PROBIÓTICOS EM ENDODONTIA: UMA REVISÃO DE LITERATURA

Gabrielly Carvalho **Nascimento**[1], Ana Flávia Almeida **Barbosa**,[1] Carla Mendonça **Augusto**,[1] Luciana Moura **Sassone**[1*]

[1]Departamento de Procedimentos Clínicos Integrados, Faculdade de Odontologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro - UERJ, Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.

Palavras-chave: Probióticos. Odontologia. Endodontia. Lactobacillus.

RESUMO

Introdução: Os probióticos são micro-organismos vivos que geram benefícios à saúde do hospedeiro. Seus mecanismos de ação consistem, principalmente, em efeitos anti-inflamatórios e antimicrobianos que os tornam importantes no processo de saúde-doença. Na endodontia, a permanência de infecção no interior do sistema de canais radiculares é a principal causa do insucesso do tratamento endodôntico. A partir do sucesso obtido por outras especialidades odontológicas, a utilização de probióticos como nova abordagem no tratamento endodôntico vem sendo alvo de pesquisas com a expectativa de ajudar a combater as infecções endodônticas e manter o equilíbrio da microbiota oral. **Objetivo**: O objetivo desta revisão de literatura foi apresentar os principais resultados disponíveis até o presente momento na literatura científica acerca do uso dos probióticos na endodontia. **Fonte dos dados**: As bases de dados utilizadas foram Pubmed, Web of Science e Embase e a pesquisa foi realizada até junho de 2021. **Síntese dos dados**: Foi encontrado um total de oito artigos sobre o tema, avaliando diversos aspectos relacionados ao tratamento endodôntico, como o uso de probióticos contra patógenos endodônticos, como irrigantes, como medicação intracanal e no tratamento da periodontite apical. **Conclusão**: Embora grande parte dos artigos tenham apresentado resultados positivos acerca do uso dos probióticos, os mesmos apresentam baixo nível de evidência, isso porque foram utilizados modelos *in vitro* e em animais. Portanto, para embasar a introdução dos probióticos em Endodontia, existe a necessidade da realização de pesquisas clínicas.

Keywords: Probiotics. Dentistry. Endodontics. Lactobacillus.

ABSTRACT

Introduction: Probiotics are living microorganisms that benefit the health of their hosts. Its mechanisms of action, consist mainly of anti-inflammatory and antimicrobial effects, that become important in the health-disease process. In endodontics, persistent infection within the root canal system is the main cause for failure in the endodontic treatment. From the success obtained by other dental specialties, the use of probiotics as a new approach in endodontic treatment has been the subject of research with the expectation of helping to fight endodontic infections and to maintain the balance of the oral microbiota. **Objective**: This literature review aimed to present the main results available to date in the scientific literature on the use of probiotics in endodontics. **Sources of data**: The databases used were Pubmed, Web of Science and Embase. The search was carried out until June 2021. **Synthesis of data**: A total of eight articles on the topic were found, evaluating various aspects related to endodontic treatment, such as the use of probiotics against endodontic pathogens, as irrigants, as intracanal medication and in the treatment of apical periodontitis. **Conclusion**: Although most of the articles have shown positive results on the use of probiotics, they present a low level of evidence because the studies included were performed *in vitro* and *in animals*. Therefore, to support the introduction of probiotics in endodontics, there is a need for clinical studies.

Submetido: Julho 08, 2021
Modificado: Setembro 20, 2021
Aceito: Setembro 21, 2021

***Autor para correspondência**:
Luciana Moura Sassone
Endereço: Boulevard 28 de setembro, 157, 2º andar, Vila Isabel, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
Telefone: + 55 (21) 2868-8282
Email: lucianasassone@gmail.com

INTRODUÇÃO

Os probióticos são micro-organismos vivos que conferem benefícios à saúde do hospedeiro.[1,2] Sua utilização vem sendo amplamente estudada, já que se tornaram um dos principais sistemas de defesa imunológica nos casos de inefetividade dos antibióticos em presença de bactérias persistentes, podendo interferir ativamente no processo de saúde-doença.[3]

Os mecanismos de ação dos probióticos estão relacionados a produção de substâncias contra patógenos, alteração do pH local, modulação positiva das células de defesa do hospedeiro e mecanismos de exclusão competitiva entre patógeno/probiótico.[4] O principal órgão alvo dos mecanismos de ação dos probióticos é o intestino, embora haja efeito sistêmico e proteção de outros locais[5]. Os efeitos positivos do uso de probióticos em diferentes áreas da saúde, resultaram na introdução de probióticos nos cuidados da saúde bucal.[6,7]

