

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN



Efectos clínicos de *Lactobacillus reuteri* en el tratamiento de la gingivitis: Ensayo clínico aleatorizado controlado.

Clinical effect of *Lactobacillus reuteri* in the treatment of gingivitis: a randomized controlled clinical trial.

Joel Bravo¹⁺, Alicia Morales²⁺, Claudia Lefimil³, Carolina Galaz⁴, Jorge Gamonal^{2*}.

1. Departamento de Odontología, Facultad de Medicina y Odontología, Universidad de Antofagasta, Chile.

2. Departamento de Odontología Conservadora, Centro de Epidemiología y Vigilancia de las Enfermedades Orales, Laboratorio de Biología Periodontal, Facultad de Odontología, Universidad de Chile, Chile.

3. Instituto de Investigación en Ciencias Odontológicas, Facultad de Odontología, Universidad de Chile, Chile.

4. Unidad Diagnóstico y Admisión, Facultad de Odontología, Universidad de Chile, Chile.

+ Bravo, J., y Morales, A., son considerados ambos como primeros autores.

* Correspondencia autor: Jorge Gamonal. Sergio Livingstone 943, Comuna de Independencia, Santiago- Chile | Teléfono: 0056-2-9781700 | Email: jgamonal@odontologia.uchile.cl
Trabajo recibido el 16/11/2017. Aprobado para su publicación el 23/02/2018

RESUMEN

Objetivo: Evaluar la eficacia de *L. reuteri* como adjunto en el tratamiento de la gingivitis.

Material y Métodos: Se realizó un ensayo clínico aleatorizado placebo controlado en sujetos con gingivitis durante 3 meses. El grupo test recibió una tableta por día de la cepa probiótica *Lactobacillus reuteri* (dosis 2x10⁸) UFC por día), el grupo control recibió las mismas tabletas pero sin bacterias vivas. La variable de resultado principal fue el índice gingival (IG), y las variables de resultado secundarias fueron el índice de placa (IP) y el índice de sangrado al sondaje (IS). Se realizó comparación intra e inter-grupos en el basal y al finalizar la intervención (3 meses).

Resultados: Fueron incluidos en el análisis un total de 30 sujetos (15 test, 15 control). No hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en el basal (p > 0.05). Después de 3 meses de intervención se produjo en ambos grupos una disminución estadísticamente significativa en el índice gingival, índice de sangrado al sondaje e índice de placa (p < 0.05). Se detectó una significativa reducción en el número de sitios con IG 2 solo en el grupo test (p < 0.05).

Conclusiones: El uso de tabletas de probiótico con *L. reuteri* como adjunto en el tratamiento de la gingivitis, produce una significativa reducción en el número de sitios que presentan inflamación más severa.

PALABRAS CLAVES

Índice gingival, Gingivitis, Lactobacilo reuteri, Probiótico

Rev. Clin. Periodoncia Implantol. Rehabil. Oral Vol. 11(1); 32-35, 2018.

ABSTRACT

Aim: To evaluate the efficacy of *L. reuteri* as adjunct in the treatment of the gingivitis.

Materials and Methods: A placebo-controlled clinical trial was conducted in gingivitis subjects for 3 months. Test treatment consisted of the administration of one tablet per day containing the probiotic strain *Lactobacillus reuteri* (doses 2x10⁸) UFC per day), the control group received the same tablets but without live bacteria. The main outcome variable was the change in gingival index (GI), and the secondary outcome variables were the plaque index (PII) and the bleeding on probing (BoP). Outcome variables were compared between and within groups at baseline and at the end of intervention (3 months).

Results: A total of 30 subjects (15 test, 15 control) were included in the analysis. No statistically significant differences were found between the groups at baseline (p > 0.05). Both treatment groups experienced a statistically significant improvement in the GI, PII and BoP (p < 0.05). There was a significant reduction in the number of sites with GI 2 only in the test group (p < 0.05).

Conclusions: The use of probiotic tablets containing *L. reuteri* produces a significant reduction in the number of sites with severe inflammation.

KEYWORDS

Gingival index, Gingivitis, *Lactobacillus reuteri*, Probiotics.

