
Tesis doctoral

Evaluación clínica y microbiológica del efecto del probiótico
Lactobacillus reuteri Prodentis en el tratamiento de la
mucositis y la periimplantitis

Marta Galofré Mercadé



Aquesta tesi doctoral està subjecta a la licència [Reconeixement-NoComercial-SenseObraDerivada 4.0 Internacional \(CC BY-NC-ND 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

Esta tesis doctoral está sujeta a la licencia [Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional \(CC BY-NC-ND 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

This doctoral thesis is licensed under the [Attribution-NonCommercial-NoDerivatives 4.0 International \(CC BY-NC-ND 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/)

EVALUACIÓN CLÍNICA Y MICROBIOLÓGICA
DEL EFECTO DEL PROBIÓTICO
LACTOBACILLUS REUTERI PRODENTIS EN
EL TRATAMIENTO DE LA MUCOSITIS Y LA
PERIIMPLANTITIS.

Departamento de Periodoncia. Facultad de Odontología
Universitat Internacional de Catalunya

TESIS DOCTORAL

Marta Galofré Mercadé

Julio 2017

Directora: Dra. Deborah Violant Holz
Codirectora: Dra. Mónica Vicario Juan

**A mi familia, en especial a mis padres, por su generosidad infinita,
por estar siempre a mi lado, por apoyarme en todo momento,
por darme las herramientas más valiosas para afrontar
la vida y enseñarme a ser quien soy.**

AGRADECIMIENTOS

Quería agradecer a la Dra. Deborah Violant por dirigir este trabajo y a la Dra. Monica Vicario por sus sugerencias y aportaciones en momentos tan difíciles.

A Diana Palao por su empeño y constancia en el desarrollo de esta investigación. A los alumnos y profesores del Máster de Periodoncia de la UIC que cedieron pacientes para que este estudio se pudiera llevar a cabo. A los pacientes que se comprometieron a formar parte de esta investigación y cumplieron con el protocolo. A Sunstar por confiar en este proyecto y facilitarnos todo el material necesario y a Rebeca por su organización en el suministro del mismo. También quería agradecer a Laura Descalzo su profesionalidad y vivacidad en realizar el análisis estadístico.

Al Dr. José Nart por haberme dado la oportunidad de realizar la especialidad de periodoncia e implantes, por su generosidad, exigencia, disciplina y por todos los conocimientos que me ha transmitido.

También quiero dedicar unas breves líneas a la Dra. Rosa Mari Ramon y al Dr. Josep Ma Feliu y a todo el equipo de ambas clínicas por su apoyo constante.

A los amigos que han estado a mi lado durante este recorrido, en especial a Jara, Marta, Agnès, Carme, Nits, Mariona, Ma. Victoria, Cristina, Ernest y Vicente y mi más sincera gratitud a todas las personas que han participado de una manera u otra en esta investigación.

Mi más profundo agradecimiento a mi familia por su apoyo incondicional. A mis padres, Magí y Lúdia por enseñarme a ser constante y perseverante; a mi hermano Carles por sus consejos; a mis abuelos Montserrat y Josep que siempre estarán a mi lado, a mis suegros Francesc y Júlia por creer tanto en mi; a mis cuñadas Eva, Cristina, Alba y Júlia y, por supuesto, a mi marido Cesc por su paciencia, comprensión y estar junto a mi en todo momento.

El verdadero heroísmo está en transformar los deseos en realidades y las ideas en hechos. Alfonso Rodríguez Castela.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