Entre os principais efeitos benéficos dos probióticos para a saúde está a atividade antimicrobiana sobre patógenos.[8] Confirmou-se que a partir da produção de ácidos graxos de cadeias curtas, resultante do processo de fermentação da glicose e diminuição do pH da cultura, os probióticos são capazes de inibir os agentes patógenos selecionados já que a produção desses ácidos orgânicos é indispensável para a manutenção do pH gastrointestinal.[9] Além disso, os probióticos apresentam a produção de outros agentes antimicrobianos, como a bacteriocina, que afeta a permeabilidade da membrana da célula-alvo e gera consequentemente, uma despolarização dessa membrana, causando a morte da célula.[10]

Os probióticos influenciam a saúde bucal por meio de diferentes mecanismos, como modulação imunológica, exclusão competitiva de patógenos e inibição da adesão de bactérias patogênicas à mucosa oral.[4,11] Eles foram utilizados inicialmente numa tentativa de diminuir a formação de biofilme,[12] a partir da competição por locais onde ocorrem a adesão de *Streptococus mutans.*[13] Além do efeito dos probióticos sobre a cárie dentária, eles também são utilizados como tratamento alternativo da candidíase oral, da halitose e principalmente na periodontia.[14-17] Estudos demonstram resultados positivos referentes à saúde periodontal, onde os probióticos agem na diminuição de citocinas pró-inflamatórias de patógenos.[14-16]

Na endodontia, no entanto, o uso de probióticos é pouco explorado, apresentando um número limitado de artigos na literatura.[17-23] Como já foi estabelecido que o insucesso do tratamento endodôntico se deve principalmente à permanência de bactérias e seus subprodutos no interior do Sistema de Canais Radiculares (SCR),[24] novas abordagens, como o uso de probióticos locais ou sistêmicos, vem sendo estudadas[21] com o objetivo de ajudar a combater essa fonte de infecção a partir da desorganização do biofilme presente nos canais radiculares, em busca da manutenção do equilíbrio da microbiota oral e de uma efetiva resposta imunológica. Dessa forma, o objetivo da presente revisão de literatura foi apresentar ao leitor os principais resultados disponíveis na literatura endodôntica, assim como fornecer uma análise crítica embasada nestes estudos acerca do uso de probióticos em endodontia.

FONTE DOS DADOS

O estudo consiste em uma revisão narrativa realizada por meio de busca nas bases de dados Pubmed (MEDLINE), Web of Science e Embase. A busca foi realizada até junho de 2021 e a estratégia de busca eletrônica foi desenvolvida combinando termos do Medical Subject Heading (MeSH). Os operadores booleanos “AND” e “OR” foram aplicados para combinar os termos: “Probiotics”,”Lactobacillus”, ”Endodontics” and “Periapical periodontitis”. Os artigos científicos encontrados foram analisados com base no título e resumo, a fim de excluir aqueles que não eram relevantes para a revisão. As referências dos artigos encontrados também foram analisadas.

Os critérios de inclusão foram estudos clínicos, de revisão ou *in vitro* que abordaram o mecanismo e efeitos dos probióticos na endodontia. Os artigos foram excluídos quando não apresentavam relação com o uso de probióticos ou ausência da descrição do seu efeito no tratamento endodôntico.

SÍNTESE DOS DADOS

Probióticos na endodontia

Probióticos versus patógenos endodônticos

Uma vez estabelecidas no interior do SCR, as bactérias e seus subprodutos não são facilmente combatidas pelo sistema imunológico do hospedeiro, sendo o preparo químico-mecânico desses canais o principal e mais eficiente meio para a diminuição dessas bactérias, controle da infecção e, consequentemente, manutenção do equilíbrio da microbiota oral.[25-29] Mesmo com diversos estudos demonstrando a eficácia do preparo químico-mecânico (PQM), falhas e insucessos no tratamento endodôntico ainda são observados como consequência de dentes que apresentem desafios anatômicos, o que pode dificultar a limpeza e modelagem desses canais[29] e da permanência de bactérias resistentes.[30] Existe uma constante busca por tratamentos alternativos ou adjuvantes ao tratamento endodôntico convencional com a expectativa de diminuir essas falhas e insucessos.

Oito estudos foram realizados na busca por tratamentos com probióticos que possam demonstrar efeitos benéficos no processo de descontaminação do SCR, principalmente no que se refere à diminuição ou eliminação de *Enterococcus faecalis*[17-23,32] (Tabela 1). Três dos oito estudos foram realizados por Bohora e Kokate.[17,18,32] O primeiro, um estudo piloto,[17] buscou avaliar o possível efeito inibitório do crescimento do *E. faecalis* por meio da utilização local de probióticos selecionados. A atividade antimicrobiana dos *Lactobacillus* (*Lactobacillus plantarum e Lactobacillus rhamnosus*) neste estudo foi testada por dois métodos, método de difusão em Àgar e método do antagonismo de crescimento, porém, somente o primeiro método demonstrou efeito inibitório no crescimento de *E. faecalis* com zona de inibição média de 20 mm, enquanto o segundo método apresentou resultados variáveis e nenhuma zona de inibição. Esse estudo piloto demonstrou que os probióticos apresentam potencial para serem utilizados durante o tratamento endodôntico. Por isso, o segundo estudo realizado por Bohora e Kokate,[18] buscou aprofundar o estudo anterior e investigar o efeito antibacteriano dos probióticos por meio da liberação de substâncias antimicrobianas contra *E. faecalis* e *Candida albicans* e pela sua possível ação moduladora do sistema imunológico, avaliando esses efeitos tanto em estágio de colônia quanto em estágio de biofilme. Neste estudo,[18] zonas de inibição contra os patógenos também foram avaliadas, porém, só foi observada inibição no crescimento de *E. faecalis*. Além disso, houve diminuição na contagem de unidades formadoras de colônias (UFC) de *E. faecalis* mas não houve mudança significativa para *C. albicans*.