Rev. Clin. Periodoncia Implantol. Rehabil. Oral Vol. 11(1); 32-35, 2018.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad se reconoce que las enfermedades orales (caries y enfermedades periodontales tales como gingivitis y periodontitis) son una epidemia y uno de los problemas más importantes en la salud pública mundial⁽¹⁾. Para reducir la prevalencia de las enfermedades periodontales, la Federación Europea de Periodoncia propone implementar programas preventivos con acciones específicas de tratamiento que puedan ser desarrolladas en gran escala⁽²⁾. Las medidas preventivas y terapéuticas que permitan facilitar o mejorar el control de la patología periodontal son, por lo tanto, muy importantes, mucho más, si se considera que la gingivitis y la periodontitis forman parte de un mismo proceso inflamatorio que va comprometiendo diferentes estructuras periodontales en el tiempo⁽³⁾. De esta manera, se deben desarrollar actividades de promoción y prevención, además de tratamiento, que permitan el control efectivo de la gingivitis, con acciones dirigidas tanto a la población como hacia los individuos⁽⁴⁾. En este contexto, es que ha emergido el uso de probióticos como una nueva estrategia de tratamiento complementaria al tratamiento convencional de las enfermedades periodontales, los que poseerían propiedades antibacterianas, antiinflamatorias e inmunomoduladoras⁽⁵⁾.

Los probióticos son microorganismos vivos que cuando son administrados en cantidades adecuadas, confieren beneficios para la salud del hospedero⁽⁶⁾. Desde que el año 2013 una revisión sistemática concluyera que más estudios son necesarios para evaluar la eficacia del uso de probióticos adjunto al tratamiento convencional para conseguir la salud periodontal⁽⁷⁾, son diversos los ensayos clínicos que nos muestran que el uso de diferentes cepas de probióticos, con diferentes presentaciones comerciales y diferentes tiempos de administración producen mejoría en las características clínicas de los pacientes con gingivitis⁽⁸⁻¹⁰⁾.

Se propone investigar el uso de la cepa *L. reuteri* (en pastillas), por un tiempo de 3 meses en pacientes con gingivitis, la hipótesis que se plantea es que en los sitios de mayor severidad de la gingivitis tendrán una significativa mejoría del índice gingival al compararlos con sitios de menor severidad.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño del estudio

Este ensayo clínico doble ciego (de diseño paralelo, aleatorizado, enmascarado y con control mediante placebo) comenzó en junio del 2016 y terminó en diciembre del año 2017, fue conducido de acuerdo con la Declaración de Helsinki de 1975, que fue revisada en el 2013. El Comité de Ética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile aprobó el presente trabajo de investigación. Después de explicar a los pacientes los propósitos del estudio, su naturaleza, sus posibles reacciones adversas y sus beneficios, se procedió a la firma de un consentimiento y/o asentimiento informado dependiendo de la edad de los pacientes, es decir mayor o menor de 18 años de edad respectivamente. El estudio fue inscrito en el año 2016, como ensayo clínico con el número NCT02801773, clinicaltrials.gov.

El Universo estuvo formado por pacientes adolescentes y adultos jóvenes que cumplieran con los criterios de inclusión, sin diferencias de género, racial o étnica. Fueron reclutados desde Preuniversitario que se dicta en la Facultad de Odontología y pacientes derivados a la Unidad de Diagnóstico de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile (Santiago, Chile).

Criterios de inclusión

Adolescentes o adultos jóvenes 15 a 28 años de edad con diagnóstico de gingivitis. La gingivitis fue definida como sigue: índice gingival ≥ 1.3 en más del 10% de los sitios examinados⁽¹¹⁾.

Criterios de exclusión

Sin pérdida de inserción interproximal >3 mm en >2 dientes no adyacentes; lesiones de caries y/o restauraciones defectuosas; en tratamiento odontológico o periodontal; en tratamiento con planos de relajación oclusal; presencia de alguna enfermedad o condición sistémica que genere alteraciones a nivel gingival; en tratamiento con antibióticos y/o antiinflamatorios o algún medicamento que interfiera con la respuesta gingival (mínimo 3 meses antes); historia de hipersensibilidad o alergia a cualquier componente utilizado en el estudio.

