

**UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO**

**Camila Rafaela Mousquer**

**INULINA E *STREPTOCOCCUS SALIVARIUS*  
REDUZEM A HALITOSE ASSOCIADA À  
SABURRA LINGUAL: UM ENSAIO CLÍNICO  
RANDOMIZADO**

**Passo Fundo**

**2016**

**Camila Rafaela Mousquer**

**INULINA E *STREPTOCOCCUS SALIVARIUS*  
REDUZEM A HALITOSE ASSOCIADA À  
SABURRA LINGUAL: UM ENSAIO CLÍNICO  
RANDOMIZADO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia da Faculdade de Odontologia da UPF, para obtenção do título de Mestre em Odontologia – Área de Concentração em Clínica Odontológica, sob orientação do professor Dr. Fernando Fornari e coorientação do professor Dr. Alvaro Della Bona.

**Passo Fundo**

**2016**

Folha reservada para  
Ata de aprovação da Banca Examinadora

Observação:

Mantenha esta página no seu arquivo, imprimindo-a.  
Após, faça a substituição pela Ata de aprovação fornecida pela  
Secretaria para manter a correta numeração do seu trabalho.

CIP – Catalogação na Publicação

- 
- M933i Mousquer, Camila Rafaela  
Inulina e streptococcus salivarius reduzem a  
halitose associada à saburra lingual : um ensaio clínico  
randomizado / Camila Rafaela Mousquer. – 2016.  
122 p. : il. color. ; 21 cm.
- Orientador: Professor Dr. Fernando Fornari.  
Coorientador: Professor Dr. Álvaro Della Bona.  
Dissertação (Mestrado em Odontologia) –  
Universidade de Passo Fundo, 2016.
1. Odontologia. 2. Halitose. 3. Probióticos. 4.  
Prebióticos. I. Fornari, Fernando, orientador. II. Bona,  
Álvaro Della, coorientador. III. Título.

CDU: 616

---

Catalogação: Bibliotecária Marcieli de Oliveira - CRB 10/2113

## **BIOGRAFIA DO AUTOR**

### **Camila Rafaela Mousquer**

Nasceu em Santo Ângelo no dia 27.03.1989, graduada em Odontologia pelo Centro Universitário Franciscano no ano de 2010. Atuou como cirurgiã-dentista na saúde pública de 2011/1 a 2014/2. Atualmente estudante de mestrado no Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade de Passo Fundo.

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Deus por se fazer presente em minha vida durante esta jornada de pós-graduação, guiando meus caminhos em todos os momentos. Pela fé, força incansável e sabedoria para seguir em frente perante todos os obstáculos.

Agradeço aos meus pais e familiares por me proporcionarem esta oportunidade de grande aprendizado. Pelo amor incondicional e pela positividade em todos os momentos.

Agradeço ao meu namorado pela confiança e amor, por estar sempre ao meu lado quando precisei e por toda a paciência nos momentos mais difíceis.

Agradeço aos amigos pela amizade e companheirismo.

Amo muito vocês! Com o apoio de vocês com certeza o trabalho se tornou mais fácil.

Agradeço aos mestres responsáveis pela minha graduação e pós-graduação por todos os ensinamentos e conhecimento adquirido.

Agradeço aos colaboradores pela construção e execução do estudo.

Muito obrigada.

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	ix
LISTA DE FIGURAS.....	x
LISTA DE ABREVIATURAS.....	xi
RESUMO.....	12
ABSTRACT.....	14
1. INTRODUÇÃO.....	16
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	18
2.1 Halitose.....	18
2.2 Probióticos e prebióticos.....	24
2.3 Qualidade de vida em odontologia.....	29
3. PROPOSIÇÃO.....	32
4.1 Exame clínico.....	34
4.2 Avaliação de halitose.....	34
4.3 Teste organoléptico.....	35
4.4 Halímetro.....	35
4.5 Probióticos e prebióticos.....	35
4.6 Instrumentos.....	36
4.6.1 Avaliação da Qualidade de Vida Geral.....	36
4.6.2 Avaliação da Qualidade de Vida associada à saúde bucal.....	37
4.7 Protocolo do estudo.....	38
4.8 Análise estatística.....	39

5. RESULTADOS.....	41
5.1 Características dos pacientes .....	41
5.2 Teste organoléptico .....	42
5.3 Halímetro.....	43
5.4 Índice de saburra .....	45
5.5 QV geral e QV saúde bucal .....	46
5.6 Dados de aderência ao tratamento e segurança (parefeitos) .....	48
6. DISCUSSÃO .....	51
7. CONCLUSÃO .....	58
REFERÊNCIAS.....	59
APÊNDICES.....	68
ARTIGO SUBMETIDO .....	85

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Características dos pacientes (n=44).....	42
Tabela 2 - Teste organoléptico antes e depois dos tratamentos .....	43
Tabela 3 – Halímetro medido antes e depois dos tratamentos .....	44
Tabela 4 – Índice de saburra antes e depois dos tratamentos .....	46
Tabela 5 - Qualidade de vida pelo WHOQOL-Bref antes e depois dos tratamentos.....	47
Tabela 6 - Qualidade de vida pelo OHIP-14 antes e depois dos tratamentos.....	48
Tabela 7 – Efeitos adversos durante os tratamentos .....	49
Tabela 8 - Aderência aos tratamentos .....	50

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Fluxograma do estudo .....	39
Figura 2 - Teste organoléptico antes e depois dos tratamentos .....	43
Figura 3 - Halímetro medido antes e depois dos tratamentos .....	45
Figura 4 - Índice de saburra antes e depois dos tratamentos .....	46

## LISTA DE ABREVIATURAS

- CSVs: Compostos Sulfurados Voláteis
- TCLE: Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
- WHOQOL-Bref: Questionário de qualidade de vida da OMS –  
versão abreviada
- OHIP-14: Questionário sobre Impacto na Saúde Bucal – versão  
abreviada
- QV: Qualidade de Vida
- ppb: partes por bilhão
- UFC: Unidades formadoras de colônias
- g: gramas
- GEE: Equações de estimação generalizada
- QICc: critério de quase verossimilhança sob modelo de  
independência corrigido
- p: índice de significância estatística
- SS: *Streptococcus salivarius*

## RESUMO

Fundamento: A halitose associada à saburra lingual resulta da produção de compostos sulfurados voláteis pela ação bacteriana. O uso de prebiótico e probiótico poderia ser útil no tratamento de tal condição. Objetivo: Avaliar o efeito da combinação do prebiótico inulina e do probiótico *Streptococcus salivarius* (SS) na halitose por saburra. Métodos: Neste ensaio clínico duplo-cego e randomizado, 45 pacientes ( $35 \pm 15$  anos, 66% mulheres) com halitose por saburra foram alocados para 3 grupos de tratamento com gomas de dissolução oral por 10 dias, sendo 15 pacientes em cada grupo: inulina+SS, SS e placebo. Teste organoléptico, halímetro, índice de saburra e avaliação de qualidade de vida (geral pelo WHOQOL-Bref e saúde oral pelo OHIP-14) foram realizados antes e após os tratamentos. Equações de estimação generalizada foram usadas para avaliar o efeito dos tratamentos. Resultados: Quarenta e quatro pacientes (97%) concluíram o estudo. Pacientes tratados com inulina+SS apresentaram maior redução na halitose medida pelo halímetro em comparação com os grupos SS (antes/depois do tratamento: 180,5/99,7 ppb vs 197,1/125,1;  $p = 0,049$ ) e placebo (antes/depois do tratamento: 180,5/99,7 ppb vs. 186,9/149,1;  $p = 0,002$ ). Qualidade de vida melhorou em ambos os grupos que contêm

SS, mas sem superioridade entre eles. Conclusão: Neste ensaio clínico de fase IIa, a combinação de inulina e *Streptococcus salivarius* foi superior no controle da halitose por saburra em comparação a *Streptococcus salivarius* isolado e placebo.

Palavra-chave: halitose, saburra lingual, probiótico e prebiótico.

## ABSTRACT<sup>1</sup>

Background: Halitosis associated with tongue coating results from the production of volatile sulfur compounds by bacterial action. The use of prebiotics and probiotics could be useful in treating such condition. Objective: To evaluate the effect of the combination of prebiotic inulin and probiotic *Streptococcus salivarius* (SS) in patients with halitosis by coating. Methods: In this double-blind, randomized trial, 45 patients ( $35 \pm 15$  years, 66% women) with halitosis by coating were allocated to three treatment groups using gum of oral dissolution for 10 days, containing: inulin+SS, SS and placebo. Organoleptic test, halimeter, coating index and evaluation of quality of life (OHIP-14 and WHOQOL-Bref) were performed before and after treatments. Generalized estimating equations were used to evaluate the effects. Results: Forty-four patients (97%) completed the study. Patients treated with inulin+SS showed greater reduction in halitosis measured by halimeter as compared to both SS only (before/after treatment: 180.5/99.7 ppb vs 197.1/125.1;  $p = 0.049$ ) and placebo (before/after treatment: 180.5/99.7 ppb vs. 186.9/149.1;  $p = 0.002$ ). Quality of life improved in both groups containing SS, but without superiority between them. Conclusions: In this phase IIa clinical trial the combination of inulin and *Streptococcus salivarius* was superior in

controlling halitosis by coating as compared to *Streptococcus salivarius* only and placebo.

Keyword: Halitosis, tongue coating, probiotic and prebiotic.

---

<sup>1</sup> Inulin and *Streptococcus salivarius* reduce halitosis associated with tongue coating: A randomized clinical trial

## 1. INTRODUÇÃO

Halitose é a exteriorização de odores fétidos da cavidade oral, afetando 30% a 50% da população, podendo resultar em prejuízos no convívio social (Rösing & Loesche, 2011; Liu *et al.*, 2006; Frexinos *et al.*, 1998; Bornstein *et al.*, 2009). A causa mais comum da halitose é a saburra lingual, seguido da doença periodontal e condições sistêmicas (Seemann *et al.*, 2014; Quirynen *et al.*, 2009).

A região dorso-posterior da língua é a principal fonte da saburra, que pode produzir compostos sulfurados voláteis (CSV) mal cheirosos pela ação bacteriana na putrefação de substratos orgânicos (Aylikci & Colak, 2013; Seemann *et al.*, 2014; Iatropoulos *et al.*, 2016). A microbiota da língua é portanto um fator crucial na fisiopatologia da halitose. Bactérias como *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythensis*, *Fusobacterium nucleatum* e *Treponema denticola* parecem estar envolvidas na halitose pela produção de CSVs (Yang *et al.*, 2013; Xu *et al.*, 2015). Por outro lado, pessoas sem halitose têm bactérias possivelmente benéficas na flora oral, como o *Streptococcus salivarius* (Meurman & Stamatova, 2007; Gupta, 2011; Teughels *et al.*, 2008). Estudos recentes têm utilizado bactérias comensais benéficas na forma de probióticos no tratamento de condições

da cavidade oral (Burton *et al.*, 2005; Burton *et al.*, 2006; Wescombe *et al.*, 2012; Teughels *et al.*, 2013). De fato, o uso de pastilhas contendo *Streptococcus salivarius* K12 parece reduzir os níveis dos CSVs entre os pacientes com diagnóstico de halitose (Burton *et al.*, 2006).

Além dos benefícios dos probióticos, o consumo de alimentos prebióticos pode auxiliar na proliferação das bactérias probióticas na microflora oral (Raizel *et al.*, 2011; Dos Santos & Caçado, 2009; Teughels *et al.*, 2008; Kaur & Gupta, 2002; Martinez *et al.*, 2015). Os prebióticos são carboidratos em forma de fibras não digeríveis, encontradas em alimentos como cebola, cereais, banana, trigo, tomate ou ingeridos juntamente com os probióticos, sendo conhecidos como os simbióticos. Estimulam a proliferação e a atividade da flora microbiana, inibindo a proliferação de patógenos e favorecendo a defesa imunológica (Dos Santos & Caçado, 2009; Kaur & Gupta, 2002). Os prébióticos mais utilizados são a inulina, a oligofrutose e a frutooligofrutose (Kaur & Gupta, 2002; Ganaie *et al.*, 2014). Estes podem agir na cavidade oral promovendo o crescimento e o metabolismo do biofilme bacteriano oral, inserindo *Bifidobactérias*, *Lactobacilos* e *Streptococcus* que ajudam a evitar a colonização de bactérias patogênicas (Montenegro & Marchini, 2013; Martinez *et al.*, 2015).

O efeito da combinação prebiótico e probiótico na halitose por saburra é desconhecido. Até o presente os estudos foram restritos ao efeito dos probióticos na halitose. Assim, o nosso objetivo foi avaliar o efeito da combinação inulina e *Streptococcus salivarius* na halitose por saburra lingual, testando a hipótese de que a associação do prebiótico inulina potencializa os benefícios do probiótico *Streptococcus salivarius* em pacientes com esta condição.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Halitose

Existem vários conceitos para o termo “halitose”. Pode ser aclarada como odor ruim ou desagradável que emana da respiração bucal dos seres humanos sendo ofensiva aos outros (Rösing & Loesche, 2011; Aylikci & Colak, 2013; Seemann *et al.*, 2014; Laleman *et al.*, 2014; Yang *et al.*, 2013; Quirynen *et al.*, 2009; Akaji *et al.*, 2014). Acomete ambos os sexos e diversas faixas etárias, levando a constrangimentos sociais, transtornos psicológicos e prejuízo das relações interpessoais (Rösing & Loesche, 2011; Aylikci & Colak, 2013; Yang *et al.*, 2013; Quirynen *et al.*, 2009; Akaji *et al.*, 2014).

A prevalência da halitose é elevada. Estudos estimam que ela afeta entre 30 e 50% da população geral (Aylikci & Colak, 2013; Yang *et al.*, 2013; Fernandes *et al.*, 2007; Dadamio *et al.*, 2013; Zalewska *et al.*, 2012; Akaji *et al.*, 2014; Slot *et al.*, 2015; Iatropoulos *et al.*, 2016). Casos graves podem acometer até 5% da população geral (Rösing & Loesche, 2011), sendo portanto um problema de saúde pública.

O êxito no combate a halitose depende da correta identificação de sua etiologia. Para isto um exame clínico detalhado é crucial. Estima-se que 80 a 90% dos casos tem origem oral, resultantes de saburra lingual, doença periodontal, má higiene, placa bacteriana, próteses com retenção de alimentos, restaurações mal adaptadas e carcinomas. Os 10 a 20% restantes provêm de doenças otorrinolaringológicas, respiratórias, gastrointestinais, hematológicas, endocrino-metabólicas, e emocionais, além do consumo de alimentos e drogas (Rösing & Loesche, 2011; Aylikci & Colak, 2013; Seemann *et al.*, 2014; Laleman *et al.*, 2014; Fernandes *et al.*, 2007; Zalewska *et al.*, 2012; Akaji *et al.*, 2014; Slot *et al.*, 2015; Iatropoulos *et al.*, 2016).

A halitofobia ou pseudo-halitose consiste em o paciente acreditar que possui o mau odor oral, mesmo após ter sido diagnosticado não portador de halitose, por profissionais especializados (Rösing & Loesche, 2011; Aylikci & Colak, 2013; Seemann *et al.*, 2014; Laleman *et al.*, 2014; Zalewska *et al.*, 2012; Akaji *et al.*, 2014; Slot *et al.*, 2015). Tipicamente, quando interrogado este suposto mau odor é negado por pessoas que convivem com o paciente.

Um diagnóstico etiológico equivocado pode prolongar o problema, trazendo prejuízo na vida social do paciente (Aylikci & Colak, 2013; Dadamio *et al.*, 2013; Akaji *et al.*, 2014). Assim, o diagnóstico diferencial das causas orais deve ser feito pelo dentista. Nos demais casos, o odontólogo deve encaminhar o paciente a especialistas, médicos ou outros profissionais da saúde como psicólogos, em casos por exemplo de halitofobia.

O dorso da língua é um abrigo de bactérias anaeróbicas, sendo a saburra lingual uma das causas mais comuns de halitose, mesmo

na ausência de doença periodontal (Quirynem *et al.*, 2009; Aylikci & Colak, 2013; Zalewska *et al.*, 2012; Akaji *et al.*, 2014; Iatropoulos *et al.*, 2016). A doença periodontal pode provocar halitose na presença de inflamação decorrente de microorganismos patogênicos, decomposição de tecidos, putrefação de aminoácidos e diminuição do fluxo salivar, resultando na produção de CSVs (Rösing & Loesche, 2011; Iatropoulos *et al.*, 2016). Outras condições orais que podem causar halitose são: xerostomia, pericoronarite e ulcerações que devem contar com um diagnóstico diferencial e serem tratadas corretamente. A xerostomia depende de um bom exame clínico para ser diagnosticada. Essa condição impede a ação mecânica e biológica da saliva, causando o cheiro ruim (Aylikci & Colak, 2013).

Atualmente não há consenso em relação ao protocolo de abordagem diagnóstica para halitose (Laleman *et al.*, 2014). Acredita-se que na consulta odontológica inicial o profissional deve realizar uma anamnese completa sobre respiração, hábitos alimentares, histórico médico, relatos da higienização, tabagismo e etilismo, e uso de medicamentos (Laleman *et al.*, 2014; Fernandes *et al.*, 2007). O profissional pode também solicitar exames laboratoriais e radiográficos, para auxiliar na identificação de condições sistêmicas, assim como na localização de alterações dentais e periodontais (Fernandes *et al.*, 2007).