Recentemente, um terceiro estudo deste grupo foi publicado,[32] avaliando a atividade antimicrobiana dos probióticos do grupo *Lactobacilli* e *Bifidobacterium* contra *E. faecalis* e *C. albicans*. No estágio planctônico, os probióticos apresentaram atividade inibitória contra os patógenos endodônticos. No estágio de biofilme, os probióticos apresentaram redução no crescimento de *E. faecalis*, e somente o grupo *Lactobacilli* apresentou redução nas colônias de *C. albicans*.

Em todos os estudos elaborados por Bohora e Kokate,[17,18,32] a admintração local de probióticos demonstrou um perfil competitivo contra *E. faecalis*, o que sugere que a terapia probiótica consiste na substituição da microbiota intracanal, criando um ambiente mais favorável para o reestabelecimento do equilíbrio, já que esta substituição causa uma desorganização do biofilme resistente criado pelo *E. faecalis*.

Utilização de probióticos no interior do sistema de canais radiculares

Durante o tratamento endodôntico, a utilização de irrigante intracanal é essencial para o processo de desinfecção do SCR.[33] O NaOCl é o irrigante mais popular por sua capacidade de dissolver tecidos necróticos e remanescentes orgânicos, e por sua atividade antimicrobiana eficaz.[33,34] Porém, devido à toxicidade apresentada pelo NaOCl em altas concentrações, e a dificuldade na eliminação de endotoxinas bacterianas, a busca por novos irrigantes para o uso durante tratamento endodôntico tem ocorrido.[35-38] El-Sayed *et al*.[21] procuraram determinar os efeitos dos probióticos quando utilizados como irrigantes sob o *E. faecalis*. Assim como nos estudos elaborados por Bohora *et al.*[32] e Bohora e Kokate,[17,18] o estudo de El-Sayed *et al.*[21] demonstrou diminuição significativa na contagem de UFC de *E. faecalis*, apesar de ter apresentado resultados inferiores ao do NaOCl.

O uso da medicação intracanal pode potencializar a redução de micro-organismos após o PQM do SCR.[39,40] Portanto, Kim *et al*.[22,23] estudaram o uso de probióticos na inibição da formação de biofilme multiespécie. O objetivo do estudo de Kim *et al*.[22] foi determinar se o ácido lipoteicóico isolado de *L. plantarum* (Lp.LTA) inibe a formação de biofilme multiespécie oral e se reduz biofilme multiespécie pré-formado. Foi avaliado também se o Lp.LTA em combinação com medicações intracanais convencionais potencializava a eliminação do biofilme multiespécies pré-formado.[22] O estudo demonstrou que o Lp.LTA inibiu a formação de biofilmes multiespécies (*S. mutans, E. faecalis, L. salivarius e Actinomyces naeslundii*) em placas de cultura e em slices de dentina humana *in vitro*. Além disso, o Lp.LTA reduziu biofilmes multiespécies pré-formados, no entanto, esses efeitos foram aumentados quando combinados com medicações intracanais como clorexidina e hidróxido de cálcio.

No entanto, este primeiro trabalho de Kim *et al*.[22], utilizou biofilmes pré-formados, e sabe-se que os biofilmes maduros que se formam ao longo de 3 semanas são mais resistentes a medicações intracanais do que os biofilmes de fase inicial,[41-43] e concentrações altas dessas medicações podem apresentar efeitos colaterais.[44] Baseado nisso, um segundo estudo foi desenvolvido por Kim *et al.*[23], no qual foi avaliada a eficácia do Lp.LTA em combinação com

medicações intracanais (hidróxido de cálcio, clorexidina e pasta triantibiótica) para inibir o biofilme de *E. faecalis* de três semanas *in vitro* e *ex vivo*. Os resultados do estudo mostraram, *in vitro*, que o rompimento do biofilme bacteriano aumentou com a utilização do Lp.LTA de maneira dose-dependente e que a ação antimicrobiana da clorexidina e do hidróxido de cálcio foi melhorada após a associação com Lp.LTA. Quando o Lp.LTA foi administrado em diferentes momentos do tratamento (antes, durante e depois da clorexidina), foi observado que o pré-tratamento potencializou a atividade anti-biofilme da clorexidina. Já nos grupos em que o Lp.LTA e a clorexidina foram usadas simultaneamente, ou nos grupos em que o Lp.LTA foi usado após a clorexidina, este se mostrou ineficiente. Já em blocos de dentina (*ex vivo*), o tratamento foi realizado com Lp.LTA por 1 hora, seguido da clorexidina por 24horas. O resultado mostrou que o pré-tratamento com Lp.LTA potencializou o efeito da clorexidina em remover biofilme bacteriano.