Cálculo del tamaño de la muestra

El tamaño de la muestra fue calculado considerando una diferencia (d) de 0.5 entre los grupos para cambios en el IG, una desviación estándar (S) de 0.23, un $\alpha = 0.05$ y un poder estadístico $(1 - \beta) = 80\%$, lo que determinó que se necesitaban un mínimo de 15 pacientes por grupo a comparar.

Asignación aleatoria e Intervención

Después del examen inicial, todos los pacientes recibieron tratamiento periodontal de la gingivitis, es decir: educación, instrucción de higiene oral, destartraje supragingival y control (JB). El coordinador del estudio (JG) procedió a realizar la asignación aleatoria de los participantes en los grupos de estudio: grupo control (placebo) y grupo experimental (probiótico). De acuerdo a la edad, género y tabaquismo, los individuos fueron aleatoriamente asignados a cada grupo después del examen inicial, usando una tabla aleatoria generada por computación (JG). Hemos ocultado la asignación aleatoria usando sobres sellados opacos y numerados secuencialmente. Los pacientes del grupo probiótico recibieron *Lactobacillus reuteri* (Biogaia, Estocolmo, Suecia) por 3 meses, con una dosis 2×10^{10} UFC por día. El grupo placebo también recibió una pastilla diaria por 3 meses, con el mismo sabor, textura e idéntica apariencia (Biogaia, Estocolmo, Suecia). Los pacientes iniciaron la ingesta de la pastilla de probiótico o de placebo después de la última sesión de control de tratamiento de la gingivitis. Pacientes, examinador y el dentista que efectuó el tratamiento periodontal desconocían la asignación de los pacientes, excepto el coordinador del estudio (JG). La designación de los diferentes grupos fue conocida una vez terminado el estudio, para efectuar el análisis de los resultados.

Examen clínico

El examen clínico consistió en la medición del índice gingival (IG), índice de placa (IP) e índice de sangrado al sondaje (IS). El examen clínico fue realizado por uno de los investigadores que se encontraba calibrado (AM), usando una sonda periodontal de primera generación UNC-15 (Hu Friedy Mfg. Co. Inc., Chicago, IL, U.S.A.). Los exámenes clínicos fueron realizados al inicio del estudio y una vez terminada la intervención (3 meses).

Variabes de resultado

La variable de resultado principal utilizada fue el índice gingival. Como variable de resultado secundaria se utilizó el índice de placa y el porcentaje de sitios con sangrado al sondaje.

Análisis Estadístico

En el análisis estadístico el paciente fue considerado como unidad de medición. Se utilizó test Shapiro Wilk para evaluar las variables con distribución normal. Las comparaciones inter-grupo fueron analizadas con test U de Mann-Whitey, T de Student y test exacto de Fisher. En las comparaciones intra-grupo se utilizó el test de rangos con signo de Wilcoxon. Los datos cuantitativos fueron registrados como la media \pm desviación estándar. La significancia estadística fue calculada con un $p < 0.05$. Se utilizó software Stata (StataCorp, College Station, TX, U.S.A.).

RESULTADOS

Población de estudio

Se examinó a cincuenta y seis sujetos, ocho de ellos fueron excluidos (cinco no cumplieron con los criterios de inclusión y tres por otras razones) (Figura 1). Treinta pacientes fueron enrolados y aleatorizados, al grupo test (n=15) y al grupo control (n=15). Todos los pacientes completaron el estudio y cumplieron con los requerimientos, no se presentaron efectos adversos.

Las características basales son presentadas en la Tabla 1. El promedio de edad para el grupo test fue de 19.6 ± 2.3 años, y para el grupo control de 19.3 ± 2.5 . La proporción según género masculino/femenino fue de 3/12 para el grupo test y 4/11 para el grupo control. El número de fumadores (≤ 10 cigarrillos por día por ≥ 1 año) fue de 5 para ambos grupos. No hubo diferencias estadísticamente significativas en las características basales entre los grupos ($p > 0.05$).