O diagnóstico do mau hálito envolve a detecção subjetiva do ar exalado, através do teste organoléptico, considerado o método padrão-ouro (Greenman *et al.*, 2015; Laleman *et al.*, 2014). Este teste pode identificar a presença da halitose pelo epitélio olfatório do examinador treinado, através da inalação do ar expirado pela boca do paciente, classificando-o em escalas (Greenman *et al.*, 2015; Laleman *et al.*, 2014;

Fernandes *et al.*, 2007; Dadamio *et al.*, 2013). Existem também aparelhos que mensuram objetivamente os CSVs, alguns são capazes de analisar os CSVs presentes no ar (OralChroma™, Halimeter e Breathron), enquanto que outros analisam esses compostos através da análise da saliva (Teste BANA) (Laleman *et al.*, 2014; Fernandes *et al.*, 2007; Dadamio *et al.*, 2013; Iatropoulos *et al.*, 2016).

Biologicamente, a halitose por saburra é provocada pela presença de CSVs, que resultam da degradação de substâncias orgânicas pela ação de bactérias patogênicas da cavidade oral (Seemann *et al.*, 2014). A atividade dessas bactérias que, por meio de suas enzimas, degradam peptídeos que contêm metionina e cisteína, produzem os CSVs (Zalewska *et al.*, 2012). Quando essas bactérias proliferam exageradamente, encontram condições adequadas para produzir os CSVs, ocorrendo liberação do enxofre, originando o odor fétido (Fernandes *et al.*, 2007; Slot *et al.*, 2015). Os CSVs incluem coletivamente o sulfeto de hidrogênio (H<sub>2</sub>S), metil mercaptano (CH<sub>3</sub>SH) e sulfeto de dimetilo (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>S (Aylikci & Colak, 2013; Yang *et al.*, 2011; Iatropoulos *et al.*, 2016).

Na cavidade bucal, a temperatura normalmente atinge 37°C, oscilando entre 34 e 37°C. A umidade pode chegar a 96%, variando entre 91% e 96%. Essas condições propiciam um ambiente ideal para o crescimento bacteriano (Aylikci & Colak, 2013). Portanto, a cavidade oral pode hospedar uma quantidade substancial de bactérias que dão origem a halitose. Dentre as principais bactérias encontradas incluem-se especialmente as gram negativas (Aylikci & Colak, 2013; Yang *et al.*, 2013; Zalewska *et al.*, 2012; Xu *et al.*, 2015; Lindhe *et al.*, 2005; Slot *et al.*, 2015).

Alguns estudos têm procurado identificar as bactérias causadoras do mau hálito, produtoras dos CSVs (Yang *et al.*, 2013; Xu *et al.*, 2015; Iatropoulos *et al.*, 2016), utilizando culturas. Bactérias orais como *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythensis*, *Fusobacterium nucleatum* e *Treponema denticola* têm sido consideradas como patógenas, pela capacidade em produzir CSVs. Porém, segundo Yang *et al.* (2013), a base microbiana do mau hálito permanece parcialmente obscura. Neste mesmo estudo, o resultado promoveu uma mudança no panorama da microbiota bucal. Encontrou-se abundância relativa de *Leptotrichia* e *Prevotella* correlacionada positivamente com a severidade da halitose, enquanto *Hemophilus* e *Gemella* exibiu uma relação negativa com a gravidade da halitose.

A intensidade do mau hálito varia para cada indivíduo, em momentos diferentes. Não há relatos de estudos longitudinais que investiguem como a microbiota se correlaciona com a variação da intensidade do odor fétido, inconstâncias interpessoais e coletas feitas em diferentes tempos de amostragens (Yang *et al.*, 2013).

Estudos relatam que a maior quantidade de bactérias capazes de causar halitose encontra-se na base da língua e no biofilme bacteriano (Zalewska *et al.*, 2012; Martinez *et al.*, 2015). Relata também que não é a presença do patógeno, mas a sua quantidade que causa o odor fétido. Existe uma correlação entre o número de bactérias, que são capazes de produzir os CSVs, com a gravidade da halitose. Foi detectada a presença de bactérias formadoras dos CSVs, tanto em pacientes com halitose intensa e persistente quando em pacientes com halitose suave (Zalewska *et al.*, 2012).

Rösing e Loesche (2011), indicam que para combater a halitose os profissionais devem incluir abordagens antimicrobianas e químicas, além das mecânicas, como métodos terapêuticos. Alguns estudos mostram que estas abordagens se mostram pouco eficientes (Slot *et al.*, 2015; Akaji *et al.*, 2014; Iatropoulos *et al.*, 2016).

O revestimento da língua é composto por bactérias, restos alimentares, células descamativas, fungos e enzimas ativas que participam do processo de digestão. Tal composição é natural tanto em pacientes saudáveis como em pacientes com gengivite e periodontite (Van Tornout *et al.*, 2013). Na região dorso posterior e na secção do meio da língua é onde se encontra a maior quantidade desses detritos. Devido a sua anatomia, a língua tende a variar de cor e espessura. Acredita-se que a fonte primária de produção do mau cheiro na cavidade bucal é a região dorso posterior da língua. Nesta região as bactérias deterioram substâncias inorgânicas gerando uma série de materiais voláteis (Van Tornout *et al.*, 2013; Aylikci & Colak, 2013; Zalewska *et al.*, 2012; Rösing & Loesche, 2011; Seemann *et al.*, 2014; Iatropoulos *et al.*, 2016).

A ação deste revestimento patogênico tem sido descrita por diversos estudos. Segundo Quirynen *et al.* (2009), o qual avaliou 2000 pacientes em uma clínica multidisciplinar de mau hálito (Leuven, Bélgica), aproximadamente 76% dos casos de halitose tinham origem bucal, e a saburra lingual correspondeu a 43,3% dos casos, e em associação com gengivite e periodontite em 18,2%. E conforme Fernandes *et al.* (2007), dentre as causas locais de halitose, a saburra lingual é a de maior importância, aparecendo em 90% dos casos. Um relato de estudo mostra que a saburra lingual é o único fator que

correlaciona à carga bacteriana com as avaliações organolépticas e valores dos CSVs (Wilhelm *et al.*, 2012).

A combinação da limpeza mecânica da língua, com escova dental, raspadores de língua ou até mesmo uma gaze, associada a uma substância ativa como enxaguatórios bucais antimicrobianos podem reduzir a halitose (Wilhelm *et al.*, 2012; Iatropoulos *et al.*, 2016). Assim, a abordagem terapêutica atual, na causa de origem oral, está em reduzir mecânica e quimicamente a carga bacteriana presente no dorso da língua (Aylikci & Colak, 2013; Iatropoulos *et al.*, 2016). Na halitose relacionada à doença periodontal, tem-se a opção de tratamento com raspagem e alisamento radicular, diminuindo a profundidade de bolsas periodontais e os sintomas da inflamação gengival, eliminando desta forma bactérias patogênicas. Também o controle da gengivite, gengivite ulcerativa necrosante, a partir do controle da placa bacteriana. Instruções adequadas de higiene oral, que é empecilho causador de halitose, incluem escovação correta, uso do fio dental, e escovação da língua (Aylikci & Colak, 2013; Lindhe *et al.*, 2005; Slot *et al.*, 2015; Iatropoulos *et al.*, 2016).

Além dessas medidas clássicas, estudos recentes têm demonstrado benefício com o uso de probióticos, em especial o *Streptococcus salivarius* (Burton *et al.*, 2005; Burton *et al.*, 2006; Wescombe *et al.*, 2012).

## **2.2 Probióticos e prebióticos**

Sabe-se que o corpo humano é hospedeiro de uma diversificada flora microbiana, com cerca de 100 trilhões de microrganismos. A cada

dia ingerimos uma grande quantidade desses microrganismos vivos. Na maioria das vezes estes estão presentes na nossa alimentação, mas eles também podem ser adicionados com alguma finalidade, como no caso dos alimentos suplementares (Anilkumar & Monisha, 2012). Alguns estudos têm mostrado que bactérias conhecidas como probióticos podem ser adicionados na nossa alimentação, pois existem evidências de benefícios à saúde humana (Anilkumar & Monisha, 2012; Malathi *et al.*, 2014; Bonifait *et al.*, 2009; Meurman & Stamatova, 2007; Gupta, 2011; Burton *et al.*, 2005; Burton *et al.*, 2006; Teughels *et al.*, 2008; Wescombe *et al.*, 2012; Vitetta *et al.*, 2014; Teughels *et al.*, 2013; Sutula *et al.*, 2013; Martinez *et al.*, 2015; Marchetti *et al.*, 2015).

O conceito que define o termo probiótico, internacionalmente, são microrganismos vivos em forma de fármaco, que quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro (Anilkumar & Monisha, 2012; Malathi *et al.*, 2014; Bonifait *et al.*, 2009). Essas bactérias foram introduzidas em 1965 por Lilly e Stillwell (Lilly & Stillwell, 1965). A maioria dessas bactérias benéficas pertence aos gêneros *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (Raizel *et al.*, 2011; Anilkumar & Monisha, 2012). O termo probiótico pode ser interpretado contrariamente aos antibióticos (Anilkumar & Monisha, 2012). Na seleção de uso dessas bactérias benéficas deve ser levado em consideração o efeito na saúde do hospedeiro. Elas têm a capacidade de reduzir a resposta inflamatória, produzem substâncias antimicrobianas que combatem os patógenos orais e também intestinais, aderem-se as superfícies dentais e alteram as condições ambientais da boca (Anilkumar & Monisha, 2012; Martinez *et al.*, 2015). Para ser

considerado probiótico cada cepa deve estar em uma concentração de  $10^{8-9}$  por dia (Raizel *et al.*, 2011).

Os probióticos são encontrados em alimentos (bebidas lácteas fermentadas, iogurte, bebidas de soja) e em suplementos dietéticos como, por exemplo, cápsulas, comprimidos, gomas e em algumas outras formas (Anilkumar & Monisha, 2012; Sutula *et al.*, 2013; Martinez *et al.*, 2015). Essas formas alimentares ou suplementares podem estar presentes tanto originalmente como acrescentadas durante sua preparação, com algum propósito. A ingestão oral dessas bactérias benéficas como produtos preventivos e terapêuticos para a saúde gastrointestinal torna-se de interesse em relação aos cuidados com a saúde oral (Anilkumar & Monisha, 2012; Sutula *et al.*, 2013; Marchetti *et al.*, 2015; Martinez *et al.*, 2015). Os mecanismos de ação dos probióticos na cavidade oral são semelhantes aos efeitos na microbiota intestinal humana (Malathi *et al.*, 2014).

As patogenicidades orais têm sido alvo de estudos que comprovem a ação benéfica dos probióticos nos seres humanos. A cavidade oral é um meio diversificado e rico de microrganismos (Anilkumar & Monisha, 2012). Os probióticos podem criar biofilmes protetores, que agem prevenindo os tecidos orais contra doenças. Vários estudos clínicos Meurman & Stamatova (2007), Gupta (2011), Burton *et al.* (2005), Burton *et al.* (2006), Teughels *et al.* (2008), Wescombe *et al.* (2012) e Teughels *et al.* (2013), Sutula *et al.* (2013), Marchetti *et al.* (2015) foram realizados para verificar se essas bactérias benéficas ajudam a prevenir ou conter estas patogêneses. A microbiota ideal na cavidade oral sugere a hipótese de comensalmente selecionar bactérias, assim como existem bactérias patogênicas, existem as bactérias benéficas

promovendo saúde. O racional é usar os probióticos para evitar a halitose, por exemplo, inibindo o crescimento das bactérias causadoras do odor fétido, criando um ambiente favorável para a proliferação de bactérias benéficas que produzem substâncias antimicrobianas e evitam a produção dos CSVs (Malathi *et al.*, 2014; Bonifait *et al.*, 2009; Martinez *et al.*, 2015).

Certas espécies bacterianas, incluindo *Atopobium parvulum*, *Eubacterio sulcos* e *Solobacterium moorrei*, predominam na superfície dorsal da língua em pessoas com halitose. Por outro lado, a espécie *Streptococcus salivarius*, foi detectado com maior frequência entre pessoas sem halitose (Kazor *et al.*, 2003; Malathi *et al.*, 2014; Bonifait *et al.*, 2009; Anilkumar & Monisha, 2012; Meurman & Stamatova, 2007; Gupta, 2011; Burton *et al.*, 2005; Burton *et al.*, 2006; Wescombe *et al.*, 2012). O uso de pastilhas contendo *Streptococcus salivarius* K12 parece reduzir os níveis dos compostos sulfurados voláteis entre os pacientes com diagnóstico de halitose, em estudo preliminar (Burton *et al.*, 2006).

Além da suplementação dietética, através dos probióticos, os prebióticos podem aumentar o número dessas bactérias benéficas na microbiota do hospedeiro. Estes são componentes alimentares que auxiliam no crescimento das bactérias benéficas no organismo do hospedeiro, instigando efeitos importantes na saúde (Raizel *et al.*, 2011; Martinez *et al.*, 2015). São carboidratos complexos, solúveis e insolúveis, fermentáveis ou não, que atuam estimulando a proliferação e a atividade da flora microbiana, inibindo a proliferação de patógenos e favorecendo a defesa imunológica (Dos Santos & Cançado, 2009; Kaur & Gupta, 2002; Martinez *et al.*, 2015).

A principal característica do prebiótico é que ele é um substrato seletivo para uma ou mais bactérias benéficas que são estimuladas a multiplicar-se, beneficiando alterações na composição da microbiota do hospedeiro. A seletividade é um atributo que distingue o prebiótico das demais fibras dietéticas. (Martinez *et al.*, 2015)

O consumo de prebiótico provoca uma modulação específica da microbiota no hospedeiro, particularmente um aumento no número de bactérias benéficas, e a ingestão destes compostos foi associada com uma melhora na saúde do hospedeiro (Kaur & Gupta, 2002; Raizel *et al.*, 2011; Dos Santos & Caçado, 2009; Wescombe *et al.*, 2012). Assim, os prebióticos mais utilizados são a inulina, a oligofrutose e a frutooligofrutose (Kaur & Gupta, 2002; Ganaie *et al.*, 2014; Martinez *et al.*, 2015). Estes podem agir na cavidade oral promovendo o crescimento e o metabolismo do biofilme bacteriano oral, inserindo *Bifidobactérias* e *Lactobacilos* que ajudam a evitar a colonização de bactérias patogênicas (Montenegro & Marchini, 2013).

O uso dos probióticos e prebióticos não deve ter efeitos adversos, efeito patogênico ou estimular bactérias que causam algum desconforto abdominal (Meurman & Stamatova, 2007). Se ocorrerem efeitos colaterais, estes tendem a serem leves e transitórios a nível intestinal (Anilkumar & Monisha, 2012). Conforme Raizel *et al.* (2011) existem pouco ou nenhum efeito colateral no uso dos probióticos e prebióticos. O uso excessivo de probióticos pode apresentar algum efeito adverso devido à morte das bactérias patógenas. Pode-se perceber aumento na produção de gases, desconforto abdominal e também diarreia. Caso aconteça algum desses efeitos, é indicado ao paciente persistir com uso da bactéria benéfica (probiótico), até que todas as

bactérias patógenas sejam excretadas. No caso dos prebióticos, a dose de intolerância é bastante alta. Doses maiores que 20 gramas diárias podem provocar algum desconforto abdominal, diarreia, flatulência, cólicas, inchaço ou distensão abdominal. Caso apareça algum desses sintomas, é indicada a interrupção do uso do prebiótico.

Segundo alguns estudos são necessários novos estudos, principalmente do tipo ensaio clínico randomizado, para evidenciar a possibilidade de efeitos colaterais no uso de probióticos e prebióticos (Dos Santos & Cançado, 2009; Bonifait *et al.*, 2009; Anilkumar & Monisha, 2012; Martinez *et al.*, 2015).

### **2.3 Qualidade de vida em odontologia**

No âmbito da odontologia, o zelo pela qualidade de vida (QV) é, contingentemente, recente. A QV concerne-se a avaliação dos pacientes em áreas da saúde física e mental, incluindo a saúde oral (Sischo & Broder, 2011). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a QV pode ser estabelecida como “a percepção do indivíduo de sua posição social, no contexto da cultura e do sistema de valores nos quais ele vive, e em relação aos seus objetivos, expectativas, padrões e preocupações”.

Um protótipo a ser discutido estende-se a relação QV – saúde bucal. A saúde bucal constitui um item indispensável para a QV (Sischo & Broder, 2011). Essa relação estabelece a saúde bucal como parte da saúde geral, tornando-a um elemento essencial da QV. Assim, a ausência de impactos negativos das condições bucais na vida social e

autoconfiança dento-facial elucidam a QV da saúde oral (Dos Santos *et al.*, 2013).