| | |
|---|-------------|
| ABREVIATURAS | XI |
| ÍNDICE DE TABLAS | XIII |
| ÍNDICE DE FIGURAS | XV |
| | |
| 1.- INTRODUCCIÓN | 17 |
| 1.1.- Introducción | 19 |
| 1.2.- Justificación | 22 |
| | |
| 2.- FUNDAMENTOS | 25 |
| 2.1.- Enfermedad periimplantaria | 27 |
| 2.1.1.- Concepto y prevalencia | 27 |
| 2.1.2.- Etiología y factores de riesgo..... | 28 |
| 2.1.3.- Microbiología periimplantaria | 29 |
| 2.1.4.- Diagnóstico | 32 |
| 2.1.5.- Tratamiento..... | 33 |
| 2.2.- Probióticos..... | 34 |
| 2.2.1.- Historia y concepto | 34 |
| 2.2.2.- Mecanismos de acción | 35 |
| 2.2.3.- Efectos sistémicos | 37 |
| 2.2.4.- Efectos en la cavidad oral..... | 37 |
| | |
| 3.- HIPÓTESIS | 49 |
| | |
| 4.- OBJETIVOS | 53 |
| | |
| 5.- MATERIAL Y MÉTODOS | 57 |
| 5.1.- Diseño y población de estudio..... | 59 |
| 5.2.- Tamaño de la muestra..... | 60 |
| 5.3.- Tratamiento | 61 |
| 5.4.- Variables de estudio | 64 |

| | |
|--|------------|
| 6.- RESULTADOS | 73 |
| 6.1.- Sujetos, cumplimiento y efectos adversos | 75 |
| 6.2.- Variables de estudio | 76 |
| 6.2.1.- Parámetros demográficos | 76 |
| 6.2.2.- Eficacia del probiótico sobre los parámetros clínicos | 78 |
| 6.2.3.- Eficacia del probiótico sobre los parámetros microbiológicos | 87 |
| | |
| 7.- DISCUSIÓN | 91 |
| 7.1.- Objetivo 1: Evaluar el efecto del probiótico oral <i>Lactobacillus reuteri</i> Prodentis en los parámetros clínicos. | 94 |
| 7.2.- Objetivo 2: Evaluar el efecto del probiótico oral <i>Lactobacillus reuteri</i> Prodentis en la microflora periimplantaria subgingival de implantes con mucositis o periimplantitis. | 96 |
| 7.3.- Aspectos metodológicos..... | 98 |
| 7.3.1.- Tamaño muestral | 98 |
| 7.3.2.- Población de estudio..... | 99 |
| 7.3.3.- Definición de mucositis y periimplantitis | 100 |
| 7.3.4.- Número de operadores y calibración | 100 |
| 7.3.5.- Cepas del probiótico <i>L. reuteri</i> Prodentis..... | 100 |
| 7.3.6.- Dosis y duración del tratamiento probiótico | 101 |
| 7.3.7.- Tratamiento realizado | 101 |
| 7.3.8.- Evaluaciones clínicas y seguimiento de la muestra..... | 102 |
| 7.3.9.- Parámetros clínicos analizados | 103 |
| 7.3.10.- Tests microbiológicos empleados..... | 104 |
| 7.3.11.- Estandarización de las variables de estudio..... | 105 |
| 7.3.12.- Colonización de <i>L. reuteri</i> a nivel subgingival..... | 105 |
| 7.4.- Limitaciones..... | 106 |
| 7.5.- Futuras directrices | 107 |
| | |
| 8.- CONCLUSIONES | 109 |
| | |
| 9.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 113 |

| | |
|---|------------|
| 10.- ANEXOS | 139 |
| ANEXO 1. Carta de aprobación del CEIC | 141 |
| ANEXO 2. Carta de aceptación del proyecto de la Tesis Doctoral..... | 145 |
| ANEXO 3. Documento de información para el paciente..... | 149 |
| ANEXO 4. Consentimiento informado | 157 |
| | |
| RESUMEN | 161 |