Tabla 1. Características basales de los sujetos de estudio.

Variable	Grupos en Tratamiento		p- valor
	Test (n=15)	Control (n=15)	
Edad ¹ (media \pm DS) años	19.6 \pm 2.3	19.3 \pm 2.5	0.7077
Género (M/F) ²	3/12	4/11	1.0000
Fumadores ²	5	5	1.0000

DS: Desviación Estándar

¹Test T de Student; ²Test exacto de Fisher's

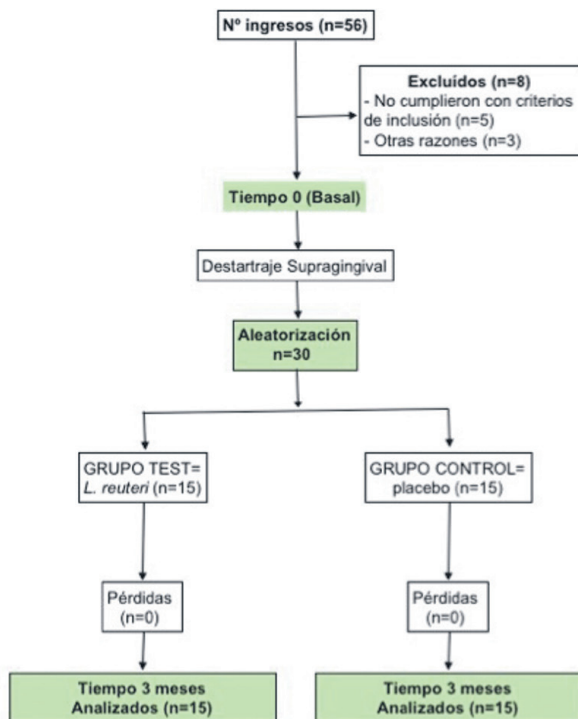


Figura 1. Flujograma de inclusión y seguimiento de pacientes.

Resultados clínicos

Las características clínicas de los 30 sujetos que participaron en el estudio son presentadas en la Tabla 2. Diferencias intra-grupo estadísticamente significativas fueron detectadas en la reducción del IG, IP e IS ($p < 0.05$). No hubo diferencias estadísticamente significativas en el IG, IP e IS a los 3 meses entre los grupos test y control (Tabla 2).

Hubo una significativa reducción en el número de sitios con IG 2 solo en el grupo test ($p < 0.05$) (Tabla 3). En el grupo de pacientes fumadores se produjo una disminución estadísticamente significativa solo en el grupo test (Tabla 4).

Cumplimiento y reacciones adversas

Todos los participantes fueron llamados por teléfono (cada semana), para verificar el cumplimiento en la toma de las pastillas (CG). En cada visita de control y en las llamadas por teléfono, el examinador clínico (AM) o quien era responsable de las llamadas (CG) preguntaba a los pacientes si es que habían experimentado algún cambio en su salud y si es que había algún episodio de reacciones adversas. A los participantes se les entregó un frasco, que contenía los sobres con las pastillas necesarias para un mes de tratamiento, por lo que, debieron asistir en dos ocasiones para su recarga ya sea de probiótico o placebo (primer y segundo mes).

Después del análisis de la toma del probiótico y del placebo que se hizo en los controles y por teléfono podemos señalar que el 100% de los pacientes cumplieron. No hubo reacciones adversas en los adolescentes. Si podemos señalar que el tiempo requerido para que cumplieran con los controles y la toma de los medicamentos es mucho mayor que la necesaria para trabajar con adultos.

DISCUSIÓN

El objetivo del presente ensayo fue evaluar el efecto clínico de *L. reuteri* administrado una vez al día como adjunto al tratamiento convencional en pacientes con gingivitis. Se decidió utilizar *L. reuteri*, debido a que es una de las especies probióticas más ampliamente estudiadas^(8,12-14), se ha mencionado que posee múltiples mecanismos de acción, entre ellos la síntesis y liberación de reuterina, sustancia que posee acción antibacteriana de amplio espectro, contra bacterias Gram-positivas, Gram-negativas, hongos (*Candida albicans*) y protozoos^(15,16), el bloqueo de los sitios de unión de las bacterias patógenas y su inhibición sin alterar la composición de la microbiota comensal⁽¹⁷⁾, la disminución en la producción de TNF- α e IL-8, y el aumento en los niveles de TIMP-1⁽¹⁸⁾.