Instrumentos formulados na forma de questionários, com informações sociodemográficas, QV em geral (WHOQOL-Bref) e QV relacionada à saúde bucal (OHIP-14), podem apresentar dimensões relacionadas, porém verificar relações sociais, físicas e psicológicas de forma divergente (Dos Santos *et al.*, 2013). Esses dispositivos surgiram considerando que a saúde bucal afeta aspectos na vida social, englobando a autoestima, interação social, escolar e desempenho no trabalho. Pesquisadores supõem hipóteses de que a saúde oral relaciona-se com a QV (Sischo & Broder, 2011).

Esses instrumentos são capazes de avaliar a percepção do indivíduo sobre sua própria saúde, sua QV. Desta forma, podem ser designados como indicadores da QV e serem utilizados em estudos populacionais na investigação da situação da saúde, mensuração de resultados, ensaios clínicos e análises econômicas que refletem em uma melhor QV (Dos Santos *et al.*, 2013).

O WHOQOL-Bref avalia a qualidade da vida em geral, e o OHIP-14 avalia o impacto das condições bucais na QV, mensurando disfunções, desconforto e incapacidades atribuídas à saúde bucal (Dos Santos *et al.*, 2013). O WHOQOL-Bref foi elaborado com a concepção de que a QV é um espaço íntimo, para onde o paciente se relaciona com o mundo social, multidimensional, envolvendo aspectos positivos, e também negativos. Este questionário possui quatro grandes dimensões: Física - percepção do indivíduo sobre sua condição física; Psicológica - percepção do indivíduo sobre sua condição afetiva e cognitiva; Social - percepção do indivíduo sobre suas relações sociais e seu papel social na

vida; Ambiental - percepção do indivíduo em vários aspectos relacionados com o ambiente onde ele vive. Este questionário genérico foi traduzido e validado para o Português do Brasil, e está disponível para uso em pesquisa (Dos Santos *et al.*, 2013).

O OHIP-14, que é um indicador específico para odontologia, foi desenvolvido com a finalidade de identificar injúrias relacionada à situação bucal, reproduzindo impactos tangíveis da via oral, problemas na vida dos pacientes, ou seja, proporciona uma mensuração ampla dos problemas orais. Há também a versão disponível para uso no Brasil (Dos Santos *et al.*, 2013), que indica que os instrumentos WHOQOL-Bref e OHIP-14 apresentam melhores resultados quando aplicados concomitantemente.

### 3. PROPOSIÇÃO

O presente trabalho teve por objetivo principal avaliar o efeito da combinação inulina e *Streptococcus salivarius* na halitose por saburra lingual. Os objetivos específicos foram avaliar o efeito isolado do *Streptococcus salivarius* na halitose, avaliar o efeito combinado de inulina e *Streptococcus salivarius* na halitose, avaliar o efeito de placebo na halitose, mensurar halitose antes e depois dos referidos tratamentos através de teste organoléptico e halímetro, e estudar o impacto destas intervenções na qualidade de vida geral e específica à saúde bucal.

O propósito destes objetivos foi sustentar a hipótese de que a associação do prebiótico inulina potencializa os benefícios do probiótico *Streptococcus salivarius* em pacientes com halitose por saburra lingual.

#### 4. MATERIAIS E MÉTODOS

Neste ensaio clínico randomizado, controlado e duplo-cego, de fase IIa, 45 pacientes com queixa de halitose por saburra lingual participaram do estudo, sendo 29 mulheres e 16 homens, entre 18 e 77 anos. O tamanho da amostra foi estimado em 45 participantes, considerando-se uma diminuição de 80% na halitose, com  $\alpha = 5\%$  e  $\beta = 80\%$ . O diagnóstico de halitose por saburra foi confirmado através de exame inicial, teste organoléptico e do dispositivo halímetro (Halimeter®/ Interscan Corporation, Chatsworth, CA, EUA). Os pacientes que consentiram por escrito em participar foram identificados em serviços de endoscopia digestiva do município de Passo Fundo - RS e nos centros de atendimento odontológicos da Faculdade de Odontologia da Universidade de Passo Fundo. O local das avaliações foi no ambulatório da Faculdade, no Campus I. Os critérios de exclusão foram: halitose por periodontite generalizada grave a moderada, lesões orais agudas, periodontite ulcerativa necrosante e por causas não orais ou que fizeram uso de antibióticos nos últimos 30 dias, tabagismo ativo (> 10 cigarros/dia), alcoolismo (consumo > 3 drinks/dia), gravidez ou amamentação, e doenças sistêmicas como diabetes melito, insuficiência renal e cirrose hepática. O protocolo de pesquisa foi aprovado pelo comitê de ética local (CASE: 40334914.0.0000.5342).

#### **4.1 Exame clínico**

O exame da cavidade oral foi executado por um único dentista (CRM), identificando cáries, placas, inflamação gengival, bolsas periodontais e próteses. A saburra lingual foi descrita após inspeção visual e classificada em 4 níveis: 0 - ausência de saburra; 1- saburra fina em até 1/3 do dorso da língua; 2 - saburra fina em > 1/3 ou saburra espessa em até 1/3; 3 - saburra espessa em > 1/3 do dorso da língua (Quirynen *et al.*, 2009).

#### **4.2 Avaliação de halitose**

Após exame clínico, foi diagnosticada halitose pelo teste organoléptico e também mensurada através do halímetro. Realizado por um único examinador (CRM) após treinamento em centro de referência (Faculdade de Odontologia da UFRGS), com índices de concordância satisfatórios para reprodutibilidade do teste organoléptico e saburra lingual (>80%). Os pacientes foram examinados sempre pela manhã entre 8:00 e 11:30 horas. Foram solicitados a evitar a ingestão de alho, cebola e condimentos nos 2 dias que antecedem o exame e no dia anterior ao exame, evitar comer em excesso margarina, leite, fritura, peixes (sardinha), salame, mortadela, linguiça, carne vermelha, queijos, alimentos com enxofre na composição (repolho, brócolis, couve, couve-flor, ovo). Na manhã do exame, não puderam utilizar balas ou chicletes, mas foi permitido café da manhã e escovação somente dos dentes com água, sem creme dental. O exame de cada paciente não demorou mais do que 30 minutos.

### **4.3 Teste organoléptico**

O teste organoléptico consistiu em o paciente em repouso, concentrar o ar na boca, respirando somente pelo nariz por 1 min. Passados 60 segundos, o examinador se posicionou a uma distância de 10 cm do paciente, avaliando o odor da boca. O ar expirado foi classificado em uma escala de 0 a 5, quando 0 representa ausência de cheiro, 1 para mau cheiro quase imperceptível, 2 leve mau cheiro, 3 moderado mau cheiro, 4 forte mau cheiro, e 5 grave mau cheiro (Rosenberg *et al.*, 1992).

### **4.4 Halímetro**

Além do teste organoléptico, os pacientes tiveram seu hálito aferido objetivamente através do halímetro (Halimeter®/ Interscan Corporation, Chatsworth, CA, EUA), que é um dispositivo portátil capaz de mensurar os CSV. A halitose foi definida quando o dispositivo acusa  $\geq 75$  ppb (Laleman *et al.*, 2014; Bornstein *et al.*, 2009). O fabricante considera hálito normal (sem halitose) leituras entre 30 e 80 ppb.

As medições foram feitas através da inserção de um canudo descartável na boca do paciente, acima da parte posterior do dorso da língua sem tocar a mucosa oral ou língua.

### **4.5 Probióticos e prebióticos**

Foi utilizado o probiótico *Streptococcus salivarius* (laboratório LEMMA Supply Solutions, Jardinópolis, SP, val.:05/2016, lote: UB/LS/14/06/011), na quantidade diária de 2 bilhões de unidades

formadoras de colônias (UFC) por dia, além do prebiótico inulina (Galena Química e Farmaceutica LTDA, Campinas/SP, val.:03/2019, lote: 2128802611), na dose diária de 2 gramas. Prebiótico, probiótico e placebo foram especialmente preparados na forma de gomas pela farmácia Natupharma (data de manipulação: maio/2015, validade: novembro/2015), Passo Fundo, sob-responsabilidade da farmacêutica Astrid Würzius Bortoloti. As gomas foram desenvolvidas idênticas em relação ao aspecto físico, incluindo aparência, odor, gosto e consistência, contendo cada goma as seguintes combinações: A: inulina 1 g + *Streptococcus salivarius* 1 bilhão de UFC; B: *Streptococcus salivarius* 1 bilhão de UFC + placebo; C: Placebo + placebo. Cada paciente foi instruído a manter em refrigeração as gomas e utilizá-las 2 gomas/dia, sendo 1 goma de 12 em 12 horas, após hábitos normais (alimentação/higiene oral). Foram também instruídos a não higienizarem mecanicamente a língua, seja com escovação ou uso de raspadores.

#### **4.6 Instrumentos**

Os pacientes responderam a instrumentos contendo informações sociodemográficas, qualidade de vida geral (WHOQOL-Bref) e qualidade de vida relacionada à saúde bucal (OHIP-14).

##### **4.6.1 Avaliação da Qualidade de Vida Geral**

A fim de avaliar a qualidade de vida, utilizou-se o WHOQOL Bref, instrumento traduzido e validado para o Brasil (Fleck *et al.*, 2000; grupo WHOQOL), composto por 26 questões cujas respostas variam em uma escala Likert de 1 a 5 pontos. As duas primeiras questões referem-

se à percepção e à satisfação geral da qualidade de vida e as demais se dividem em quatro domínios: físico, psicológico, relações sociais e meio ambiente. A pontuação final de cada domínio é obtida pela média dos itens dentro do domínio, resultando em uma escala de 4-20. Já a qualidade de vida global é calculada a partir das médias das notas finais dos domínios, sendo os que os resultados são escalados em uma direção positiva: valores mais altos representam melhor qualidade de vida. Os participantes responderam ao instrumento antes de iniciar e após o término do tratamento.

#### **4.6.2 Avaliação da Qualidade de Vida associada à saúde bucal**

Utilizou-se a forma abreviada – OHIP-14 (Slade, 1997) – do questionário Oral Health Impact Profile (Slade e Spencer, 1994) para avaliar os impactos dos problemas bucais na qualidade de vida dos participantes. Esse instrumento, traduzido e validado para o Brasil (Oliveira e Nadanovsky, 2005) é composto por 14 questões divididas em sete sub-escalas que as avaliam nas seguintes dimensões: limitação funcional, dor física, desconforto psicológico, incapacidade física, incapacidade psicológica, incapacidade social e desvantagem social. As opções de resposta variam em uma escala de zero (nunca) a quatro (sempre) e, ao empregar-se o método aditivo de análise (soma total dos pontos), os escores podem variar entre zero a 56, sendo que quanto maior o valor, maior é a auto percepção do impacto da saúde bucal na qualidade de vida. Os participantes preencheram o instrumento em dois momentos: antes de começar o tratamento e após o seu término.

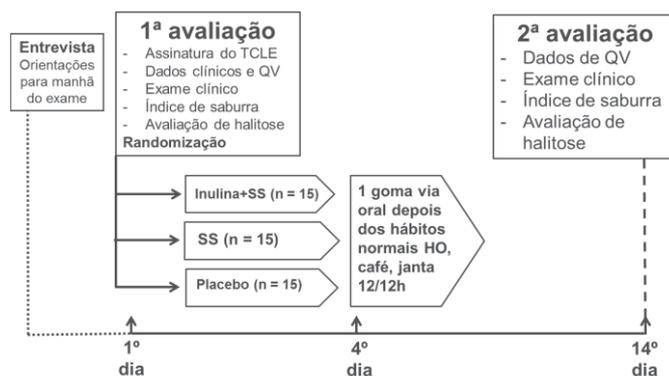
#### **4.7 Protocolo do estudo**

Os pacientes entrevistados no ambulatório de odontologia da UPF, Campus I, avisados previamente para vir em condições descritas no item “avaliação da halitose”, foram inicialmente informados sobre o objetivo e as etapas da pesquisa. Após a assinatura do TCLE, foram registrados dados clínicos e de qualidade de vida (WHOQOL e OHIP-14), seguido por exame inicial para avaliar o índice de saburra e teste organoléptico para confirmar halitose. Em seguida, foi realizada mensuração objetiva da halitose pelo halímetro.

Os pacientes incluídos foram randomizados retirando código de envelope pardo (randomização feita pela farmacêutica por computador com blocos de 3 pacientes 1:1:1, cada bloco contendo um tipo de tratamento), nos seguintes grupos de tratamento: A (inulina+SS); B (SS); C (placebo).

Foram orientados a utilizar 1 goma a cada 12 horas, iniciando no quarto dia depois da entrevista, e interrompendo 2 semanas após a primeira entrevista (total de 10 dias de tratamento). Cada goma foi colocada na boca e mantida neste local até sua dissolução. Ao término, repetiram-se os passos da primeira entrevista.

Figura 1 - Fluxograma do estudo



#### 4.8 Análise estatística

Os dados referentes a variáveis quantitativas foram descritos usando média e desvio padrão ou mediana e intervalo interquartil, conforme a distribuição. Os dados qualitativos foram expressos por contagens e porcentagens. Na comparação entre os grupos de pacientes quanto à idade, IMC e sexo, foram usados os testes Kruskal-Wallis (idade e IMC) e qui-quadrado (sexo). O teste de Wilcoxon para dados pareados foi usado nas comparações pré e pós tratamento para as três medidas indicadoras de halitose e para os escores obtidos nos testes de qualidade de vida. Para comparar os tratamentos levando em consideração que existe correlação entre as medidas repetidas obtidas no pré e pós-tratamento, utilizou-se a abordagem de equações de estimação generalizadas (GEE). O modelo básico incluiu, como variáveis independentes, o grupo de tratamento, o tempo (pré ou pós) e a interação entre essas variáveis. Sexo e idade foram considerados potenciais fatores

de confusão para ajustes. A decisão sobre incluir ou não as covariáveis sexo e idade foi tomada com base no QICc (critério de quase verossimilhança sob modelo de independência corrigido). Nesta análise, foi usada transformação logarítmica nos dados de halímetro e OHIP-soma devido à assimetria nas distribuições. Na análise do halímetro, o melhor modelo incluiu também a variável "sexo". No entanto, a inclusão de sexo ou idade não contribuiu para melhorar o modelo quando se analisaram teste organoléptico, índice de saburra, WHOQOL-Bref e OHIP-14. As análises por GEE foram feitas considerando distribuições normais e funções de ligação "identidade", exceto para a pontuação índice de saburra, que foi analisada utilizando uma distribuição de Poisson e função de ligação log. As diferenças entre grupos dois a dois foram testadas pela diferença mínima significativa.

Para as análises estatísticas, foram utilizados os softwares Graph Prism 4.0 e SPSS v. 18. O limite considerado para significância estatística foi 0,05.

## **5. RESULTADOS**

### **5.1 Características dos pacientes**

Um total de 53 pacientes foi entrevistado. Oito destes foram excluídos na primeira entrevista devido a periodontite (5 pacientes), uso de antibióticos nos últimos 30 dias (2 pacientes) e amamentação (1 paciente). Quarenta e cinco pacientes iniciaram o tratamento, sendo um excluído por não comparecer na avaliação final. Assim, os grupos de tratamento foram: inulina+SS para 15 pacientes, SS para 15 e placebo para 14 pacientes. As características basais destes grupos estão na tabela 1. Os grupos de tratamento não diferiram estatisticamente quanto a sexo, idade e IMC.

Tabela 1 - Características dos pacientes (n=44)

	<i>inulina+SS</i>	<i>SS</i>	<i>Placebo</i>
<i>Mulheres, n (%)</i> *	8 (53%)	9 (60%)	12 (86%)
<i>Idade, média±dp</i> **	37,5 ± 14,6	42 ± 14,4	35,6 ± 15,8
<i>IMC, média±dp</i> ***	24,5 ± 3,1	24,8 ± 3,2	24,2 ± 5,2

\* $p = 0,154$  ( $X^2$ ); \*\* $p = 0,495$  (ANOVA); \*\*\* $p = 0,483$  (Kruskal Wallis)

## 5.2 Teste organoléptico

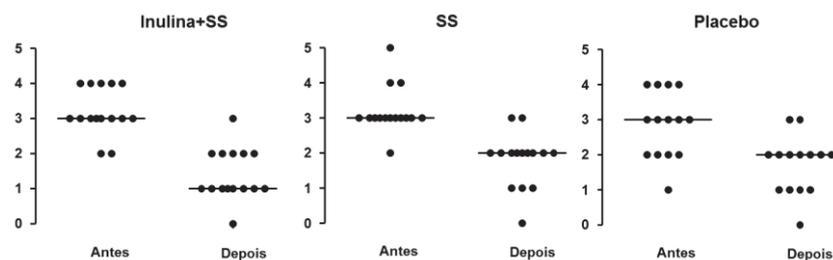
Na análise dos dados do teste organoléptico, não foi necessário ajustes para sexo e idade porque estas variáveis não influenciaram o modelo analítico. Os três grupos de tratamento apresentaram redução estatisticamente significativa nos escores do teste organoléptico após o tratamento (tabela 2, figura 1). Porém, não houve diferença significativa na magnitude de efeito entre os grupos (inulina+SS vs. SS com  $p = 0,134$ ; inulina+SS vs. placebo com  $p = 0,263$ ; e SS vs. placebo com  $p = 0,765$ ).