Probióticos no tratamento da periodontite apical

Os efeitos benéficos da utilização de probióticos no tratamento da doença periodontal observados em estudos anteriores[9,12-14] podem ser relevantes para o auxílio do tratamento da periodontite apical, já que a sua etiopatogenia se assemelha com a da doença periodontal.

Mediadores inflamatórios liberados em resposta à invasão de micro-organismos no canal radicular são importantes para o desenvolvimento e progressão das manifestações clínicas da periodontite apical.[45] Esses mediadores causam vasodilatação, aumentam permeabilidade e também podem aumentar a inflamação sistêmica.[46] Cosme-Silva *et al*.[19] buscaram avaliar os efeitos da utilização sistêmica de probióticos na periodontite apical em ratos. Por demonstrarem resultados significativos em doenças inflamatórias, as cepas *L. rhamnosus* e *L. acidophilus* foram utilizadas[47,48] no estudo. O trabalho mostrou que a suplementação com probióticos teve um efeito significativo na severidade da periodontite apical em ratos e levou a redução significativa na contagem de micro-organismos no canal radicular quando comparado ao grupo controle (sem administração de probióticos). Assim como em pesquisas realizadas em casos de doença periodontal, os probióticos selecionados neste estudo foram capazes de diminuir o infiltrado inflamatório e mediadores pró-inflamatórios (IL-1 e IL-6) e, foram capazes de aumentar os níveis de mediadores anti-inflamatórios (IL-10), gerando a modulação positiva da resposta do hospedeiro. Os autores concluem que estes resultados demonstram o efeito anti-inflamatório dos probióticos no desenvolvimento da periodontite apical em ratos.

Foi sugerido que os probióticos poderiam afetar o metabolismo ósseo por meio de seus efeitos anti-inflamatórios e de sua facilidade em absorver nutrientes e minerais no intestino[49]. O estudo mais recente de Cosme-Silva *et al*.[20] buscou avaliar a relação entre a administração sistêmica de probióticos e os processos de inflamação/reabsorção, associados a periodontite apical em ratos. Os resultados mostraram que os probióticos aumentaram a quantidade de OPG e diminuíram o RANKL, reduzindo a reabsorção óssea por osteoclastogênese induzida por RANKL. Portanto, quando *L. rhamnosus* e *L. acidophilus* foram administrados, houve uma redução significativa na inflamação e reabsorção óssea.

***Tabela 1**: Principais resultados dos estudos incluídos.*

Artigos incluídos	Principais resultados
Bohora *et al*.[17]	Os probióticos *L. plantarum* e *L. rhamnosus* foram selecionados para avaliar sua atividade antimicrobiana contra o *E. faecalis* pelo método de difusão em ágar e pelo teste do antagonismo de crescimento, porém só o primeiro método mostrou efeito inibitório no crescimento de *E. faecalis*, no segundo método não foram observadas zonas de inibição contra o microrganismo testado.
Bohora *et al*.[18]	Na fase 1, o estudo foi conduzido pelo teste de difusão em ágar para avaliar a atividade antimicrobiana dos probióticos comerciais (Ecobion e darolac) contra E. faecalis e C. albicans. O estudo mostrou que os probióticos apresentaram atividade antimicrobiana contra o *E. faecalis* mas não tiveram efeito sobre o *C. albicans*. Na fase 2, os dois probióticos foram avaliados quanto a sua eficácia em inibir a formação de biofilme dos patógenos endodônticos e os resultados mostraram que os probióticos tiveram efeito antimicrobiano contra os microrganismos testados.
Cosme-Silva *et al*.[19]	Este estudo buscou avaliar os efeitos da utilização sistêmica de probióticos (*L. rhamnosus* e *L. acidophilus*) na periodontite apical em ratos. O trabalho mostrou que a suplementação com probióticos teve um efeito significativo na severidade da resposta inflamatória quando comparado ao grupo controle, (diminuição do infiltrado inflamatório) e levou a uma redução significativa na contagem de micro-organismos no canal radicular e na saliva quando comparado ao grupo controle. Os probióticos selecionados neste estudo apresentaram menor área de lesão periapical e foram capazes de diminuir os níveis de mediadores pró-inflamatórios (IL-1 e IL-6) e aumentar os níveis de mediadores anti-inflamatórios (IL-10), gerando a modulação positiva da resposta do hospedeiro.