Los resultados obtenidos permiten afirmar que los parámetros clínicos mejoraron tanto en el grupo experimental, como en el control. El uso adjunto de *L. reuteri* en el tratamiento de gingivitis produjo una disminución estadísticamente significativa del índice gingival en aquellos

Tabla 2. Índice gingival (IG), Índice de Placa (IP) e Índice de sangrado al sondaje (IS) expresados como promedios y desviación estándar (DE). Comparaciones inter-grupos con Test no pareado y Test U de Mann-Whitney. Comparaciones intra-grupos con Test de rangos con signo de Wilcoxon.

Variable	Tiempo	Grupos en Tratamiento		p-valor (inter-grupo)
		Test (n=15)	Control (n=15)	
		Media \pm DS	Media \pm DS	
IG	Basal	2.0 \pm 0.4	1.9 \pm 0.3	0.3359
	Final de la intervención	1.6 \pm 0.4*	1.6 \pm 0.3*	0.9174
	Basal- final de la intervención	-0.3 \pm 0.3	-0.3 \pm 0.2	0.9174
IP	Basal	37.4 \pm 17.6	30.5 \pm 12.2	0.2901
	Final de la intervención	21.7 \pm 10.3*	19.4 \pm 11.5*	0.5806
	Basal- final de la intervención	-13.4 \pm 11.5	-15.7 \pm 10.9	0.2211
IS	Basal	46.5 \pm 23.9	34.8 \pm 13.5	0.1103
	Final de la intervención	24.4 \pm 16.3*	20.9 \pm 11.6*	0.5753
	Basal- final de la intervención	-22.1 \pm 15.3	-13.9 \pm 10.7	0.0929

*Diferencia estadísticamente significativa para las comparaciones intra-grupo, $p < 0.05$.

Tabla 3. Promedios del número de sitios por paciente de acuerdo al Índice gingival (rangos). Comparaciones inter-grupos con Test no pareado y Test U de Mann-Whitney. Comparaciones intra-grupos con Test de rangos con signo de Wilcoxon.

	IG	Basal	Final de la Intervención	p-valor (intra-grupo)
Test (n=15)	0	29.6 (2- 73)	56.3 (4- 82)*	0.0015
	1	49.6 (28- 89)	34.7 (17- 59)*	0.0184
	2	31.2 (5- 73)	19.3 (1- 64)*	0.0105
Control (n=15)	0	32.6 (9- 66)	58.4 (17- 84)*	0.0034
	1	55.2 (28- 79)	35.4 (16- 66)*	0.0054
	2	20.6 (5- 45)	14.7 (1- 30)	0.0500

sitios más severos ($p < 0.05$). Lo anterior, puede ser explicado debido que el efecto de mejoría, es clínicamente mucho más evidente, en los sitios que previamente poseen códigos del índice gingival 2 o 3. Se ha descrito además que si el evento que se reporta más frecuentemente es el código 1, se genera un enmascaramiento del efecto positivo en los sitios con claros signos de inflamación gingival⁽¹⁰⁾.

Nuestros resultados coinciden con lo mostrado por Krasse y Montero. Krasse y col. (2006), realizó su estudio en Suecia en pacientes con gingivitis moderada a severa (índice gingival de 2-3), utilizó *L. reuteri* durante 2 semanas (goma de mascar) y encontró una mejora clínica estadísticamente significativa ($p < 0.05$)⁽⁹⁾. Por otro lado, Montero y col. (2017), realizó un ensayo clínico en el que utilizó como adjunto a la terapia, tabletas (probiotic tablets) que contenían cepas de *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis* y *Pediococcus acidilactici*, demostró que su uso tenía la capacidad de reducir la gingivitis. Cuando evaluó sitios con valores de IG de 3 en el examen inicial, el uso de probióticos adjunto al tratamiento de la gingivitis produjo una significativa mayor reducción⁽¹⁰⁾.