Tabela 2 - Teste organoléptico antes e depois dos tratamentos

	Antes	Depois	p*
<i>Mediana (intervalo interquartil)</i>			
<i>Inulina+SS</i>	3 (3-4)	1 (1-2)	<0,001
<i>SS</i>	3 (3-3)	2 (1-2)	0,002
<i>Placebo</i>	3 (2-4)	2 (1-2)	0,003

\*Teste de Wilcoxon

Figura 2 - Teste organoléptico antes e depois dos tratamentos



### 5.3 Halímetro

Os escores obtidos no halímetro foram menores após o tratamento, nas três condições em estudo (tabela 3). Na análise usando GEE a variável “sexo” foi usada como covariável, já que sua inclusão no

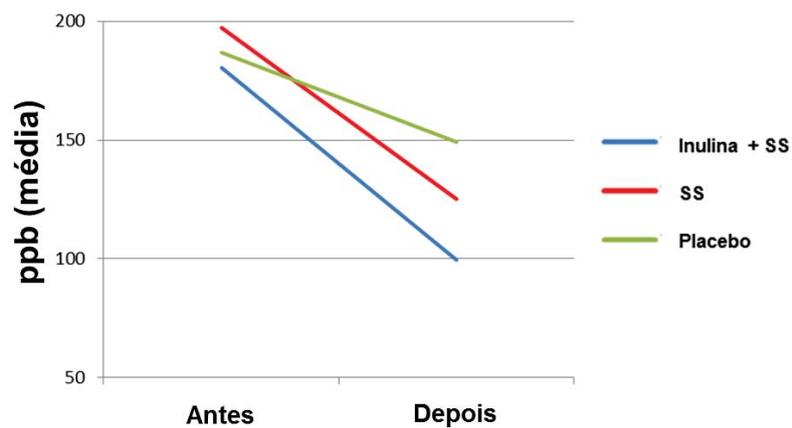
modelo alterou os resultados. O grupo tratado com inulina+SS apresentou maior redução na halitose medida pelo halímetro em comparação com os grupos SS (diferença entre as médias antes/depois do tratamento: 81 vs. 72;  $p = 0,049$ ) e placebo (antes/depois do tratamento: 81 vs. 38;  $p = 0,002$ ), conforme mostrado na figura 2. Não houve diferença significativa entre os grupos SS e placebo (antes/depois do tratamento: 72 vs. 38;  $p = 0,108$ ).

*Tabela 3 – Halímetro medido antes e depois dos tratamentos*

	<i>Antes</i>	<i>Depois</i>	<i>p*</i>
	<i>Média ± desvio padrão</i>		
<i>Inulina+SS (n=15)</i>	<i>180,5 ± 93.3</i>	<i>99,7 ± 55.2</i>	<i>&lt;0,001</i>
<i>SS (n=15)</i>	<i>197,1 ± 145.2</i>	<i>125,1 ± 71.2</i>	<i>0,003</i>
<i>Placebo (n=14)</i>	<i>186,9 ± 132.4</i>	<i>149,1 ± 117.4</i>	<i>0,096</i>

*\*Teste de Wilcoxon*

Figura 3 - Halímetro medido antes e depois dos tratamentos



#### 5.4 Índice de saburra

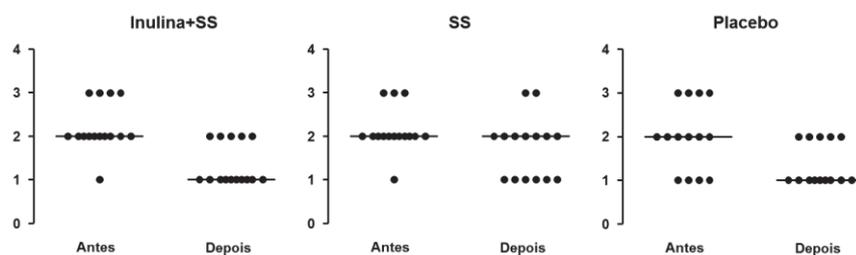
Ajustes por sexo e idade não foram necessários pois essas variáveis não influenciaram o modelo analítico. Da mesma forma que com o teste organoléptico e halímetro, o índice de saburra lingual diminuiu significativamente após as três intervenções (Tabela 4, Figura 3). Embora esta diminuição não tenha diferido entre tratamentos ( $p = 0,256$ ), o índice de saburra lingual diminuiu em pacientes tratados com inulina+SS, em comparação com SS ( $p = 0,061$ ) e também em pacientes tratados com SS, em comparação com o placebo ( $p = 0,083$ ).

Tabela 4 – Índice de saburra antes e depois dos tratamentos

	Antes	Depois	p*
	<i>Mediana (intervalo interquartil)</i>		
<i>Inulina+SS (n=15)</i>	2 (2-3)	1 (1-2)	0,005
<i>SS (n=15)</i>	2 (2-2)	2 (1-2)	0,041
<i>Placebo (n=14)</i>	2 (1-3)	1 (1-2)	0,033

\**Teste de Wilcoxon*

Figura 4 - Índice de saburra antes e depois dos tratamentos



### 5.5 QV geral e QV saúde bucal

Um paciente do grupo inulina+SS foi excluído devido a quebra do protocolo. Na análise dos instrumentos que avaliaram QV geral e QV

saúde bucal não obtivemos diferença no efeito dos tratamentos aqui testados para WHOQOL – Bref ( $p = 0,697$ ) e OHIP – 14 ( $p = 0,757$ ). Na comparação intragrupos entre valores pré e pós intervenção apenas o grupo SS mostrou aumento no QV geral. Os indivíduos tratados com inulina+SS e placebo não tiveram modificação no WHOQOL – Bref (tabela 5). Já no que se refere à saúde bucal o grupo inulina+SS teve uma redução estatisticamente significativa no escore OHIP-14 (tabela 6).

*Tabela 5 - Qualidade de vida pelo WHOQOL-Bref antes e depois dos tratamentos*

	<i>Antes</i>	<i>Depois</i>	<i>p*</i>
	<i>Média ± desvio padrão</i>		
<i>Inulina+SS (n=14)</i>	<i>15,6 ± 2,2</i>	<i>15,9 ± 1,8</i>	<i>0,401</i>
<i>SS (n=15)</i>	<i>15,5 ± 1,9</i>	<i>15,9 ± 1,6</i>	<i>0,045</i>
<i>Placebo (n=14)</i>	<i>15,9 ± 1,9</i>	<i>16,4 ± 1,6</i>	<i>0,204</i>

*\*Teste t pareado simples*

Tabela 6 - *Qualidade de vida pelo OHIP-14 antes e depois dos tratamentos*

	<i>Antes</i>	<i>Depois</i>	<i>p*</i>
	<i>Média ± desvio padrão</i>		
<i>Inulina+SS (n=14)</i>	<i>8,8 ± 10,6</i>	<i>5,6 ± 7,8</i>	<i>0,036</i>
<i>SS (n=15)</i>	<i>5,7 ± 6,9</i>	<i>4,9 ± 7,9</i>	<i>0,227</i>
<i>Placebo (n=14)</i>	<i>6,7 ± 8,8</i>	<i>6,6 ± 8,6</i>	<i>0,554</i>

*\*Teste t pareado simples*

### **5.6 Dados de aderência ao tratamento e segurança (parefeitos)**

Durante o uso das gomas um paciente relatou cefaleia, outro relatou polievacuações. Alguns pacientes relataram que o tamanho das gomas era grande, que ela possuía gosto ruim, de difícil dissolução e também sentiram algum desconforto na língua (tabela 7).

*Tabela 7 – Efeitos adversos durante os tratamentos*

	<i>Inulina+SS</i>	<i>SS</i>	<i>Placebo</i>
<i>Cefaleia</i>	<i>1*</i>		
<i>Polivacuações</i>			<i>1</i>
<i>Desconforto na língua</i>		<i>2</i>	
<i>Tamanho da goma</i>	<i>1</i>	<i>1</i>	
<i>Dissolução da goma</i>		<i>3</i>	<i>2</i>
<i>Gosto ruim da goma</i>	<i>2</i>	<i>2</i>	<i>2</i>

*\*Número de pacientes que relatou cefaléia*

Dentre os 44 pacientes, nove (20%) não utilizaram todas as 20 gomas: 4 pacientes deixaram de usar uma goma, 2 pacientes duas, 2 paciente três e 1 paciente cinco gomas (tabela 7).

*Tabela 8 - Aderência aos tratamentos*

<i>Devolução</i>	<i>Inulina+SS</i>	<i>SS</i>	<i>Placebo</i>
<i>1 goma</i>	<i>1*</i>	<i>2</i>	<i>1</i>
<i>2 gomas</i>	<i>1</i>		<i>1</i>
<i>3 gomas</i>	<i>1</i>		<i>1</i>
<i>4 gomas</i>			
<i>5 gomas</i>			<i>1</i>

*\*Número de pacientes que devolveu 1 goma*

## 6. DISCUSSÃO

A halitose afeta boa parte da população geral e estima-se que a maioria desses casos tem origem na boca, especialmente por saburra lingual (Rösing & Loesche, 2011; Aylikci & Colak, 2013; Seemann *et al.*, 2014; Laleman *et al.*, 2014; Yang *et al.*, 2013; Quirynen *et al.*, 2009; Fernandes *et al.*, 2007; Dadamio *et al.*, 2013; Zalewska *et al.*, 2012). Até o momento, a terapêutica mais utilizada para pacientes com halitose por saburra lingual é antimicrobiano na forma de enxaguante bucal, que mascara ou neutraliza o odor (Wilhelm *et al.*, 2012; Iatropoulos *et al.*, 2016). Porém neste caso as bactérias patógenas recuperam-se rapidamente quando o tratamento é interrompido. Prevenir o recrescimento de microrganismos causadores da halitose pela colonização preventiva da cavidade oral com bactérias benéficas comensais parece ser uma estratégia promissora (Aylikci & Colak, 2013; Iatropoulos *et al.*, 2016; Burton *et al.*, 2005; Burton *et al.*, 2006; Teughels *et al.*, 2008). Nesse sentido, o uso isolado de *Streptococcus salivarius* tem mostrado superioridade ao placebo em estudo preliminar (Burton *et al.*, 2006). O uso de substâncias prebióticas teoricamente poderia reforçar a proliferação de bactérias benéficas e contribuir para o controle da halitose por saburra. A nossa hipótese foi de que a

associação do prebiótico inulina potencializa os benefícios do probiótico *Streptococcus salivarius* em pacientes com halitose por saburra lingual.

O nosso objetivo foi avaliar o efeito da combinação inulina e *Streptococcus salivarius* na halitose por saburra lingual. Os objetivos específicos foram avaliar o efeito isolado do *Streptococcus salivarius* na halitose, avaliar o efeito combinado de inulina e *Streptococcus salivarius* na halitose, avaliar o efeito de placebo na halitose, mensurar halitose antes e depois dos referidos tratamentos através de teste organoléptico e halímetro, e estudar o impacto destas intervenções na qualidade de vida geral e específica a saúde bucal.

O resultado mais importante do nosso estudo foi a superioridade da combinação inulina+SS no controle da halitose, em comparação tanto com SS isoladamente quanto com placebo, nas mensurações realizadas pelo halímetro. Apesar de observarmos redução dos escores do teste organoléptico após uso de inulina+SS, esse efeito também foi observado com os demais tratamentos, sem superioridade entre eles. De modo semelhante o índice de saburra lingual apresentou maior redução no grupo tratado com inulina+SS e SS comparado ao grupo placebo, mas as reduções não foram estatisticamente diferentes entre os tratamentos. A redução encontrada nos grupos tratados com placebo pode ser explicada pelo efeito Hawthorne (Gillespie, 1993; Leurent *et al.*, 2016), quando os pacientes apresentam melhora apenas por estarem participando do estudo e não pelo efeito direto de um fármaco.

Estudos recentes apontam a relevância da saúde bucal sobre a qualidade de vida (Alvarenga *et al.*, 2011). No nosso estudo observamos que houve melhora na QV específica para saúde bucal em pacientes tratados com inulina+SS. Também observamos melhora na QV geral nos

pacientes que utilizaram SS. O OHIP-14 avalia o impacto social dos problemas bucais, como halitose, através da percepção dos pacientes afetados (Gabardo *et al.*, 2013). Segundo a literatura esta melhora na QV pode estar relacionada com consultas odontológicas rotineiras (Leão *et al.*, 2015).

Condições deletérias da saúde bucal podem afetar negativamente a percepção do indivíduo sobre sua QV e QV específica a saúde bucal, prejudicando suas atividades diárias, seu comportamento, sua personalidade (Alvarenga *et al.*, 2011). Buscando melhora na QV e na QV específica a saúde bucal demarca-se positivamente questões relacionadas à autoimagem (Gabardo *et al.*, 2013). O uso da combinação inulina+SS evidenciou uma autopercepção positiva na QV específica a saúde bucal. No entanto a falta de superioridade no efeito dos tratamentos em comparação intergrupos pode ter sido provocada por tamanho amostral insuficiente.

A superioridade da combinação inulina+SS no controle da halitose ainda não foi relatada na literatura. Sabe-se que o SS, como um probiótico pode prevenir ou conter a ação de bactérias patogênicas (Meurman & Stamatova, 2007; Gupta, 2011; Burton *et al.*, 2005; Burton *et al.*, 2006; Teughels *et al.*, 2008; Wescombe *et al.*, 2012; Teughels *et al.*, 2013), inibindo a ação destes e beneficiando o hospedeiro. O SS produz bacteriocinas que contribui para a redução dos CSVs. Ele trabalha competindo com os patógenos, modificando o ambiente, modulando o pH e o potencial de redução de oxidação, comprometendo a estabilidade dos patógenos (Anilkumar & Monisha, 2012).

Nossa metodologia foi embasada nos estudos de Burton *et al.* (2006), Teughels *et al.* (2013), Quirynen *et al.* (2009). Conforme Burton

*et al.* (2006) podemos confirmar redução da halitose utilizando o probiótico SS, onde verificou-se redução dos níveis de CSVs. No entanto o referido estudo utilizou antes do uso do SS, um tratamento antimicrobiano. Os autores argumentam que a clorexidina é uma substância antimicrobiana potente e eficiente quando utilizada diariamente. Porém quando usada em longo prazo pode apresentar efeitos adversos (Slot *et al.*, 2015).

Conforme a literatura, o SS foi encontrado em pacientes sem halitose (Malathi *et al.*, 2014; Bonifait *et al.*, 2009; Anilkumar & Monisha, 2012; Meurman & Stamatova, 2007; Gupta, 2011; Burton *et al.*, 2005; Burton *et al.*, 2006; Wescombe *et al.*, 2012). No entanto, é discutível se a administração isolada dessa bactéria poderia influenciar na microbiota bucal relativamente estável e diminuir significativamente a halitose. Estudos mostram que essas bactérias benéficas podem criar condições desfavoráveis para bactérias patogênicas, prejudicando a sua capacidade de colonização (Malathi *et al.*, 2014; Bonifait *et al.*, 2009). No nosso estudo o efeito isolado do SS diferiu significativamente dos demais tratamentos, quando avaliado pelo halímetro. Porém na literatura encontramos um estudo *in vitro* onde o SS combinado com mucina promove a putrefação do *Porphyromonas gengivalis* (Sterer *et al.*, 2006), quando avaliado pelo teste organoléptico causando halitose.

A superioridade do grupo inulina+SS ao grupo SS pode ser explicada devido às propriedades do SS combinada com a ação do probiótico inulina. A inulina pode auxiliar na proliferação das bactérias benéficas, induzindo a efeitos superiores no grupo inulina+SS. Este estímulo aos probióticos, segundo Martinez *et al.* (2015) ainda não está claro na literatura. Ele sugere as hipóteses de que os probióticos utilizam

os prebióticos como fonte de energia. A presença da inulina poderia elevar a taxa de crescimento do SS quando em comparação com bactérias patogênicas. A literatura mostra que a inulina passa por um processo de fermentação diferenciado produzindo o efeito bifidogênico, estimulando o crescimento do SS (Raizel *et al.*, 2011; Dos Santos & Cançado, 2009; Teughels *et al.*, 2008; Kaur & Gupta, 2002). Os prébióticos são os principais substratos de crescimento dos probióticos, podendo atuar beneficemente na saúde de pacientes com halitose.

Reconhecemos algumas limitações. Apenas o halímetro foi capaz de mostrar diferença estatística entre os tratamentos, com superioridade para inulina+SS. Entretanto, a falta de superioridade no controle da halitose entre os tratamentos quando avaliados pelo teste organoléptico pode ser explicada devido ao reduzido tamanho amostral (erro tipo II), visto que no teste organoléptico a interação tratamento vs. tempos ficou próximo da significância ( $p = 0,058$ ).

Vale enfatizar que na literatura o método designado como padrão ouro para mensuração da halitose é o teste organoléptico, e somente um examinador é necessário para realiza-lo (Seemann *et al.*, 2014; Greenman *et al.*, 2014). O epitélio olfatório é capaz de distinguir muitos odores, segundo Hatt (2004). Embora o teste organoléptico seja de fácil execução e simula a halitose diária (Shimura *et al.*, 1997), este método possui algumas desvantagens importantes: habituação rápida do nariz humano, precisão e reprodutibilidade do examinador, e subjetividade desta avaliação (Rosenberg *et al.*, 1991a; Rosenberg *et al.*, 1991b; Laleman *et al.*, 2014). No entanto o halímetro apresenta dados objetivos, reporta gases que contem enxofre (CSVs), contabilizados em partículas por bilhão (Rosenberg *et al.*, 1991b) e suas leituras são mais

reprodutíveis do que as avaliações organolépticas. Outra vantagem que o halímetro apresenta em relação ao teste organoléptico é o controle de infecção cruzada (Seemann *et al.*, 2014).

