLoS ONE*, 8, e61516. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0061516>
120. Zhu Y, Xiao L, Shen D, Hao Y. Competition between yogurt probiotics and periodontal pathogens in vitro. *Acta Odontol Scand* 2010;68:261–8







## **ANEXOS**

### **NORMAS DA REVISTA**

#### **CATEGORIAS E REQUISITOS DE MANUSCRITO**

O Journal of Clinical Periodontology publica artigos originais de pesquisa, revisões, relatórios de inovação clínica e relatos de casos. Estes últimos serão publicados apenas se fornecerem novos conhecimentos fundamentais e se usarem uma linguagem compreensível para o clínico. Espera-se que qualquer manuscrito submetido represente pesquisa original não publicada.

#### **REVISÕES E REVISÕES SISTEMÁTICAS**

Revisões e revisões sistemáticas são selecionadas por seu amplo interesse geral; todos são avaliados por especialistas na área, que são convidados a comentar sobre questões como oportunidade, interesse geral e tratamento equilibrado de controvérsias, bem como sobre a precisão científica.

As resenhas devem ter uma visão ampla do campo, em vez de apenas resumir os trabalhos anteriores dos autores, portanto, é desencorajada a citação extensa das publicações dos próprios autores. Sempre que possível, as revisões devem ser elaboradas e submetidas como revisões sistemáticas ou, pelo menos,

fornecer descrições robustas dos métodos que permitiriam aos leitores reproduzi-las. Espera-se o uso de abordagens sistemáticas baseadas em evidências de última geração. As revisões são frequentemente encomendadas pelos editores e, como tal, os autores são encorajados a submeter uma proposta à Revista. As propostas de revisão devem incluir um resumo de página inteira do conteúdo proposto com referências importantes.

Nota: Para revisões sistemáticas, a revista adere às diretrizes de relatórios PRISMA - listas de verificação PRISMA devem ser incluídas nas submissões.

Limite de palavras: máximo de 4.000 palavras, excluindo referências.

Texto principal: deve ser organizado com Introdução; Revisão; Discussão e conclusão.

## TABELAS DO ARTIGO

<b>Tabela 1- Estudos clássicos da Etiopatogenia das Doenças Periodontais</b>		
<b>Referência</b>	<b>Metodologia</b>	<b>Principais achados</b>
Schultz-Haldt et al, 1954*; Macdonald et al, 1956.	Análise histológica-microscopia óptica e coloração de Gram	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Pacientes com gengivite apresentaram aumento total na carga bacteriana quando comparados a indivíduos saudáveis*;</li> <li>•Pacientes com gengivite apresentaram aumento relativo nas porcentagens de espiroquetas, fusiformes e vibrios, bem como cocos Gram- negativos*;</li> <li>•Combinações específicas entre fusobactérias e outras espécies não parecem ser suficientes para o desenvolvimento de lesões típicas da doença periodontal;</li> </ul>
Loesche et al, 1979	Contagem bacteriana antes e após o uso de antimicrobianos	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Formas específicas de doença periodontal parecem estar associados ao crescimento de</li> </ul>

	específicos para cada condição periodontal. Microscopia eletrônica.	bactérias específicas; •Periodontite apresenta-se, ao menos parcialmente, associada ao aumento de espécies específicas.
Socranscry et al, 1998	Hibridização DNA-DNA. Comparação da carga bacteriana e abundância relativa em indivíduos saudáveis e com doença periodontal.	•Identificação de complexos microbianos associados entre si e relacionados ao desenvolvimento da doença periodontal; • <i>B.forsythus</i> , <i>P.gingivalis</i> e <i>T.denticola</i> parecem estar fortemente associados aos parâmetros clínicos de sangramento a sondagem e profundidade de bolsa.
Marsh, 2003	Análise quantitativa e qualitativa de modelos de estudo (grupos bacterianos) obtidos por meio de cultura planctônicos e biofilme. Esses modelos foram submetidos a alterações	•Micobiota periodontal em sítios saudáveis difere daquela presente em sítios com doença periodontal; •Micoorganismos putativos estão presentes também em sítios saudáveis, em quantidades reduzidas;

	metabólicas, a fim de analisar mudanças na organização microbiana.	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Fatores ambientais atuam na seleção e enriquecimento de bactérias patogênicas;</li> <li>•Doenças bucais seriam resultantes de sucessões ecológicas.</li> </ul>
--	--	--

**Tabela 2- Estudos recentes da Etiopatogenia das Doenças Periodontais**

Referência	Metodologia	Principais achados
Abusleme et al, 2013	Pirosequenciamento 454 do gene 16S rRNA	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Confirmação da participação de microrganismos do complexo vermelho (<i>P. Gingivalis</i>, <i>B.forsythus</i> e <i>T. denticola</i>) na patogênese periodontal;</li> <li>•Gênero <i>Treponema</i> (TM7) mais abundante em doença periodontal;</li> <li>•Gênero <i>Rothia</i> como mais abundante na saúde periodontal, seguido por <i>Actinomyces</i></li> <li>•Microrganismos do complexo cinza apresentam importância na sucessão ecológica, fornecendo suporte metabólico para o</li> </ul>

		<p>desenvolvimento da comunidade e possivelmente marcando a transição saúde-doença</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Periodontite é resultante de uma mudança ecológica na comunidade microbiana e sua estrutura, em vez de mudanças em seus membros</li> </ul>
Griffen et al, 2012	Bibliotecas de amplicons das regiões hipervariáveis V1-V2 do rRNA 16S foram sequenciadas	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Identificação de 16 filos, 106 gêneros e 596 espécies relacionadas à saúde e doença periodontal</li> <li>• Filos <i>Spirochaetes</i>, <i>Synergistetes</i> e <i>Bacteroidetes</i> foram mais abundantes na doença</li> <li>• Proteobactérias mais abundantes em saúde</li> <li>• <i>Filifactor alocis</i> parece tão prevalente e fortemente associado a doença periodontal quanto <i>P.gingivalis</i> e <i>T. denticola</i></li> </ul>



Hajishengallis et al, 2011	Sequenciamento dos genes 16S Rrna e ISPg1 em modelo animal (rato) após a inserção de <i>P.gingivalis</i> no nicho	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Microorganismos encontrados em baixas concentrações na cavidade bucal, denominados <i>Keystones</i>, seriam capazes de modular a resposta do hospedeiro e as relações sinérgicas estabelecidas entre microrgivoanismos, tornando a comunidade microbiana periodontal mais virulenta</li> </ul>
Jorth et al, 2014	Análise metatranscriptômica de genes expressos por pacientes com e sem periodontite	<ul style="list-style-type: none"> <li>•Redundância metabólica- diferentes comunidades microbianas são capazes de desenvolver manifestações clínicas semelhantes, desde que ativem vias metabólicas congruentes</li> </ul>
Hajishengallis et al, 2016	Revisão de uma série de estudos	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Modelo PSD- a doença periodontal é resultante de relações sinérgicas estabelecidas entre múltiplos microrganismos culminando em um ambiente disbiótico.</li> </ul>