Tabla 4. Hábito Tabáquico. Índice gingival (media), Índice de Placa (IP) e Índice de sangrado al sondaje (IS) se expresan como promedios y desviación estándar (DE). El registro del IG se expresa como promedio del número de sitios por paciente (rango) Comparaciones inter-grupos con Test no pareado y Test U de Mann-Whitney. Comparaciones intra-grupos con Test de rangos con signo de Wilcoxon.

Variable	Tiempo	Grupos en Tratamiento		p-valor (inter-grupo)
		Test (n=5)	Control (n=5)	
		Media ± DS	Media ± DS	
IG (media)	Basal	2.0 ± 0.5	1.8 ± 0.3	0.256
	Final de la intervención	1.5 ± 0.2*	1.5 ± 0.2	0.9168
	Basal-Final de la intervención	-0.5 ± 0.4	-0.2 ± 0.3	0.6015
IG= 0	Basal	30.4 (8-73)	40.2 (9- 66)	0.5296
	Final de la intervención	64.6 (46-75)*	64.8 (44- 80)	0.7540
IG= 1	Basal	47 (30- 63)	52.6 (28- 74)	0.4647
	Final de la intervención	30.6 (29- 32)	31.6 (21- 45)	0.5982
IG= 2	Basal	33 (5- 62)	16 (5- 29)	0.2087
	Final de la intervención	15.2 (1- 36)	12.4 (4- 19)	0.9168
IP	Basal	35.4 ± 14.6	29.6 ± 10.9	0.2506
	Final de la intervención	17.2 ± 7.0*	17.9 ± 9.2	0.7540
	Basal-Final de la intervención	-18.2 ± 11.1	-11.6 ± 12.3	0.6015
IS	Basal	43.8 ± 27.1	33.9 ± 14.3	0.4647
	Final de la intervención	17.4 ± 10.4*	21.6 ± 11.4	0.754
	Basal-Final de la intervención	-26.4 ± 20.3	-12.4 ± 12.3	0.2506

*Diferencia estadísticamente significativa para las comparaciones intra-grupo, $p < 0.05$.

Nuestros resultados no coinciden con lo afirmado por Iniasta y col (2012), quien en un ensayo clínico en pacientes con gingivitis, administró tabletas (1 por día 28 días) con *L. reuteri* y no encontró mejora en los resultados clínicos⁽⁹⁾. Entre los factores que pueden explicar los diferentes resultados, es posible mencionar, el tiempo de uso del probiótico de 28 días a 3 meses, y la forma de entrega del probiótico de tabletas a pastillas. El uso de pastillas lograría mayor tiempo de contacto a nivel local y por lo tanto mayor eficacia.

Diversos estudios muestran que al menos existen 3 mecanismos que explican la acción de *L. reuteri*, uno ellos es debido a la producción de una sustancia antimicrobiana, que se llama reuterina, que inhibe a un amplio espectro de bacterias patogénicas⁽¹⁹⁾; el otro mecanismo tiene que ver con la habilidad demostrada por *L. reuteri* de inhibir la unión de la bacteria patogénica a las células del hospedero; y por último se sugiere que además tiene efectos antiinflamatorios pudiendo disminuir la secreción de algunas citoquinas proinflamatorias⁽¹⁵⁾.

Dentro de las limitaciones que tenemos en la presente investigación, podemos concluir que el uso diario de pastillas de probiótico *L. reuteri* durante 3 meses produce una mejoría en los resultados clínicos de los sitios de mayor severidad en pacientes con gingivitis. Un desafío de futuro trabajo de investigación es desarrollar un protocolo de investigación con un grupo de pacientes con cuadros de mayor severidad de gingivitis.