Nos nossos resultados encontramos redução no índice de saburra lingual, porém sem diferença entre os tratamentos, o que também sugere que o tamanho amostral poderia ser maior pela possibilidade do erro tipo II (afirmar que não há diferença quando ela existe). Conforme um estudo o probiótico *Lactobacillus brevis* foi capaz de reduzir significativamente o índice de saburra lingual na superfície dorsal em comparação com o grupo placebo, porém não evidenciou eficácia no tratamento da halitose (Marchetti *et al.*, 2015).

Os benefícios com o uso de inulina+SS se limitam ao tempo de tratamento testado, que foi de 10 dias. Estudos sobre o tempo de efeito de probiótico mostram que o benefício costuma desaparecer rapidamente após a interrupção do aporte da bactéria (Burton *et al.*, 2005; Meurman & Stamatova, 2007). Estudos adicionais são necessários para determinar forma de tratamento (temporário vs. intermitente vs. contínuo) e duração do esquema testado, atentando em benefício e efeitos adversos da combinação inulina+SS.

Sugere-se que o tamanho amostral poderia ser maior, visto que o teste organoléptico falhou em mostrar superioridade possivelmente pelo erro tipo II. O tempo de tratamento, como já mencionado, mereceria comparações múltiplas, incluindo 10, 30 ou mais de dias de uso, com mais intervenções. Estudos com exame bacteriológico possibilitariam demonstrar a mudança e o tipo da flora após o tratamento.

Não há ensaios clínicos conduzidos adequadamente no tratamento da halitose utilizando probióticos, conforme a literatura. O

nosso ensaio clínico, utilizando gomas contendo inulina e *Streptococcus salivarius* no tratamento da halitose por saburra lingual, parece ser um estudo pioneiro. Mesmo com as limitações apontadas no presente estudo, pode-se concluir que a associação (inulina+SS) pode beneficiar pacientes com halitose por saburra lingual. Entretanto, um maior número amostral deve ser testado para confirmar estes resultados.

## 7. CONCLUSÃO

No nosso ensaio clínico, foi testado o efeito da inulina combinada com o SS para o tratamento de halitose relacionada à saburra lingual. Verificou-se que esta combinação foi superior no controle da halitose por saburra lingual em relação ao uso de *Streptococcus salivarius* isolado e placebo.

## REFERÊNCIAS

ADULYANON, S.; VOURAPUKJAM, J.; SHEIHAM, A. Oral impacts affecting daily performance in a low dental disease Thai population. *Community Dent Oral Epidemiol*, v. 24, n. 6, p. 385-9, 1996.

ALVARENGA, F.A.S.; HENRIQUES, C.; TAKATSUI, F.; MONTANDON, A.A.B.; TELAROLLI JÚNIOR, R.; MONTEIRO, A.C.C.; PINELLI, C.; LOFFREDO, C.M. Impacto da saúde bucal na qualidade de vida de pacientes maiores de 50 anos de duas instituições públicas do município de Araraquara-SP, Brasil. *Rev Odontol UNESP*, Araraquara. v. 30, n. 3, p. 118-124, 2011.

AKAJI, E.A; FOLARANMI, N.; ASHIWAJU, O. Halitosis: a review of the literature on its prevalence, impact and control. *Oral Health Prev Dent*, v. 12, n. 4, p. 297-304, 2014.

AYLIKCI, B.U.; COLAK, H. Halitosis: From diagnosis to management. *J Nat Sci Biol Med*, v. 4, n. 1, p. 14-23, 2013.

ANILKUMAR, K.; MONISHA, A.L. Role of Friendly Bacteria in Oral Health – A Short Review. *Oral Health Prev Dent*, v. 10, n. 1, p. 03-8, 2012.

BONIFAIT, L.; CHANDAD, F.; GRENIER, D. Probiotics for Oral Health: Myth or Reality?. *J Can Dent Assoc*, v. 8, n. 75, p. 585-90, 2009.

BORNSTEIN, M.M.; KISLIG, K.; HOTI, B.B.; SEEMANN, R.; LUSSI, A. Prevalence of halitosis in the population of the city of Bern, Switzerland: a study comparing self-reported and clinical data. *Eur J Oral Sci*, v. 117, n. 3, p. 261-7, 2009.

BORNSTEIN, M.M.; STOCKER, B.L.; SEEMANN, R.; BÜRGIN, W.B.; LUSSI, A. Prevalence of halitosis in young male adults: a study in swiss army recruits comparing self-reported and clinical data. *J Periodontol*, v. 80, n. 1, p. 24-31, 2009.

BURTON, J.P.; CHILCOTT, C.N.; TAGG, J.R. The rationale and potential for the reduction of oral malodour using *Streptococcus salivarius* probiotics. *Oral Dis*, v. 11, n. 1, p. 29-31, 2005.

BURTON, J.P.; CHILCOTT, C.N.; MOORE, C.J.; SPEISER, G.; TAGG, J.R. A preliminary study of the effect of probiotic *Streptococcus salivarius* K12 on oral malodour parameters. *J Appl Microbiol*, v. 100, n. 4, p. 754-64, 2006.

DADAMIO, J.; LALEMAN, I.; DE GEEST, S.; VANCAUWENBERGHE, F.; DEKEYSER, C.; COUCKE, W.; QUIRYNEN, M. Usefulness of a new malodour-compound detection portable device in oral malodour diagnosis. *J Breath Res*, v. 7, n. 5, p. 460-5, 2013.

DOS SANTOS, L.C.; CANÇADO, I. A. C. Probióticos e prebióticos: vale a pena incluí-los em nossa alimentação. *SynThesis Revista Digital FAPAM*, v. 1, n. 1, p. 308-317, 2009.

DOS SANTOS, C.M.; HUGO, F.N.; LEAL, A.F.; HILGERTL, J.B. Comparison of two assessment instruments of quality of life in older adults. *Rev Bras Epidemiol*, v. 16, n. 2, p. 328-37, 2013.

Development of the World Health Organization WHOQOL-BREF quality of life assessment. The WHOQOL Group. *Psychol Med*. v. 28, n. 3, p.551-8, 1998.

FERNANDES, L.A.; De LIMA, D.C.; GULINELLI, J.L.; BIDÓIA, E.M.; GARCIA, V.G. Halitose: Aspectos de importância clínica para o cirurgião-dentista. *Rev. Fac. Odontol. Lins*, v. 19, n. 1, p. 77-94, 2007.

FLECK, M.P.; LOUZADA, S.; XAVIER, M.; CHACHAMOVICH, E.; VIEIRA, G.; SANTOS, L.; PINZON, V. Application of the Portuguese version of the abbreviated instrument of quality life WHOQOL-bref. *Rev Saude Publica*, v.34, n. 2, p. 178-83, 2000.

FREXINOS, J.; DENIS, P.; ALLEMAND, H.; ALLOUCHE, S.; LOS, F.; BONNELYE, G. Descriptive study of digestive functional symptoms in the French general population. *Gastroenterol Clin Biol*, v. 22, n. 10, p. 785-91, 1998.

GABARDO, M.C.L.; MOYSÉS, S.T. Autopercepção de saúde bucal conforme o Perfil de Impacto da Saúde Bucal (OHIP) e fatores associados: revisão sistemática. *Rev Panam Salud Publica*, v. 33, n. 6, p. 439-445, 2013.

GUERRA, M. J. C.; GRECO, R.M.; LEITE, I.C.G.; FERREIRA E FERREIRA, E.; QUEIROZ DE PAULA, M.V. Impacto das condições de saúde bucal na qualidade de vida de trabalhadores. *Rev Ciência & Saúde Coletiva*. v. 19, n.12, p. 4777-4786, 2014.

GANAI, M.A.; LATEEF, A.; GUPTA, U.S. Enzymatic Trends of Fructooligosaccharides Production by Microorganisms. *Appl Biochem Biotechnol*, v. 172, n. 4, p. 2143-59, 2014.

GREENMAN, J., LENTON, P.; SEEMANN, R.; NACHNANI, S. Organoleptic assessment of halitosis for dental professionals--general recommendations. *J Breath Res*, v. 8, n. 1, 2014.

GUPTA, G. Probiotics and periodontal health. *J Med Life*, v. 14, n. 4, p. 387-94, 2011.

GILLESPIE, R. Manufacturing knowledge: a history of the Hawthorne experiments. Cambridge: Cambridge University Press, 1993. 296 p.

HATT, H. Molecular and cellular basis of human olfaction. *Chem.Biodivers*, v. 1, n. 12, p. 1857-69, 2004.

KAUR, N.; GUPTA A.K. Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. *J. Biosci*, v. 27, n. 7, p. 703-14, 2002.

KAZOR, C.E.; MITCHELL, P.M.; LEE, A.M.; STOKES, L.N.; LOESCHE, W.J.; DEWHIRST, F.E.; PASTER, B.J. Diversity of bacterial populations on the tongue dorsa of patients with halitosis and healthy patients. *J Clin Microbiol*, v. 41, n. 2, p. 558-63, 2003.

KRESPI, Y.P.; SHRIME, M.G.; KACKER, A. The relationship between oral malodor and volatile sulfur compound-producing bacteria. *Otolaryngol Head Neck Surg*, v. 135, n. 5, p. 671-6, 2006.

IATROPOULOS, A.; PANIS, V.; MELA, E.; STEFANIOTIS, T.; MADIANOS, P.; PAPAIOANNOU, W. Changes of Volatile Sulphur Compounds (VSCs) during therapy of a case series of patients with

chronic periodontitis and halitosis. *J Clin Periodontol*, v. 43, n. 4, p. 359-65, 2016.

LALEMAN, I.; DADAMIO, J.; DE GEEST, S.; DEKEYSER, C.; QUIRYNEN, M. Instrumental assessment of halitosis for the general dental practitioner. *J Breath Res*, v. 8, n. 1, p. 171-03, 2014.

LEÃO, M.M.; GARBIN, C.A.; MOIMAZ, S.A.; ROVIDA, T. A. Oral health and quality of life: an epidemiological survey of adolescents from settlement in Pontal do Paranapanema/SP, Brazil. *Cien Saude Colet*, v. 20, n. 11, p. 3365-74, 2015.

LAURENT, B.; REYBURN, H.; MURO, F.; MBAKILWA, H.; SCHELLENBERG, D. Monitoring patient care through health facility exit interviews: an assessment of the Hawthorne effect in a trial of adherence to malaria treatment guidelines in Tanzania. *BMC Infect Dis*, v.16, n.1, 2016.

LILLY, D.M.; STILLWELL, R.H. Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms. *Science*, v. 147, n. 3659, p. 747-8, 1965.

LINDHE, J.; KARRING, T.; LANG, N.P. (Coord.); MOLERI, A.B. (Tradutora). Tratado de periodontia clínica e implantologia oral. 4º ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005. 1013 p.

LIU, X.N.; SHINADA, K.; CHEN, X.C.; ZHANG, B.X.; YAEGAKI, K.; KAWAGUCHI, Y. Oral malodor-related parameters in the Chinese general population. *J Clin Periodontol*, v. 33, n.1, p. 31-6, 2006.

MALATHI, L.; JAYASRIKRUPA, A.; BALACHANDER, N.; RANI, V.; ANBAZHAGAN, V.; MASTHAN, K.M.K. Probiotics in

Dentistry – A Review. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, v. 11, n. 1, p. 193-197, 2014.

MARCHETTI, E.; TECCO, S.; SANTONICO, M.; VERNILE, C.; CICIARELLI, D.; TARANTINO, E.; MARZO, G.; PENNAZZA, G. Multi-Sensor Approach for the Monitoring of Halitosis Treatment via *Lactobacillus brevis* (CD2)-Containing Lozenges--A Randomized, Double-Blind Placebo-Controlled Clinical Trial. *Sensors*, v. 15, n. 8, p. 19583-96, 2015.

MARTINEZ, R.C.; BEDANI, R.; SAAD, S.M. Scientific evidence for health effects attributed to the consumption of probiotics and prebiotics: an update for current perspectives and future challenges. *British Journal of Nutrition*, v. 114, n. 12, 2015.

MEURMAN, J.H.; STAMATOVA, I. Probiotics: contributions to oral health. *Oral Dis*, v. 13, n. 5, p. 443-51, 2007.

MONTENEGRO, F.L.B.; MARCHINI, L. Odontogeriatrics - Uma Visão Gerontológica. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. 360 p.

OLIVEIRA B.H.; NADANOVSKY P. Psychometric properties of the Brazilian version of the oral health impact profile-short form. *Community Dent Oral Epidemiol*, v. 33, n. 4, p. 307-314, 2005.

PINEIRO, M.; ASP, N.G.; REID, G.; MACFARLANE, S.; MORELLI, L.; BRUNSER, O.; TUOHY, K. FAO Technical Meeting on Prebiotics. *J Clin Gastroenterol*, v. 42, n. 3, p. 156-9, 2008.

QUIRYNEN, M.; DADAMIO, J.; VAN DEN VELDE, S.; DE SMIT, M.; DEKEYSER, C.; VAN TORNOUT, M.; VANDEKERCKHOVE, B. Characteristics of 2000 patients who visited a halitosis clinic. *J Clin Periodontol*, v. 36, n. 11, p. 970-5, 2009.

RAIZEL, R.; SANTINI, E.; KOPPER, A.M.; DOS REIS FILHO, A.D. Efeitos do consumo de probióticos, prebióticos e simbióticos para o organismo humano. *Ciência & Saúde*, v. 4, n. 2, p. 66-74, 2011.

ROSENBERG, M.; MCCULLOCH, C.A. Measurement of oral malodor: current methods and future prospects. *J Periodontol*, v. 63, n. 9, p. 776-82, 1992.

ROSENBERG, M.; KULKARNI, G.V.; BOSY, A.; MCCULLOCH, C.A. Reproducibility and sensitivity of oral malodor measurements with a portable sulphide monitor. *J. Dent. Res*, v. 70, p. 1436-40, 1991a.

ROSENBERG, M.; SEPTON, I.; ELI I; BAR-NESS, R.; GELERNTER, I.; BRENNER, S.; GABBAY, J. Halitosis measurement by an industrial sulphide monitor. *J. Periodontol*, v. 62, p. 487-9, 1991b.

RÖSING, C.K.; LOESCHE, W. Halitosis: an overview of epidemiology, etiology and clinical management. *Braz Oral Res*, v. 25, n. 5, p. 466-71, 2011.

SEEMANN, R.; CONCEICAO, M.D.; FILIPPI, A.; GREENMAN, J.; LENTON, P.; NACHNANI, S.; QUIRYNEN, M.; ROLDAN, S.; SCHULZE, H.; STERER, N.; TANGERMAN, A.; WINKEL, E.G.; YAEGAKI, K.; ROSENBERG, M. Halitosis management by the general dental practitioner - results of an international consensus workshop. *J Breath Res*, v. 8, n. 1, p. 171-01, 2014.

SISCHO, L.; BRODER, H.L. Oral Health-related Quality of Life: What, Why, How, and Future Implications. *J Dent Res*, v. 90, n. 11, p. 1264-1270, 2011.

SLADE, G.D.; SPENCER, A.J. Development and evaluation of the Oral Health Impact Profile. *Community Dent Health*, v.11, n.1, p. 3-11, 1994.

SLADE, G.D. Derivation and validation of a short-form oral health impact profile. *Community Dent Oral Epidemiol*, v. 25, n. 4, p. 284-90, 1997.

SLOT, DE.; DE GEEST, S.; VAN DER WEIJDEN, F.A.; QUIRYNEN, M. Treatment of oral malodour. Medium-term efficacy of mechanical and/or chemical agents: a systematic review. *J Clin Periodontol*, v. 42, n. 16, p. 303-16, 2015.

SHIMURA, M.; WATANABE, S.; IWAKURA, M.; OSHIKIRI, Y.; KUSUMOTO, M.; IKAWA, K.; SAKAMOTO, S.; Correlation between measurements using a new halitosis monitor and organoleptic assessment. *J. Periodontol*, v. 68, p. 1182–5, 1997.

STERER, N.; ROSENBERG, M. Streptococcus salivarius promotes mucin putrefaction and malodor production by porphyromonas gingivalis. *J Dent Res*, v. 85, n. 10, p. 910 – 914, 2006.

SUTULA, J.; COULTHWAIT, L.A.; THOMAS, L.V.; VERRAN, J. The effect of a commercial probiotic drink containing Lactobacillus casei strain Shirota on oral health in healthy dentate people. *Microb Ecol Health Dis*, v. 24, 2013.

TEUGHEL, W.; VAN ESSCHE, M.; SLIEPEN, I.; QUIRYNEN, M. Probiotics and oral healthcare. *Periodontol 2000*, v. 48, p. 111-47, 2008.