***Tabela 1**: Principais resultados dos estudos incluídos.*

Artigos incluídos	Principais resultados
Cosme-Silva *et al*.[20]	O estudo buscou avaliar a relação entre a administração sistêmica de probióticos (*L. rhamnosus* e *L. acidophilus*) e os processos de inflamação/reabsorção associados a periodontite apical em ratos. Os resultados mostraram que os probióticos tiveram a magnitude da resposta inflamatória diminuída quando comparada ao grupo controle. Os dois probióticos testados aumentaram a quantidade de OPG e diminuíram o RANKL, quando comparados ao grupo controle. Reduzindo assim, a reabsorção óssea por osteoclastogênese induzida por RANKL. Além disso, imagens de microtomografia computadorizada mostraram menor volume de reabsorção óssea quando comparados ao controle. Portanto, quando *L. rhamnosus* e *L. acidophilus* foram administrados, houve uma redução significativa na inflamação e reabsorção óssea.
El-Sayed *et al*.[21]	O estudo buscou determinar os efeitos do probiótico *L. rhamnosus* quando utilizado como irrigantes sob o *E. faecalis*. Foram utilizados três grupos: irrigação com solução salina (controle negativo), NaOCl (controle positivo) e probiótico. As coletas foram realizadas imediatamente depois da irrigação e após 24hs. Os resultados demonstraram que o grupo NaOCl teve a menor contagem de UFC (imediatamente e após 24hs), seguido do grupo probiótico.
Kim *et al*.[22]	O estudo avaliou se o ácido lipoteicóico isolado *L. plantarum* (Lp.LTA) inibe a formação de biofilme multiespécie oral e se reduz biofilme multiespécie pré formado. Foi avaliado também se o Lp.LTA em combinação com medicações intracanais convencionais potencializava a eliminação do biofilme multiespécies pré- formado. O estudo demonstrou que o Lp.LTA inibiu a formação de biofilmes multiespécies (*S. mutans, E. faecalis, L. salivarius* e *A. naeslundii*) em placas de cultura e em slices de dentina humana in vitro. Além disso, o Lp.LTA reduziu biofilmes multiespécies pré-formados, no entanto, esses efeitos foram aumentados quando combinados com medicações intracanais como clorexidina e hidróxido de cálcio.
Kim *et al*.[23]	Foi avaliada a eficácia do Lp.LTA sozinho e em combinação com medicações intracanais para inibir o biofilme de *E. faecalis* de três semanas *in vitro* e *ex vivo*. *In vitro*, o estudo demonstrou que o rompimento do biofilme bacteriano aumentou com a utilização do Lp.LTA de maneira dose-dependente e o tratamento com Lp.LTA seguido por hidróxido de cálcio ou clorexidina apresentou menores áreas cobertas por biofilme. Quando o Lp.LTA foi administrado em diferentes momentos do tratamento (antes, durante e depois da clorexidina), foi observado que o pré-tratamento potencializou a atividade anti-biofilme da clorexidina, enquando nos grupos em que o Lp.LTA e a clorexidina foram usadas simultaneamente ou nos grupos em que o Lp.LTA foi usado após a clorexidina, foi ineficiente. Já em blocos de dentina (*ex vivo*), o tratamento foi realizado com Lp.LTA por 1 hora, seguido da clorexidina por 24hs. O resultado mostrou que pré-tratamento com Lp.LTA potencializou o efeito da clorexidina em remover biofilme bacteriano.
Bohora *et al*.[32]	O estudo avaliou a atividade antimicrobiana dos probióticos do grupo *Lactobacilli* e *Bifidobacterium* contra *E. faecalis* e *C. albicans*. No estágio planctônico, os probióticos apresentaram atividade inibitória contra os patógenos endodônticos. No estágio de biofilme, os probióticos apresentaram redução no crescimento de *E. faecalis*, e somente o grupo Lactobacilli apresentou redução nas colônias de *C. albicans*.

CONCLUSÃO

Embora tenhamos diversos estudos com efeitos positivos corrrelacionando o uso de diferentes cepas probióticas com especialidades da odontologia, ainda são escassos os trabalhos que comprovem o efeito benéfico da terapia probiótica na endodontia, seja de forma sistêmica ou local. A grande maioria dos estudos presentes na literatura até o presente momento, apoiam que os probióticos têm um potencial papel terapêutico na endodontia devido aos seus efeitos antimicrobianos, antibiofilmes, anti-inflamatórios, imunomoduladores e na promoção da reabsorção óssea. No entanto, esses estudos apresentam baixo nível de evidência por serem experimentos realizados *in vitro* e em animais, sendo necessária a realização de trabalhos clínicos para avaliação do efeito benéfico de sua utilização na prática endodôntica.