Bibliografía

- Kassebaum NJ, Bernabé E, Dahiya M, et al. Global burden of severe periodontitis in 1990-2010: a systematic review and meta-regression. *J Dent Res.* 2014;93:1045-1053.
- Tonetti MS, Jepsen S, Jin L, et al. Impact of the global burden of periodontal diseases on health, nutrition and wellbeing of mankind: A call for global action. *J Clin Periodontol.* 2017;44:456-462.
- Sanz M, Bäumer A, Buduneli N, et al. Effect of professional mechanical plaque removal on secondary prevention of periodontitis and the complications of gingival and periodontal preventive measures: consensus report of group 4 of the 11th European Workshop on Periodontology on effective prevention of periodontal and peri-implant diseases. *J Clin Periodontol.* 2015;42(Suppl 16):S214-20.
- Jepsen S, Blanco J, Buchalla W, et al. Prevention and control of dental caries and periodontal diseases at individual and population level: consensus report of group 3 of joint EFP/ORCA workshop on the boundaries between caries and periodontal diseases. *J Clin Periodontol.* 2017;44(Suppl 18):S85-S93.
- Teughels W, Loozen G, Quirynen M. Do probiotics offer opportunities to manipulate the periodontal oral microbiota? *J Clin Periodontol.* 2011;38(Suppl 11):159-177.
- World Health Organization. Health and nutritional properties of probiotics in food including powdered milk with live lactic acid bacteria: a joint FAO/WHO Expert Consultation. Geneva: WHO, 2001.
- Yanine N, Araya I, Brignardello-Petersen R, et al. Effects of probiotics in periodontal diseases: a systematic review. *Clin Oral Invest.* 2013;17:1-8.
- Krasse P, Carlsson B, Dahl C, et al. Decreased gum bleeding and reduced gingivitis by the probiotic *Lactobacillus reuteri*. *Swed Dent J.* 2006;30:55-60.
- Iniasta M, Herrera D, Montero E, et al. Probiotic effects of orally administered *Lactobacillus reuteri*-containing tablets on the subgingival and salivary microbiota in patients with gingivitis. A randomized clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2012;39:736-744.
- Montero E, Iniasta M, Rodrigo M, et al. Clinical and microbiological effects of the adjunctive use of probiotics in the treatment of gingivitis: A randomized controlled clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2017;44:708-716.
- Trombelli L, Tatakis DN, Scapoli C, et al. Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis. II. Identification of "high-responder" and "low-responder" subjects. *J Clin Periodontol.* 2004;31:239-252.
- Vivekananda MR, Vandana KL, Bhat KG. Effect of the probiotic *Lactobacilli reuteri* (Prodentis) in the management of periodontal disease: a preliminary randomized clinical trial. *J Oral Microbiol.* 2010 (in press)
- Teughels W, Durukan A, Ozcelik O, et al. Clinical and microbiological effects of *Lactobacillus reuteri* probiotics in the treatment of chronic periodontitis: a randomized placebo-controlled study. *J Clin Periodontol.* 2013;40:1025-1035.
- Twetman S, Derawi B, Keller M, et al. Short-term effect of chewing gums containing probiotic *Lactobacillus reuteri* on the levels of inflammatory mediators in gingival crevicular fluid. *Acta Odontol Scand.* 2009;67:19-24.
- Ince SE, Versalovic J. Probiotic *Lactobacillus reuteri* biofilms produce antimicrobial and anti-inflammatory factors. *BMC Microbiol.* 2009;9:35.
- Shimauchi H, Mayanagi G, Nakaya S. Improvement of periodontal condition by probiotics with *Lactobacillus salivarius* WB a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Clin Periodontol.* 2008;35:897-905
- Jacobsen CN, Rosenfeldt Nielsen V, Hayford AE, et al. Screening of probiotic activities of forty-seven strains of *Lactobacillus* spp. by in vitro techniques and evaluation of the colonization ability of five selected strains in humans. *Appl Environ Microbiol.* 1999;65:4949-4956.
- Ince G, GURSOY H, İPÇİ ŞD, et al. Clinical and biochemical evaluation of lozenges containing *Lactobacillus reuteri* as an adjunct to non-surgical periodontal therapy in chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2015;86:746-754.
- Tekce M, Ince G, GURSOY H, et al. Clinical and microbiological effects of probiotic lozenges in the treatment of chronic periodontitis: a 1-year follow-up study. *J Clin Periodontol.* 2015;42:363-72.