TEUGHEL, W.; DURUKAN, A.; OZCELIK, O.; PAUWELS, M.; QUIRYNEN, M.; HAYTAC, M.C. Clinical and microbiological effects of Lactobacillus reuteri probiotics in the treatment of chronic

periodontitis: a randomized placebo-controlled study. *Clin Periodontol*, v. 40, n. 11, p. 1025-35, 2013.

VAN TORNOUT, M.; DADAMIO, J.; COUCKE, W.; QUIRYNEN, M. Tongue coating: related factors. *J Clin Periodontol*, v. 40, n. 2, p. 180-5, 2013.

VITETTA, L.; BRISKEY, D.; ALFORD, H.; HALL, S.; COULSON, S. Probiotics, prebiotics and the gastrointestinal tract in health and disease. *Inflammopharmacology*, v. 22, n. 3, p. 135-5, 2014.

XU, X.; HE, J.; XUE, J.; WANG, Y.; LI, K.; ZHANG, K.; GUO, Q.; LIU, X.; ZHOU, Y.; CHENG, L.; LI, M.; LI, Y.; LI, Y.; SHI, W.; ZHOU, X. Oral cavity contains distinct niches with dynamic microbial communities. *Environ Microbiol*, v. 17, n. 3, p.699-710, 2015.

YANG, F.; HUANG, S.; HE, T.; CATRENICH, C.; TENG, F.; BO, C.; CHEN, J.; LIU, J.; LI, J.; SONG, Y.; LI, R.; XU, J. Microbial basis of Oral Malodor Development in humans. *J Dent Res*, v. 92, n. 12, p. 1106-12, 2013.

WESCOMBE, P.A.; HALE, J.D.F.; HENG, N.C.K.; TAGG, J.R. Developing oral probiotics from *Streptococcus salivarius*. *Future Microbiol*, v. 7, n. 12, p. 1355-71, 2012.

WILHELM, D.; HIMMELMANN, A.; AXMANN, E.M.; WILHELM, K.P. Clinical efficacy of a new tooth and tongue gel applied with a tongue cleaner in reducing oral halitosis. *Quintessence Int*, v. 43, n. 8, p. 708-18, 2012.

ZALEWSKA, A.; ZATOŃSKI, M.; JABŁONKA, A.S.; PARADOWSKA, A.; KAWALA, B.; LITWIN, A. Halitosis – a common medical and social problem. A review on pathology, diagnosis and treatment. *Acta Gastroenterol Belg*, v. 75, n. 3, p. 300-9, 2012.

## APÊNDICES

Anexo 1: Ficha clínica

Data da avaliação:

Nome:

Sexo:

Data de nascimento:

Telefone:

Endereço:

Você tem mau hálito? ( )Sim ( )Não

Critérios de exclusão

Analfabetismo? ( )Sim ( )Não

Usou antibiótico nos últimos 30 dias? ( )Sim ( )Não

Fuma? ( )Sim ( )Não

Uso de Álcool? ( )Sim ( )Não

Gravidez/Amamentação? ( )Sim ( )Não

Doenças sistêmicas

Diabetes melitus? ( )Sim ( )Não

Insuficiência renal? ( )Sim ( )Não

Cirrose hepática? ( )Sim ( )Não

Exame clínico

Cárie: ( )Sim ( )Não

Placa: ( )Sim ( )Não

Gengivite: ( )Sim ( )Não

Periodontite: ( )Sim ( )Não

Halitose por Doença periodontal: ( )Sim ( )Não

Lesões agudas ou periodontite ulcerativa necrosante: ( )Sim ( )Não

Presença de saburra lingual: ( )Sim ( )Não

Se sim:

( )Saburra fina em até 1/3 do dorso da língua (1)

( )Saburra fina em mais de 1/3 do dorso da língua ou espessa em até 1/3 (2)

( )Saburra espessa em mais de 1/3 do dorso da língua (3)

1ª Avaliação

Data do exame:

Teste organoléptico:

( )Ausência de cheiro (0) ( )Mau cheiro quase imperceptível (1)

( )Mau cheiro leve (2) ( )Mau cheiro moderado (3)

( )Mau cheiro forte (4) ( )Mau cheiro grave (5)

Halímetro:

2ª Avaliação

Data do exame:

Teste organoléptico:

Ausência de cheiro (0)       Mau cheiro quase imperceptível (1)

Mau cheiro leve (2)       Mau cheiro moderado (3)

Mau cheiro forte (4)       Mau cheiro grave (5)

Halímetro:

## Anexo 2: TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado para participar da pesquisa intitulada “Efeito da inulina e do *Streptococcus salivarius* na halitose associada à saburra lingual: Um ensaio clínico randomizado”, realizada pelos pesquisadores Camila Rafaela Mousquer, Álvaro Della Bona e Fernando Fornari. Você foi escolhido por ser um paciente que se queixa de mau hálito de causa oral (boca).

Sua participação não é obrigatória. A qualquer momento você pode desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador ou com entidade vinculada.

O objetivo desta pesquisa é avaliar o efeito de novos tratamentos para mau hálito. Neste estudo o novo tratamento é uma combinação de prebiótico, chamado inulina, com o probiótico *Streptococcus salivarius* (SS). A inulina é um alimento da classe das fibras, enquanto que o SS é uma bactéria em forma de medicamento que se ativa na boca e torna a população de bactérias deste ambiente mais saudável, podendo reduzir assim o mau hálito. A justificativa para este estudo é que o mau hálito é queixa comum na população, e como a causa principal é problema na boca, usualmente é diagnosticado e tratado pelo dentista. As alternativas de tratamento ainda são limitadas, e o uso de prebiótico com probiótico parece ser promissor para esta condição, além de ser bastante seguro.

Ao aceitar participar você terá que ser consultado, responder a questionários sobre sintomas e qualidade de vida, ter sua boca examinada por um dentista, e ter seu hálito percebido pelo mesmo

dentista e também por um aparelho que mede a presença de substâncias que dão mau odor no ar eliminado pela boca. Esta avaliação será realizada duas vezes, antes e ao término do tratamento em teste. Após a primeira avaliação você será sorteado para receber um dos 3 tipos de tratamento, contendo combinações diversas entre inulina, SS e placebo. O tratamento vai durar 10 dias, iniciando 4 dias após a primeira consulta. Você vai precisar chupar uma goma pela manhã e uma goma pela noite. A segunda avaliação será realizada 2 semanas após a primeira, no último dia de uso das gomas.

Ao participar, os riscos para você serão mínimos. O exame do dentista não dói, não tem injeção e nem qualquer manipulação na boca. As gomas contendo prebiótico, probiótico ou placebo não têm efeitos colaterais. Você poderá ser beneficiado(a) pela pesquisa no sentido de melhorar o seu hálito. Você também estará ajudando a descobrir um novo tratamento para pessoas que sofrem de mau hálito.

As informações obtidas através dessa pesquisa serão confidenciais, isto é, só os pesquisadores saberão sobre os seus dados, sendo mantido sigilo sobre sua participação. Os seus dados não serão divulgados de modo que permitam a sua identificação.

Você não será recompensado(a) financeiramente pela sua participação.

Ao assinar este documento, você estará concordando em participar da pesquisa e que entendeu os objetivos, riscos e benefícios da sua participação e todas as informações que lhe foram prestadas pelos pesquisadores.

Você receberá uma cópia deste termo onde consta o telefone e o endereço dos pesquisadores, podendo tirar suas dúvidas sobre a pesquisa e sua participação, a qualquer momento.

Pesquisador responsável:

Nome: Camila Rafaela Mousquer

Assinatura \_\_\_\_\_

Telefone: 55.99176354

Participante:

Nome \_\_\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_

O presente Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi elaborado de acordo com a Res. CNS 196/96 e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Passo Fundo.

O participante pode entrar em contato com o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Passo Fundo pelo telefone (0xx54) 3316-8370

## ANEXO 2: WHOQOL-Bref

Este questionário é sobre como você se sente a respeito de sua qualidade de vida, saúde e outras áreas de sua vida. Por favor, responda a todas as questões. Se você não tem certeza sobre que resposta dar em uma questão, por favor, escolha entre as alternativas a que lhe parece mais apropriada. Esta, muitas vezes, poderá ser sua primeira escolha. Por favor, tenha em mente seus valores, aspirações, prazeres e preocupações. Nós estamos perguntando o que você acha de sua vida, tomando como referência as duas últimas semanas. Por exemplo, pensando nas últimas duas semanas, uma questão poderia ser:

	Nada	Muito pouco	Médio	Muito	Completamente
Você recebe dos outros o apoio de que necessita?	1	2	3	4	5

Você deve circular o número que melhor corresponde ao quanto você recebe dos outros o apoio de que necessita nestas últimas duas semanas. Portanto, você deve circular o número 4 se você recebeu "muito" apoio como abaixo.

	Nada	Muito pouco	Médio	Muito	Completamente
Você recebe dos outros o apoio de que necessita?	1	2	3	4	5

Você deve circular o número 1 se você não recebeu "nada" de apoio.

Por favor, leia cada questão, veja o que você acha e circule o número que lhe parece a melhor resposta.

		Muito Ruim	Ruim	Nem ruim, nem boa	Boa	Muito Boa
1	Como você avaliaria sua qualidade de vida?	1	2	3	4	5

		Muito insatisfeito	Insatisfeito	Nem satisfeito, nem insatisfeito	Satisfeito	Muito satisfeito
2	Quão satisfeito(a) você está com a sua saúde?	1	2	3	4	5

As questões seguintes são sobre o quanto você tem sentido algumas coisas nas últimas duas semanas.

		Nada	Muito pouco	Médio	Muito	Completamente
3	Em que medida você acha que sua dor (física) impede você de fazer o que você precisa?	1	2	3	4	5

4	O quanto você precisa de algum tratamento médico para levar sua vida diária?	1	2	3	4	5
5	O quanto você aproveita a vida?	1	2	3	4	5
6	Em que medida você acha que a sua vida tem sentido?	1	2	3	4	5
7	O quanto você consegue se concentrar?	1	2	3	4	5
8	Quão seguro(a) você se sente na sua vida diária?	1	2	3	4	5
9	Quão saudável é o seu ambiente físico (clima, barulho, poluição, atrativos)?	1	2	3	4	5

As questões seguintes perguntam sobre quão completamente você tem sentido ou é capaz de fazer certas coisas nestas últimas duas semanas.

		Nada	Muito pouco	Médio	Muito	Completamente
10	Você tem energia suficiente para seu dia-a-dia?	1	2	3	4	5

1 1	Você é capaz de aceitar a sua aparência física?	1	2	3	4	5
1 2	Você tem dinheiro suficiente para satisfazer suas necessidades?	1	2	3	4	5
1 3	Quão disponíveis para você estão as informações que precisa no seu dia-a-dia?	1	2	3	4	5
1 4	Em que medida você tem oportunidades de atividades de lazer?	1	2	3	4	5

As questões seguintes perguntam sobre quão bem ou satisfeito você se sentiu a respeito de vários aspectos de sua vida nas últimas duas semanas.

		Muito Ruim	Ruim	Nem ruim, nem boa	Boa	Muito Boa
1 5	Quão bem você é capaz de se locomover?	1	2	3	4	5

		Muito insatisfeito	Insatisfeito	Nem satisfeito, nem insatisfeito	Satisfeito	Muito satisfeito
--	--	--------------------	--------------	----------------------------------	------------	------------------

1 6	Quão satisfeito(a) você está com o seu sono?	1	2	3	4	5
1 7	Quão satisfeito(a) você está com sua capacidade de desempenhar as atividades do seu dia-a-dia?	1	2	3	4	5
1 8	Quão satisfeito(a) você está com a sua capacidade para o trabalho?	1	2	3	4	5
1 9	Quão satisfeito(a) você está consigo mesmo?	1	2	3	4	5
2 0	Quão satisfeito você está com suas relações pessoais (amigos, parentes, conhecidos, colegas)?	1	2	3	4	5
2 1	Quão satisfeito(a) você está com sua vida sexual?	1	2	3	4	5
2 2	Quão satisfeito(a) você está com o apoio que você recebe de seus amigos?	1	2	3	4	5
2 3	Quão satisfeito(a) você está com as condições do local onde mora?	1	2	3	4	5
2 4	Quão satisfeito(a) você está com o seu acesso aos serviços de saúde?	1	2	3	4	5

2 5	Quão satisfeito(a) você está com o seu meio de transporte?	1	2	3	4	5
--------	--	---	---	---	---	---

As questões seguintes referem-se a com que frequência você sentiu ou experimentou certas coisas nas últimas duas semanas.

		Nunca	Algumas vezes	Frequentemente	Muito frequentemente	Sempre
2 6	Com que frequência você tem sentimentos negativos, tais como mau humor, desespero, ansiedade, depressão?	1	2	3	4	5

Alguém lhe ajudou a preencher este questionário?.....

Quanto tempo você levou para preencher este questionário?.....

Você tem algum comentário sobre o questionário?

OBRIGADO PELA SUA COLABORAÇÃO

Anexo 3: OHIP-14

Nome do participante: \_\_\_\_\_

Data: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Para cada questão circule uma das alternativas ('a', 'b', 'c', 'd' ou 'e') que se enquadre melhor na sua situação.

Nos últimos seis meses, por causa de problemas com seus dentes, sua boca ou dentadura:

1 – Você tem dificuldade para pronunciar algumas palavras ou falar devido a problemas com seus dentes, boca ou prótese dentária?

muito freqüente  pouco freqüente  ocasionalmente  quase nunca  nunca

2 – Você sente que seu paladar (sentido do gosto) piorou devido a problemas com seus dentes, boca ou prótese dentária?

muito freqüente  pouco freqüente  ocasionalmente  quase nunca  nunca

3 – Você tem sofrido dores na sua boca ou dentes?

muito freqüente  pouco freqüente  ocasionalmente  quase nunca  nunca

4 – Você sente dificuldade para comer algum alimento devido a problemas com seus dentes, boca ou prótese dentária?

muito freqüente  pouco freqüente  ocasionalmente  quase nunca  nunca

5 – Você se sente inibido por causa de seus dentes, boca ou prótese dentária?

muito freqüente  pouco freqüente  ocasionalmente  quase nunca  nunca

6 – Você tem se sentido tenso por causa de problemas com seus dentes, boca ou prótese dentária?

muito freqüente  pouco freqüente  ocasionalmente  quase nunca  nunca

7 – Sua dieta tem sido insatisfatória devido a problemas com seus dentes, boca ou prótese dentária?

muito freqüente  pouco freqüente  ocasionalmente  quase nunca  nunca

8 – Você tem interrompido suas refeições devido a problemas com seus dentes, boca ou prótese dentária?

muito freqüente  pouco freqüente  ocasionalmente  quase nunca  nunca

9 – Você sente dificuldade em relaxar devido a problemas com seus dentes, boca ou prótese dentária?

muito freqüente  pouco freqüente  ocasionalmente  quase nunca  nunca

10 – Você tem se sentido embaraçado devido a problemas com seus dentes, boca ou prótese dentária?

muito freqüente  pouco freqüente  ocasionalmente  quase nunca  nunca

11 – Você tem se sentido irritado com outras pessoas devido a problemas com seus dentes, boca ou prótese dentária?

muito freqüente  pouco freqüente  ocasionalmente  quase nunca  nunca

12 – Você tem tido dificuldade de realizar seus trabalhos diários devido a problemas com seus dentes, boca ou prótese dentária?

muito freqüente  pouco freqüente  ocasionalmente  quase nunca  nunca

13 – Você tem sentido a vida menos satisfatória devido a problemas com seus dentes, boca ou prótese dentária?

muito freqüente  pouco freqüente  ocasionalmente  quase nunca  nunca

14 – Você tem se sentido totalmente incapaz de suas obrigações devido a problemas com seus dentes, boca ou prótese dentária?

muito freqüente  pouco freqüente  ocasionalmente  quase nunca  nunca

### Anexo 3: PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

UNIVERSIDADE DE PASSO  
FUNDO/ PRÓ-REITORIA DE  
PESQUISA E PÓS-



#### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

##### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Efeito da Inulina e do Streptococcus salivarius na halitose associada a saburra lingual:  
Um ensaio clínico randomizado

**Pesquisador:** Fernando Fomari

**Área Temática:**

**Versão:** 1

**CAAE:** 40334914.0.0000.5342

**Instituição Proponente:** FUNDACAO UNIVERSIDADE DE PASSO FUNDO

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

##### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 931.353

**Data da Relatoria:** 11/01/2015

##### Apresentação do Projeto:

O projeto foi anexado na íntegra e sob forma reduzida para apreciação pelo CEP.

##### Objetivo da Pesquisa:

Conforme escrito pelos pesquisadores: "Avaliar o efeito da combinação Inulina e Streptococcus salivarius na halitose secundária a saburra lingual."

##### Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Conforme relatado pelo pesquisador, não haverá riscos há nenhum indivíduo.

##### Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

O estudo está bem delineado. Apresenta uma metodologia concisa e adequada para alcançar os objetivos do estudo. O TCLE e de autorização para a pesquisa assinado pelo responsável da FOUFP foram anexados à proposta.

##### Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

O protocolo foi instruído e apresentado de maneira completa e adequada. Os compromissos do (a) pesquisador (a) e das instituições envolvidas estavam presentes. O projeto foi considerado claro em seus aspectos científicos, metodológicos e éticos.