REFERÊNCIAS

1. Sanders ME. Probiotics: definition, sources, selection, and uses. Clin Infect Dis. 2008 Feb;46(2):58-61. doi: 10.1086/523341.
2. Zhao R, Hu H, Wang Y, Lai W, Jian F. Efficacy of Probiotics as Adjunctive Therapy to Nonsurgical Treatment of Peri-Implant Mucositis: A Systematic Review and Meta-Analysis. Front Pharmacol. 2021 Jan;18(11):541752. doi: 10.3389/fphar.2020.541752.
3. 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
4. Teughels W, Loozen G, Quirynen M. Do probiotics offer opportunities to manipulate the periodontal oral microbiota? J Clin Periodontol. 2011 Mar;38 Suppl (11):159-77. doi: 10.1111/j.1600-051X.2010.01665.x.
5. Bermudez-Brito M, Plaza-Díaz J, Muñoz-Quezada S, Gómez-Llorente C, Gil A. Probiotic mechanisms of action. Ann Nutr Metab. 2012 61(2):160-74. doi:10.1159/000342079.

6. Meurman JH. Probiotics: do they have a role in oral medicine and dentistry? Eur J Oral Sci. 2005 Jun;113(3):188-96. doi: 10.1111/j.1600-0722.2005.00191.x.
7. Teughels W, Van Essche M, Sliepen I, Quirynen M. Probiotics and oral healthcare. Periodontol 2000. 2008 48:111-47. doi: 10.1111/j.1600-0757.2008.00254.x.
8. George Kerry R, Patra JK, Gouda S, Park Y, Shin HS, Das G. Benefaction of probiotics for human health: A review. J Food Drug Anal. 2018 Jul;26(3):927-39. doi: 10.1016/j.jfda.2018.01.002.
9. Tejero-Sariñena S, Barlow J, Costabile A, Gibson GR, Rowland I. In vitro evaluation of the antimicrobial activity of a range of probiotics against pathogens: evidence for the effects of organic acids. Anaerobe. 2012 Oct;18(5):530-8. doi: 10.1016/j.anaerobe.2012.08.004.
10. Ammor MS, Flórez AB, Mayo B. Antibiotic resistance in non-enterococcal lactic acid bacteria and bifidobacteria. Food Microbiol. 2007 Sep;24(6):559-70. doi: 10.1016/j.fm.2006.11.001.
11. Lee J, Yun HS, Cho KW, Oh S, Kim SH, Chun T, *et al*. Evaluation of probiotic characteristics of newly isolated Lactobacillus spp.: immune modulation and longevity. Int J Food Microbiol. 2011 Aug 2;148(2):80-6. doi: 10.1016/j.ijfoodmicro.2011.05.003.
12. Teanpaisan R, Piwat S, Dahlén G. Inhibitory effect of oral Lactobacillus against oral pathogens. Lett Appl Microbiol. 2011 Oct;53(4):452-9. doi: 10.1111/j.1472-765X.2011.03132.x.
13. Ahola AJ, Yli-Knuuttila H, Suomalainen T, Poussa T, Ahlström A, Meurman JH, *et al*. Short-term consumption of probiotic-containing cheese and its effect on dental caries risk factors. Arch Oral Biol. 2002 Nov;47(11):799-804. doi: 10.1016/s0003-9969(02)00112-7.
14. Riccia DN, Bizzini F, Perilli MG, Polimeni A, Trinchieri V, Amicosante G, *et al*. Anti-inflammatory effects of Lactobacillus brevis (CD2) on periodontal disease. Oral Dis. 2007 Jul;13(4):376-85. doi: 10.1111/j.1601-0825.2006.01291.x.
15. Teughels W, Newman MG, Coucke W, Haffajee AD, Van Der Mei HC, Haake SK, *et al*. Guiding periodontal pocket recolonization: a proof of concept. J Dent Res. 2007 Nov;86(11):1078-82. doi: 10.1177/154405910708601111.
16. Ricoldi MST, Furlaneto FAC, Oliveira LFF, Teixeira GC, Pischiotini JP, Moreira ALG, *et al*. Effects of the probiotic Bifidobacterium animalis subsp. lactis on the non-surgical treatment of periodontitis. A histomorphometric, microtomographic and immunohistochemical study in rats. PLoS One. 2017 Jun 29;12(6):e0179946. doi: 10.1371/journal.pone.0179946.
17. Bohora AA, Kokate SR. Good Bugs vs Bad Bugs: Evaluation of Inhibitory Effect of Selected Probiotics against Enterococcus faecalis. J Contemp Dent Pract. 2017 Apr 1;18(4):312-316. doi: 10.5005/jp-journals-10024-2037.
18. Bohora A, Kokate S. Evaluation of the Role of Probiotics in Endodontic Treatment: A Preliminary Study. J Int Soc Prev Community Dent. 2017 Jan-Feb;7(1):46-51. doi: 10.4103/2231-0762.200710.