Endereço: BR 285- Km 292 Campus I - Centro Administrativo  
Bairro: Divisão de Pesquisa / São José CEP: 99.052-900  
UF: RS Município: PASSO FUNDO  
Telefone: (54)3316-8157 E-mail: cep@upf.br

UNIVERSIDADE DE PASSO  
FUNDO/ PRÓ-REITORIA DE  
PESQUISA E PÓS-



Continuação do Parecer: 931.253

**Recomendações:**

Após o término da pesquisa, o CEP UPF solicita:

- a) A devolução dos resultados do estudo ao(s) sujeito(s) da pesquisa ou a instituição que forneceu os dados;
- b) Enviar o relatório final da pesquisa, pela plataforma, utilizando a opção, no final da página, "Enviar Notificação" + relatório final.

**Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:**

Diante do exposto, este Comitê, de acordo com as atribuições definidas na Resolução n. 466/12, do Conselho Nacional da Saúde, Ministério da Saúde, Brasil, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa na forma como foi proposto.

**Situação do Parecer:**

Aprovado

**Necessita Apreciação da CONEP:**

Não

**Considerações Finais a critério do CEP:**

PASSO FUNDO, 12 de Janeiro de 2015

---

Assinado por:  
Nadir Antonio Pichler  
(Coordenador)

Endereço: BR 285- Km 202 Campus I - Centro Administrativo  
Bairro: Divisão de Pesquisa / São José CEP: 99.052-400  
UF: RS Município: PASSO FUNDO  
Telefone: (54)3316-8157 E-mail: cep@upf.br

Página 02 de 02

## ARTIGO SUBMETIDO

Dear Professor Fornari

Thank you for submitting your manuscript "Inulin and Streptococcus salivarius reduce halitosis associated with tongue coating: A randomized clinical trial" to Alimentary Pharmacology & Therapeutics, which has been successfully uploaded to ScholarOne Manuscripts. The manuscript was received on 12-Jun-2016. As corresponding author, you will receive all future communications regarding this manuscript via e-mail.

Your manuscript has been given the following number - APT-0748-2016 - please make a note of this number and use it in any correspondence with the journal concerning your manuscript.

If your paper has already been considered for publication by another journal, we would be pleased to see the referees' comments and your responses. Please e-mail (to [dorisedwards.apt@gmail.com](mailto:dorisedwards.apt@gmail.com)) or fax them ([+44 \(0\)1438 712161](tel:+44201438712161)) to our Editorial Manager, Mrs Doris Edwards. This may speed our review of your paper.

You can keep track of your manuscript by logging on periodically to ScholarOne Manuscripts at <https://mc.manuscriptcentral.com/apt>, where the current status of your manuscript will be displayed in your Author Center. We hope to provide you with a prompt response - our first decision in 2015 was made after an average of 13 days.

AP&T encourages use of its provision of free colour and has no author charges. AP&T provides free access to all articles from 18 months after publication.

Thank you for sending your work to Alimentary Pharmacology & Therapeutics.

Yours sincerely

Roy Pounder, Jonathan Rhodes and Colin Howden  
EDITORS.

Inulin and *Streptococcus salivarius* reduce halitosis associated with tongue coating: A randomized clinical trial

Camila R Mousquer<sup>1</sup>, Sidia Maria Callegari Jacques<sup>2</sup>, Alvaro Della Bona<sup>1</sup>, Ana Paula Cargnelutti Venturini<sup>3</sup>, Cassiano Rösing<sup>4</sup>, Fernando Fornari<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Faculdade de Odontologia, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade de Passo Fundo, RS, Brazil; <sup>2</sup>Departamento de Estatística, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil; <sup>3</sup>Faculdade de Medicina, Universidade de Passo Fundo; <sup>4</sup>Faculdade de Odontologia, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brazil.

Corresponding author: Fernando Fornari, Programa de Pós-Graduação em Odontologia, UPF. BR 285 Campus I, RS, Passo Fundo, Brazil. CEP 99052900, phone 55.54.33168395. Email: [fernandofornari@gmail.com](mailto:fernandofornari@gmail.com)

Short title: Inulin and *S. salivarius* reduce halitosis

Key words: Halitosis; prebiotic; probiotic; tongue coating.

Total word count (introduction to references): 3776

## ABSTRACT

**Background:** Halitosis associated with tongue coating results from the production of volatile sulfur compounds by bacterial action. The use of prebiotics and probiotics could be useful in treating such condition.

**Aim:** To evaluate the effect of associating the prebiotic inulin with probiotic *Streptococcus salivarius* (SS) to treat patients with halitosis by coating.

**Methods:** In this double-blind, randomized, phase II trial, 45 patients ( $35 \pm 15$  years, 66% women) with halitosis by coating were allocated to three treatment groups (n = 15) using gum of oral dissolution for 10 days, containing: inulin+SS, SS and placebo.

Organoleptic test, Halimeter®, coating index and evaluation of quality of life (OHIP-14 and WHOQOL-Bref) were performed before and after treatments. Generalized estimating equations were used to evaluate the effects.

**Results:** Forty-four patients (97%) completed the study. Patients treated with inulin+SS showed greater reduction in halitosis measured by Halimeter® as compared to both SS only (before/after treatment: 181/100 ppb vs. 197/125; p = 0.049) and placebo (before/after treatment: 181/100 ppb vs. 187/149; p = 0.002). Quality of life improved similarly in both groups using SS.

**Conclusions:** In this clinical trial the combination of inulin and *Streptococcus salivarius* was

superior in controlling halitosis by coating compared to *Streptococcus salivarius* and placebo.

ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02794766.

## INTRODUCTION

Halitosis is the externalization of foul odours from the oral cavity. It affects approximately one third of the general population and may result in constraints on social life<sup>1-4</sup>. The most common cause of halitosis is the tongue coating, followed by periodontal disease and extra oral conditions<sup>5,6</sup>.

Coating is found mainly in the dorsal-posterior region of the tongue. It can produce volatile sulfur compounds (VSCs) by bacterial action on decaying organic substrates, resulting in bad breath<sup>6-8</sup>. Therefore, the microbiota of the tongue is crucial in the pathophysiology of halitosis. Bacteria such as *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythensis*, *Fusobacterium nucleatum* and *Treponema denticola* appear to be involved in halitosis by their production of VSCs<sup>9, 10</sup>. Interestingly, subjects without halitosis have potentially beneficial bacteria in the oral flora, such as *Streptococcus salivarius*<sup>11-13</sup>. In light of this, recent studies have used beneficial commensal bacteria as probiotics in treating conditions of the oral cavity, including *Streptococcus salivarius* and *Lactobacillus reuteri*<sup>14-17</sup>.

In addition to the potential benefits of probiotics, consumption of prebiotic foods might help in the proliferation of benefic bacteria in the

oral microflora<sup>13, 18, 19</sup>. The prebiotics are carbohydrates in the form of indigestible fibers found in foods such as onions, cereals, bananas, corn and tomato. When prebiotics are ingested with probiotics, they are known as synbiotics. They stimulate the proliferation and activity of microbial flora by inhibiting the proliferation of pathogens and promoting the immune defense<sup>18</sup>. The most widely used prebiotics are inulin, oligofructose and fructooligosaccharides<sup>18, 20</sup>. Prebiotics can act in the oral cavity promoting the growth and metabolism of oral bacterial biofilms, inserting *Bifidobacteria*, *Lactobacilli* and *Streptococcus* that help to prevent the colonization of pathogenic bacteria<sup>19</sup>.

The effect of the combined prebiotic and probiotic in halitosis by coating is unknown. Furthermore, the role of such combination in both oral related and general quality of life has not been addressed. To date the studies were limited to the effect of isolate probiotics in halitosis. Therefore, the objective of this study was to evaluate the effect of combining inulin and *Streptococcus salivarius* to treat halitosis by tongue coating, testing the hypothesis that the addition of a prebiotic such as inulin enhances the benefits of the probiotic *Streptococcus salivarius* in patients with halitosis.

## **MATERIALS AND METHODS**

### **Participants**

In this randomized, controlled, double-blind, parallel, phase II trial, adult patients complaining of halitosis related with tongue coating were invited to participate. They were identified after appointment at the local dental school, between August and November 2015. The diagnosis of halitosis by coating was initially confirmed by oral examination for coating identification, followed by organoleptic test for halitosis. Exclusion criteria were halitosis for other conditions, use of antibiotics in the last 30 days, active smoking (>10 cigarettes/day), alcohol consumption (>2 drinks/day), pregnancy or breastfeeding, and systemic diseases such as diabetes mellitus, kidney failure and hepatic cirrhosis. Sample size was estimated in 45 participants, considering a difference between treatments of 80% in halitosis reduction, as well as  $\alpha = 5\%$  and power = 80%. All participants gave written consent before entering the study. The research protocol was approved by the local ethics committee (CAAE: 40334914.0.0000.5342). ClinicalTrials.gov Identifier: NCT02794766.

### **Clinical examination**

Oral examination was performed by a trained dentist (CRM), identifying dental cavities, plaque, gingivitis, periodontal pockets and any dental prosthesis. The tongue coating was described after visual inspection and classified into 4 levels: 0 - no coating; 1 - thin coating on 1/3 of the tongue; 2 - thin coating on more than 1/3 of the tongue or thick coating on only 1/3 of the tongue; 3 - thick coating on more than 1/3 of the tongue<sup>5</sup>. Weight and height were measured in order to calculate body mass index (BMI, in kg/m<sup>2</sup>).

#### **Evaluation of halitosis**

After clinical examination, halitosis was confirmed by organoleptic test and measured by Halimeter®. These tests were performed by a trained and calibrated judge (CRM), with levels of agreement and reproducibility greater than 80% for both organoleptic test and coating index compared to an expert judge (CR). All patients were examined between 8 am and 11 am. They were asked to avoid eating garlic, onion and other food condiments for two days before testing and avoid overeating margarine, milk, fry, sardines, salami, bologna, sausage, red meat, cheeses and foods with sulfur in the composition (cabbage, broccoli, cabbage, cauliflower, egg) for the day before examination. In

the examination morning, patients should avoid using candies and gums, but were allowed to have breakfast and tooth brushing with water only. Patient examination last less than 30 minutes.

### **Organoleptic test**

Patients at rest were instructed to hold air in the mouth while breathing through the nose for 1 min. They blow through the mouth with the examiner positioned 10 cm from the patient mouth. Patient breath was rated from 0 to 5, as follows: 0 - no smell, 1 - poor barely perceptible odour, 2 - slight stench, 3 - moderate smelly, 4 - strong stench, and 5 - severe stench<sup>21</sup>.

### **Halimeter®**

In addition to the organoleptic test, patients had their breath objectively measured using a Halimeter® (Interscan Corporation, Chatsworth, CA, USA), which is capable of measuring the VSCs. Halitosis was identified when the device accuses  $\geq 75\text{ppb}$ <sup>22, 23</sup>. The measurements were made by inserting a disposable straw into the patient mouth above the tongue.

### **Prebiotic and probiotic**

This study used the probiotic *Streptococcus salivarius* (LEMMA Supply Solutions lab, Jardinópolis SP), 2 billion colony forming units (CFU) per day, in addition to prebiotic inulin (Galena Chemical and Pharmaceutical LTD, Campinas / SP) at a daily dose of 2 g. Prebiotic, probiotic and placebo were specially prepared in the form of gum (Natupharma, Passo Fundo, RS, Brazil). Gums were developed identical in terms of physical appearance, odour, taste and consistency, containing: inulin 1 g + *Streptococcus salivarius* 1 billion CFU for group A; *Streptococcus salivarius* 1 billion CFU for group B; and placebo for group C. Patients were instructed to use 1 gum every 12 h (after breakfast and after dinner) for 10 days.

### **Quality of life questionnaires**

This study used the WHOQOL-Bref, translated and validated to Brazilian Portuguese<sup>24, 25</sup>. Briefly, it consists of 26 questions (Likert scale from 1 to 5 points) and produces an overall quality of life score ranging from 4 (worst) to 20 (best). For oral related QOL, this study used the short version of the OHIP-14<sup>26</sup>, translated and validated to Brazilian Portuguese<sup>27</sup>. The final score can range from 0 (best) to 56

(worst). Participants responded both the questionnaires before and after treatment, with 14 days of interval.

### **Study protocol**

Patients were evaluated in a dental clinic, following the steps illustrated in Figure 1. After signing the informed consent, clinical and quality of life (WHOQOL and OHIP-14) data were recorded, followed by oral examination to assess coating, and organoleptic test to confirm halitosis. Afterwards, objective measurement of halitosis by Halimeter® was carried out.

Enrolled patients were randomized by the first author (CRM) using an envelope code (computer generated, organized by the gums manufacturer in blocks for 3 patients 1:1:1, each containing one of the 3 treatments), in the following groups: inulin+SS, SS, and placebo. Therefore, examiner and participants were blinded to arms treatment. Patients were instructed to use 1 gum every 12 hours starting on the fourth day after the interview, and interrupting 2 weeks after the first interview (total 10 days of treatment). Each gum was placed in the mouth and kept until its dissolution, allowing gentle mastication. The final examination was performed in the last day of treatment, repeating

the same procedures from before treatment (coating index, organoleptic and Halimeter® tests, and quality of life assessment). Treatment adherence was assessed as the number of gums not used in relation to the total number of gums received. Safety was characterized according to potential side effects described individually by the patients, including headache, oral complaints and abdominal symptoms (yes/not). Primary outcomes were organoleptic and Halimeter® assessments for halitosis, whereas secondary outcomes were coating index, quality of life and treatment adherence/safety. Allocation into the three treatment arms was revealed only after termination of data analysis.

### **Statistical analysis**

Initial comparisons among groups of patients were done using ANOVA (age), Kruskal-Wallis (BMI) and chi-square (sex) tests. Before/after treatment values were compared in each group by Wilcoxon or t tests for paired data. To analyze differences among treatments using before/after data, we employed generalized estimating equations (GEE); Halimeter® and OHIP-14 general score were log-transformed due to asymmetry in the distributions. We considered ‘group’, ‘time’

and their interaction as independent variables in the model; additional inclusion of sex and age as confounders was decided using QICc. Based on this criterion, sex entered as covariable in the model for Halimeter®, whereas no covariables adjustment was necessary when analyzing the remaining three outcomes. GEE analyses were done considering normal distributions with identity links, except for the coating index, for which Poisson distribution and log link function were employed. Subsequent pairwise comparisons between treatments were done using least significant differences. The statistical analyses were performed using Graph Prism 4.0 and SPSS v.18 softwares. The limit considered for statistical significance was 5%.

## **RESULTS**

### **Characteristics of the patients**

A total of 53 patients were invited to participate. Eight were excluded in the first interview due to the following: periodontitis (5 patients), use of antibiotics in the last 30 days (2 patients) and breastfeeding (1 patient). Between August and November 2015, 45 patients were randomized and completed the treatment, except for one patient that gave up just before the last examination. Thus, 15 patients were treated with inulin + SS, 15 patients were treated with SS and 14 patients received placebo. The groups did not differ according to sex, age and BMI (Table 1).

### **Organoleptic test**

Adjustments for sex and age were not necessary because these variables did not influence the analytical model. In the intratreatment analysis, the three groups showed a significant reduction in the organoleptic scores after treatment (Table 2). However, there was no statistical difference in the magnitude of effect between treatments (inulin+SS vs. SS  $p = 0.134$ ; inulin+SS vs. placebo  $p = 0.263$ ; and SS vs. placebo  $p = 0.765$ ).

### **Halimeter®**

The scores obtained from the Halimeter® were significantly lower after treatment in the three groups (Table 3). In the analysis of intertreatment effect using the GEE approach, the variable sex changed the results and was included as a covariate. The group treated with inulin+SS showed a significant reduction in halitosis as compared to both SS group (difference of the means before / after treatment in ppb: 81 vs 72;  $p = 0.049$ ) and placebo (81 vs. 38;  $p = 0.002$ ), as shown in Figure 2. There was no significant difference between SS and placebo (72 vs. 38;  $p = 0.108$ ).

### **Coating index**

As observed for organoleptic and Halimeter® tests, coating index decreased significantly after the three interventions in the intratreatment analyses (Table 4). Although the reduction did not differ between treatments ( $p = 0.256$ ), it tended to be superior in patients treated with inulin+SS as compared to SS ( $p = 0.061$ ) and also in patients treated with SS as compared to placebo ( $p = 0.083$ ).

### **Quality of life**

A patient treated with inulin+SS was excluded due to protocol breach. In the intratreatment analysis (Table 5), the OHIP-14 score of patients who received inulin+SS improved significantly after treatment. An improvement in the score of WHOQOL-Bref after treatment was also observed for individuals treated with SS. Patients treated with placebo showed no improvement in these scores. The intertreatment analysis revealed no significant difference in the effect of treatments in both OHIP-14 ( $p = 0.757$ ) and WHOQOL-Bref ( $p = 0.697$ ).

### **Treatment adherence and safety**

Among 44 patients, nine (20%) did not use all 20 gums: four patients returned 1 gum each, two patients returned 2 gums, 2 returned patients 3 gums and 1 patient returned 5 gums. Some patients had gum related complaints: large size (2 patients), delayed dissolution (5 patients) and bad flavor (6 patients). The frequency of side effects during the treatments was low (4 among 44 patients, 9%) and did not differ significantly between groups ( $p = 0.779$ ): one patient reported headache (group inulin+SS), two reported tongue discomfort (group SS) and one

patient complained of mild diarrhea (group placebo). These symptoms disappeared after the study.

## DISCUSSION

Halitosis affects a substantial part of the general population and most cases originate from the mouth, especially by tongue coating<sup>5, 6</sup>. The production of VSCs from oral bacteria supports the concept that treatments with probiotics able to compete with deleterious bacteria are promising<sup>8, 13, 15</sup>. In light of this, a preliminary study showed that isolated use of *Streptococcus salivarius* was superior to placebo in patients with coating related halitosis<sup>14</sup>. Theoretically, the combination of probiotics with prebiotics might further enhance the proliferation of beneficial bacteria, contributing to the control of halitosis by coating.

The main finding of the present study was the superiority of the combination inulin+SS in controlling halitosis measured by Halimeter®, in comparison with either SS or placebo. The reduction of organoleptic scores after the use of inulin+SS was also observed with the other treatments, with no superiority between them. Similarly, the coating index showed a greater reduction in the group treated with inulin+SS and SS compared with placebo, but the values were not statistically different between treatments. The reduction in halitosis found in placebo-treated groups might be explained by the Hawthorne effect<sup>28</sup>.

Oral health is known to affect QOL. The present study observed improvement in QOL related with oral health in patients treated with inulin+SS. Overall QOL was also improved, but this finding was restricted to patients treated with SS only. The OHIP-14 evaluates social impact of oral problems such as halitosis, through the perception of the affected patients<sup>29</sup>. Improvement in QOL may be related to routine dental appointments<sup>30</sup>. However, the lack of superiority of any treatment in the intergroup comparison might be explained by insufficient patient sample size.

To the best of our knowledge this is the first study testing a combination of prebiotic and probiotic in patients with coating related halitosis. SS was elected by its ability to prevent the action of pathogenic oral bacteria<sup>11-14, 17</sup>. It is known that SS produces bacteriocins that inhibit the production of VSCs. Such probiotic can modify the oral environment by modulating both pH and oxidation reduction potential, undermining the stability of pathogens<sup>15, 31</sup>. The superiority of the combination of SS and inulin here demonstrated introduces a new target for future studies in halitosis, with potential for worldwide application.

SS is commonly found in the oral flora of patients without halitosis<sup>11, 12, 15, 17, 31</sup>. However, it is debatable whether the administration of SS as probiotic could influence the relatively stable oral microflora and significantly reduce halitosis<sup>32, 33</sup>. Studies suggest that SS reposition can generate unfavorable conditions for oral pathogens, hampering their capacity for colonization<sup>15, 17</sup>. In our study the administration of isolated SS reduced halitosis but did not show superiority as compared to placebo. The only benefit attributed to isolated SS was an improvement in general QOL, but again without superiority when compared with inulin+SS or placebo. Curiously, an *in vitro* study showed that administration of SS combined with mucin promoted grow of *Porphyromonas gingivalis*<sup>34</sup>, a pathogen related with halitosis.

The superiority of inulin+SS over isolate SS can be explained by the action of the prebiotic inulin. Inulin can aid in the proliferation of beneficial bacteria, leading to the superior effects observed in patients who received inulin+SS. According to Martinez et al. the effect of prebiotics on probiotics is not yet clearly explained<sup>19</sup>. He suggests that probiotics use prebiotics as an energy source. Therefore, the presence of inulin might favor SS growth and inhibit pathogenic bacteria. The literature shows that inulin passes through a different fermentation

processes producing bifidogenic effect, stimulating the SS growth<sup>13</sup>. Therefore, the combination of prebiotics probiotics can be a promising approach for patients with halitosis by coating, as shown in our study. The lack of superiority in controlling halitosis between treatments when evaluated by organoleptic test could be explained by a limited number of patients. It is worth noting that the organoleptic test has been considered the gold standard technique for measurement of halitosis, in both clinical practice and research<sup>6, 35</sup>. The organoleptic test is easy to perform and simulates the daily halitosis, but this method has several disadvantages: rapid habituation of the human nose to smells, lack of precision and reproducibility of the judge, and subjectivity of this evaluation<sup>23, 36</sup>. Furthermore, the scores present low variability, which hampers the detection of differences of moderate to small sizes. In contrast, the Halimeter® test presents objective data by measuring VSCs, recorded in parts per billion<sup>36</sup>. Its readings are more reproducible than organoleptic evaluations. Another advantage of the Halimeter® in relation to the organoleptic test is the cross-infection control<sup>6</sup>. We found reduction in coating lingual index after all treatments. However no difference between the treatments was observed, which also suggests the possibility of a type II error due to insufficient sample

size. A recent study showed that the probiotic *Lactobacillus brevis* was able to reduce the tongue index coating as compared to placebo, but did not demonstrate efficacy in treating halitosis<sup>37</sup>.

The benefits of inulin+SS observed here are limited to 10 days of treatment. Studies on the effect of probiotic have shown that the benefit usually may disappear after stopping the bacteria supply<sup>12, 15</sup>. Additional studies are needed to determine the best form of treatment with inulin+SS.

In summary, this phase II clinical trial found that the association between inulin and *Streptococcus salivarius* was superior in controlling halitosis by coating, compared to *Streptococcus salivarius* only and placebo.

## REFERENCES

1. Bornstein MM, Kislig K, Hoti BB, Seemann R, Lussi A. Prevalence of halitosis in the population of the city of Bern, Switzerland: a study comparing self-reported and clinical data. *Eur J Oral Sci* 2009;117:261-7.
2. Frexinos J, Denis P, Allemand H, Allouche S, Los F, Bonnelye G. [Descriptive study of digestive functional symptoms in the French general population]. *Gastroenterol Clin Biol* 1998;22:785-91.
3. Liu XN, Shinada K, Chen XC, Zhang BX, Yaegaki K, Kawaguchi Y. Oral malodor-related parameters in the Chinese general population. *J Clin Periodontol* 2006;33:31-6.
4. Rosing CK, Loesche W. Halitosis: an overview of epidemiology, etiology and clinical management. *Braz Oral Res* 2011;25:466-71.
5. Quirynen M, Dadamio J, Van den Velde S, *et al.* Characteristics of 2000 patients who visited a halitosis clinic. *J Clin Periodontol* 2009;36:970-5.
6. Seemann R, Conceicao MD, Filippi A, *et al.* Halitosis management by the general dental practitioner--results of an international consensus workshop. *J Breath Res* 2014;8:017101.

7. Aylikci BU, Colak H. Halitosis: From diagnosis to management. *J Nat Sci Biol Med* 2013;4:14-23.
8. Iatropoulos A, Panis V, Mela E, Stefaniotis T, Madianos PN, Papaioannou W. Changes of volatile sulphur compounds during therapy of a case series of patients with chronic periodontitis and halitosis. *J Clin Periodontol* 2016;43:359-65.
9. Xu X, He J, Xue J, *et al.* Oral cavity contains distinct niches with dynamic microbial communities. *Environ Microbiol* 2015;17:699-710.
10. Yang F, Huang S, He T, *et al.* Microbial basis of oral malodor development in humans. *J Dent Res* 2013;92:1106-12.
11. Gupta G. Probiotics and periodontal health. *J Med Life* 2011;4:387-94.
12. Meurman JH, Stamatova I. Probiotics: contributions to oral health. *Oral Dis* 2007;13:443-51.
13. Teughels W, Van Essche M, Sliepen I, Quirynen M. Probiotics and oral healthcare. *Periodontol 2000* 2008;48:111-47.
14. Burton JP, Chilcott CN, Moore CJ, Speiser G, Tagg JR. A preliminary study of the effect of probiotic *Streptococcus*

salivarius K12 on oral malodour parameters. *J Appl Microbiol* 2006;100:754-64.

15. Burton JP, Chilcott CN, Tagg JR. The rationale and potential for the reduction of oral malodour using *Streptococcus salivarius* probiotics. *Oral Dis* 2005;11 Suppl 1:29-31.
16. Teughels W, Durukan A, Ozcelik O, Pauwels M, Quirynen M, Haytac MC. Clinical and microbiological effects of *Lactobacillus reuteri* probiotics in the treatment of chronic periodontitis: a randomized placebo-controlled study. *J Clin Periodontol* 2013;40:1025-35.
17. Wescombe PA, Hale JD, Heng NC, Tagg JR. Developing oral probiotics from *Streptococcus salivarius*. *Future Microbiol* 2012;7:1355-71.
18. Kaur N, Gupta AK. Applications of inulin and oligofructose in health and nutrition. *J Biosci* 2002;27:703-14.
19. Martinez RC, Bedani R, Saad SM. Scientific evidence for health effects attributed to the consumption of probiotics and prebiotics: an update for current perspectives and future challenges. *Br J Nutr* 2015;114:1993-2015.

20. Ganaie MA, Lateef A, Gupta US. Enzymatic trends of fructooligosaccharides production by microorganisms. *Appl Biochem Biotechnol* 2014;172:2143-59.
21. Rosenberg M, McCulloch CA. Measurement of oral malodor: current methods and future prospects. *J Periodontol* 1992;63:776-82.
22. Bornstein MM, Stocker BL, Seemann R, Burgin WB, Lussi A. Prevalence of halitosis in young male adults: a study in swiss army recruits comparing self-reported and clinical data. *J Periodontol* 2009;80:24-31.
23. Laleman I, Dadamio J, De Geest S, Dekeyser C, Quirynen M. Instrumental assessment of halitosis for the general dental practitioner. *J Breath Res* 2014;8:017103.
24. Development of the World Health Organization WHOQOL-BREF quality of life assessment. The WHOQOL Group. *Psychol Med* 1998;28:551-8.
25. Fleck MP, Louzada S, Xavier M, *et al.* [Application of the Portuguese version of the abbreviated instrument of quality life WHOQOL-bref]. *Rev Saude Publica* 2000;34:178-83.

26. Slade GD. Derivation and validation of a short-form oral health impact profile. *Community Dent Oral Epidemiol* 1997;25:284-90.
27. Oliveira BH, Nadanovsky P. Psychometric properties of the Brazilian version of the Oral Health Impact Profile-short form. *Community Dent Oral Epidemiol* 2005;33:307-14.
28. Sedgwick P, Greenwood N. Understanding the Hawthorne effect. *BMJ* 2015;351:h4672.
29. Gabardo MC, Moyses ST, Moyses SJ. [Self-rating of oral health according to the Oral Health Impact Profile and associated factors: a systematic review]. *Rev Panam Salud Publica* 2013;33:439-45.
30. Leao MM, Garbin CA, Moimaz SA, Roviada TA. Oral health and quality of life: an epidemiological survey of adolescents from settlement in Pontal do Paranapanema/SP, Brazil. *Cien Saude Colet* 2015;20:3365-74.
31. Anilkumar K, Monisha AL. Role of friendly bacteria in oral health - a short review. *Oral Health Prev Dent* 2012;10:3-8.
32. Bonifait L, Chandad F, Grenier D. Probiotics for oral health: myth or reality? *J Can Dent Assoc* 2009;75:585-90.

33. Laleman I, Teughels W. Probiotics in the dental practice: a review. *Quintessence Int* 2015;46:255-64.
34. Sterer N, Rosenberg M. Streptococcus salivarius promotes mucin putrefaction and malodor production by Porphyromonas gingivalis. *J Dent Res* 2006;85:910-4.
35. Greenman J, Lenton P, Seemann R, Nachnani S. Organoleptic assessment of halitosis for dental professionals--general recommendations. *J Breath Res* 2014;8:017102.
36. Rosenberg M, Kulkarni GV, Bosy A, McCulloch CA. Reproducibility and sensitivity of oral malodor measurements with a portable sulphide monitor. *J Dent Res* 1991;70:1436-40.
37. Marchetti E, Tecco S, Santonico M, *et al.* Multi-Sensor Approach for the Monitoring of Halitosis Treatment via Lactobacillus brevis (CD2)-Containing Lozenges--A Randomized, Double-Blind Placebo-Controlled Clinical Trial. *Sensors (Basel)* 2015;15:19583-96.

## **ACKNOWLEDGMENTS**

**Funding:** The study was partially funded by Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS), grant number: PqG 12/2523-5.

**Declaration of interests:** The authors declare no conflict of interests.

### **Authorship statement:**

Guarantor of the article: Fernando Fornari

Specific author contributions: CRM and FF: (1) conception, design, acquisition and interpretation of data; (2) drafting the article. SMCJ, ADB, APCV and CR: (1) analysis and interpretation of data; (2) revising the article.

All authors approved the final version of the manuscript.

## TABLES

**Table 1.** Characteristics of the patients (n = 44)

	Inulin+SS* N = 15	SS N = 15	Placebo N = 14
Women, n (%)**	8 (53%)	9 (60%)	12 (86%)
Age, mean $\pm$ sd†	37.5 $\pm$ 14.6	42.0 $\pm$ 14.4	35.6 $\pm$ 15.8
BMI, mean $\pm$ sd‡	24.5 $\pm$ 3.1	24.8 $\pm$ 3.2	24.2 $\pm$ 5.2

\*Streptococcus salivarius; \*\*p = 0.154 ( $\chi^2$ ); †p = 0.495 (ANOVA); ‡p = 0.483 (Kruskal Wallis).

**Table 2.** Organoleptic test values (median and interquartile range) before and after treatment

Treatment *	Before	After	p†
Inulin+SS‡, n = 15	3 (3-4)	1 (1-2)	<0.001
SS, n = 15	3 (3-3)	2 (1-2)	0.002
Placebo, n = 14	3 (2-4)	2 (1-2)	0.003

\*Intertreatment analysis (GEE): no statistical difference between groups.  
†Paired Wilcoxon test; ‡Streptococcus salivarius.

**Table 3.** Halimeter® test (mean  $\pm$  standard deviation) measured before and after treatments

Treatment*	Before	After	p†
Inulin+SS‡,n=15	181 $\pm$ 93	100 $\pm$ 55	<0.001
SS, n = 15	197 $\pm$ 145	125 $\pm$ 71	0.003
Placebo,n = 14	187 $\pm$ 132	149 $\pm$ 117	0.096

\*Intertreatment analysis (GEE): Inulin+SS vs SS (p = 0.049); Inulin+SS vs placebo (p = 0.002). †Paired Wilcoxon test; ‡Streptococcus salivarius.

**Table 4.** Coating index [median (interquartile range)] before and after treatments

Treatment*	Before	After	p†
Inulin+SS‡, n = 15	2 (2-3)	1 (1-2)	0.005
SS, n = 15	2 (2-2)	2 (1-2)	0.041
Placebo, n = 14	2 (1-3)	1 (1-2)	0.033

\*Intertreatment analysis (GEE): no statistical difference between groups;  
†Paired Wilcoxon test; ‡Streptococcus salivarius.

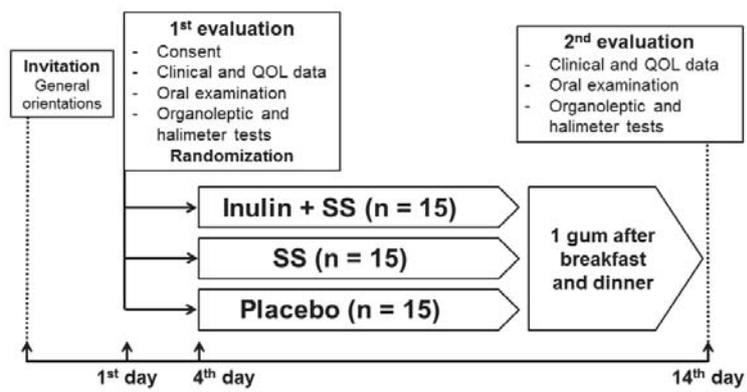
**Table 5.** Quality of life data (mean  $\pm$  standard deviation) before and after treatments

	OHIP-14		WHOQOL-Bref	
	Before	After	Before	After
Inulina+SS*,n=14	8.8 $\pm$ 10.6	5.6 $\pm$ 7.8 <sup>†</sup>	15.6 $\pm$ 2.2	15.9 $\pm$ 1.8
SS, n = 15	5.7 $\pm$ 6.9	4.9 $\pm$ 7.9	15.5 $\pm$ 1.9	15.9 $\pm$ 1.6 <sup>‡</sup>
Placebo, n = 14	6.7 $\pm$ 8.8	6.6 $\pm$ 8.6	15.9 $\pm$ 1.9	16.4 $\pm$ 1.6

\* Streptococcus salivarius; <sup>†</sup>p = 0.036 for OHIP-14 (Wilcoxon paired test); <sup>‡</sup>p = 0.045 for WHOQOL-Bref (paired t test).

## FIGURE LEGENDS

**Figure 1.** Flowchart showing the study phases.



**Figure 2.** Halimeter® test before and after treatments. The group treated with inulin+SS showed a significant reduction in halitosis as compared to both SS group (difference of the means before / after treatment in ppb: 81 vs 72;  $p = 0.049$ ) and placebo (81 vs. 38;  $p = 0.002$ ). There was no significant difference between SS and placebo (72 vs. 38;  $p = 0.108$ ).