19. Cosme-Silva L, Dal-Fabbro R, Cintra LTA, Dos Santos VR, Duque C, Ervolino E, *et al*. Systemic administration of probiotics reduces the severity of apical periodontitis. Int Endod J. 2019 Dec;52(12):1738-1749. doi: 10.1111/iej.13192.
20. Cosme-Silva L, Dal-Fabbro R, Cintra LTA, Ervolino E, Prado ASD, Oliveira DP, *et al*. Dietary supplementation with multi-strain formula of probiotics modulates inflammatory and immunological markers in apical periodontitis. J Appl Oral Sci. 2021 Jan 25;29:e20210483. doi: 10.1590/1678-7757-2020-0483.
21. El-Sayed H, Aly Y, Elgamily H, Nagy MM. A Promising Probiotic Irrigant: An *in vitro* study. Open Access Maced J Med Sci. 2019 Jan 28;7(3):407-411. doi: 10.3889/oamjms.2019.074.
22. Kim AR, Ahn KB, Yun CH, Park OJ, Perinpanayagam H, Yoo YJ, *et al*. Lactobacillus plantarum Lipoteichoic Acid Inhibits Oral Multispecies Biofilm. J Endod. 2019 Mar;45(3):310-315. doi: 10.1016/j.joen.2018.12.007.
23. Kim AR, Kang M, Yoo YJ, Yun CH, Perinpanayagam H, Kum KY, *et al*. Lactobacillus plantarum lipoteichoic acid disrupts mature Enterococcus faecalis biofilm. J Microbiol. 2020 Apr;58(4):314-319. doi: 10.1007/s12275-020-9518-4.
24. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. Oral Surg Oral Med Oral Pathol. 1965 Sep;20:340-9. doi: 10.1016/0030-4220(65)90166-0.
25. Schilder H. Cleaning and shaping the root canal. Dent Clin North Am. 1974;18(2):269-96.
26. Walton RE. Histologic evaluation of different methods of enlarging the pulp canal space. J Endod. 1976 Oct;2(10):304-11. doi: 10.1016/S0099-2399(76)80045-3.
27. Bystrom A, Happonen RP, Sjogren U, Sundqvist G. Healing of periapical lesions of pulpless teeth after endodontic treatment with controlled asepsis. Endod Dent Traumatol. 1987 Apr;3(2):58-63. doi: 10.1111/j.1600-9657.1987.tb00543.x.
28. Antunes HS, Rôças IN, Alves FR, Siqueira JF Jr. Total and Specific Bacterial Levels in the Apical Root Canal System of Teeth with Post-treatment Apical Periodontitis. J Endod. 2015 Jul;41(7):1037-42. doi: 10.1016/j.joen.2015.03.008.
29. Siqueira JF Jr, Antunes HS, Pérez AR, Alves FRF, Mdala I, Silva EJNL, Belladonna FG, Rôças IN. The Apical Root Canal System of Teeth with Posttreatment Apical Periodontitis: Correlating Microbiologic, Tomographic, and Histopathologic Findings. J Endod. 2020 Sep;46(9):1195-1203. doi: 10.1016/j.joen.2020.05.020.
30. Siqueira JF, Lima KC, Magalhães FA, Lopes HP, de Uzeda M. Mechanical reduction of the bacterial population in the root canal by three instrumentation techniques. J Endod. 1999 May;25(5):332-5. doi: 10.1016/S0099-2399(06)81166-0.
31. Sundqvist G, Figdor D, Persson S, Sjögren U. Microbiologic analysis of teeth with failed endodontic treatment and the outcome of conservative re-treatment. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 1998 Jan;85(1):86-93. doi: 10.1016/s1079-2104(98)90404-8.
32. Bohora A, Kokate S, Khedkar S, Vankudre A. Antimicrobial activity of probiotics against endodontic pathogens: a preliminary study. Indian J Med Microbiol 2019 Jan-Mar;37(1):5-11. doi: 10.4103/ijmm.IJMM_18_333.
33. Ruksakiet K, Hanák L, Farkas N, Hegyi P, Sadaeng W, Czumbel LM, Sang-Ngoen T, Garami A, Mikó A, Varga G, Lohinai Z. Antimicrobial Efficacy of Chlorhexidine and Sodium Hypochlorite in Root Canal Disinfection: A Systematic Review and Meta-analysis of Randomized Controlled Trials. J Endod. 2020 Aug;46(8):1032-1041.e7. doi: 10.1016/j.joen.2020.05.002.
34. Tartari T, Bachmann L, Maliza AG, Andrade FB, Duarte MA, Bramante CM. Tissue dissolution and modifications in dentin composition by different sodium hypochlorite concentrations. J Appl Oral Sci. 2016 May-Jun;24(3):291-8. doi: 10.1590/1678-775720150524.
35. Bukhari S, Kim D, Liu Y, Karabucak B, Koo H. Novel Endodontic Disinfection Approach Using Catalytic Nanoparticles. J Endod. 2018 May;44(5):806-812. doi: 10.1016/j.joen.2017.12.003.

36. Gomes BP, Martinho FC, Vianna ME. Comparison of 2.5% sodium hypochlorite and 2% chlorhexidine gel on oral bacterial lipopolysaccharide reduction from primarily infected root canal. J Endod 2009;35:1350–3. doi: 10.1016/j.joen.2009.06.011
37. Kfir A, Goldenberg C, Metzger Z, Hülsmann M, Baxter S. Cleanliness and erosion of root canal walls after irrigation with a new HEDP-based solution vs. traditional sodium hypochlorite followed by EDTA. A scanning electron microscope study. Clin Oral Investig. 2020 Oct;24(10):3699-3706. doi: 10.1007/s00784-020-03249-w.
38. Rôças IN, Provenzano JC, Neves MA, Siqueira JF Jr. Disinfecting Effects of Rotary Instrumentation with Either 2.5% Sodium Hypochlorite or 2% Chlorhexidine as the Main Irrigant: A Randomized Clinical Study. J Endod. 2016 Jun;42(6):943-7. doi: 10.1016/j.joen.2016.03.019.
39. Ghahramani Y, Mohammadi N, Gholami A, Ghaffaripour D. Antimicrobial Efficacy of Intracanal Medicaments against *E. Faecalis* Bacteria in Infected Primary Molars by Using Real-Time PCR: A Randomized Clinical Trial. Int J Dent. 2020 Dec 21;2020:6669607. doi: 10.1155/2020/6669607.
40. Moradi Eslami L, Vatanpour M, Aminzadeh N, Mehrvarzfar P, Taheri S. The comparison of intracanal medicaments, diode laser and photodynamic therapy on removing the biofilm of Enterococcus faecalis and Candida albicans in the root canal system (ex-vivo study). Photodiagnosis Photodyn Ther. 2019 Jun;26:157-161. doi: 10.1016/j.pdpdt.2019.01.033.
41. Shen Y, Stojicic S, Haapasalo M. Antimicrobial efficacy of chlorhexidine against bacteria in biofilms at different stages of development. J Endod. 2011 May;37(5):657-61. doi: 10.1016/j.joen.2011.02.007.
42. Stojicic S, Shen Y, Haapasalo M. Effect of the source of biofilm bacteria, level of biofilm maturation, and type of disinfecting agent on the susceptibility of biofilm bacteria to antibacterial agents. J Endod. 2013 Apr;39(4):473-7. doi: 10.1016/j.joen.2012.11.024.
43. Tagelsir A, Yassen GH, Gomez GF, Gregory RL. Effect of Antimicrobials Used in Regenerative Endodontic Procedures on 3-week-old Enterococcus faecalis Biofilm. J Endod. 2016 Feb;42(2):258-62. doi: 10.1016/j.joen.2015.09.023.
44. Arabaci T, Türkez H, Çanakçi CF, Özgöz M. Assessment of cytogenetic and cytotoxic effects of chlorhexidine digluconate on cultured human lymphocytes. Acta Odontol Scand. 2013 Sep;71(5):1255-60. doi: 10.3109/00016357.2012.757646.
45. Graves DT, Oates T, Garlet GP. Review of osteoimmunology and the host response in endodontic and periodontal lesions. J Oral Microbiol. 2011 Jan;17(3). doi: 10.3402/jom.v3i0.5304.
46. Bergandi L, Giuggia B, Alovisi M, Comba A, Silvagno F, Maule M, *et al*. Endothelial dysfunction marker variation in young adults with chronic apical periodontitis before and after endodontic treatment. J Endod. 2019 May;45(5):500-506. doi: 10.1016/j.joen.2019.01.018.
47. Toiviainen A, Jalasvuori H, Lahti E, Gursoy U, Salminen S, Fontana M, *et al*. Impact of orally administered lozenges with Lactobacillus rhamnosus GG and Bifidobacterium animalis subsp. lactis BB-12 on the number of salivary mutans streptococci, amount of plaque, gingival inflammation and the oral microbiome in healthy adults. Clin Oral Investig. 2015 Jan;19(1):77-83. doi: 10.1007/s00784-014-1221-6.
48. Gatej SM, Marino V, Bright R, Fitzsimmons TR, Gully N, Zilm P, *et al*. Probiotic Lactobacillus rhamnosus GG prevents alveolar bone loss in a mouse model of experimental periodontitis. J Clin Periodontol. 2018 Feb;45(2):204-212. doi: 10.1111/jcpe.12838.
49. Amin N, Boccardi V, Taghizadeh M, Jafarnejad S. Probiotics and bone disorders: the role of RANKL/RANK/ OPG pathway. Aging Clin Exp Res. 2020 32:363–371. doi. org/10.1007/s40520-019-01223-5.