ABREVIATURAS

- **AAP:** The American Academy of Periodontology
- ***A. actinomycetemcomitans:*** *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*
- **ADN:** Ácido desoxirribonucleico
- **BOP:** Sangrado al sondaje
- **BOPI:** Sangrado al sondaje a nivel del implante
- **CFU:** Unidad formadora de colonias
- ***C. rectus:*** *Campylobacter rectus*
- **DE:** Desviación estándar
- ***E. corrodens:*** *Eikenella corrodens*
- **EWP:** European Workshop on Periodontology
- **FGC:** Fluido gingival crevicular
- ***F. nucleatum:*** *Fusobacterium nucleatum*
- **GI:** Ganancia de inserción
- **IG:** Índice gingival
- **IP:** Índice de placa
- **IPI:** Índice de placa a nivel del implante
- **IS:** Índice de sangrado
- ***L. reuteri:*** *Lactobacillus reuteri*
- **PCR:** Reacción en cadena de la polimerasa
- ***P. micros:*** *Peptostreptococcus micros*
- ***P. gingivalis:*** *Porphyromonas gingivalis*
- ***P. intermedia:*** *Prevotella intermedia*
- ***P. nigrescens:*** *Prevotella nigrescens*
- **PS:** Profundidad de sondaje
- **RAR:** Raspado y alisado radicular
- **Real-Time PCR:** Reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real
- **ssp:** Especies
- ***S. mutans:*** *Streptococcus mutans*
- ***T. denticola:*** *Treponema denticola*
- ***T. forsythia:*** *Tannerella forsythia*
- ***V. parvula:*** *Veillonella parvula*
- **X²:** Chi cuadrado

ÍNDICE DE TABLAS

| | | |
|-----------------|--|----|
| Tabla 1. | Estudios clínicos que utilizan diferentes cepas de <i>Lactobacillus reuteri</i> en pacientes sanos, con gingivitis o periodontitis | 46 |
| Tabla 2. | Estudios clínicos que utilizan el <i>Lactobacillus reuteri</i> Prodentis en pacientes con implantes sanos o mucositis | 48 |
| Tabla 3. | Descripción demográfica de la población de estudio al inicio | 77 |
| Tabla 4. | Descripción clínica de la población de estudio al inicio | 78 |
| Tabla 5. | Descripción clínica de las variables de estudio de los implantes con mucositis en los diferentes intervalos de tiempo | 79 |
| Tabla 6. | Descripción clínica de las variables de estudio de los implantes con periimplantitis en los diferentes intervalos de tiempo | 80 |
| Tabla 7. | Descripción microbiológica al inicio del estudio | 87 |
| Tabla 8. | Descripción microbiológica de los implantes con mucositis en los diferentes intervalos de tiempo | 89 |
| Tabla 9. | Descripción microbiológica de los implantes con periimplantitis en los diferentes intervalos de tiempo | 90 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | | |
|-------------------|---|----|
| Figura 1. | Diagrama de los complejos microbianos en el <i>biofilm</i> oral | 30 |
| Figura 2. | Protocolo de tratamiento. | 63 |
| Figura 3. | Periodontograma | 66 |
| Figura 4. | Radiografías periapicales digitales estandarizadas | 67 |
| Figura 5. | Test microbiológico Guidor Perio-Implant Diagnostic Test® | 70 |
| Figura 6. | Diagrama de flujo | 75 |
| Figura 7. | Índice de placa general de los pacientes con mucositis | 81 |
| Figura 8. | Índice de placa general de los pacientes con periimplantitis | 81 |
| Figura 9. | Sangrado al sondaje general de pacientes con mucositis | 82 |
| Figura 10. | Sangrado al sondaje general de pacientes con periimplantitis ... | 82 |
| Figura 11. | Profundidad de sondaje de los implantes con mucositis tras la terapia probiótica o placebo a lo largo del tiempo | 83 |
| Figura 12. | Profundidad de sondaje de los implantes con periimplantitis tras la terapia probiótica o placebo a lo largo del tiempo | 84 |
| Figura 13. | Índice de placa a nivel de los implantes con mucositis | 85 |
| Figura 14. | Índice de placa a nivel de los implantes con periimplantitis | 85 |
| Figura 15. | Sangrado al sondaje a nivel de los implantes con mucositis | 86 |
| Figura 16. | Sangrado al sondaje a nivel de los implantes con periimplantitis | 86 |

1.- INTRODUCCIÓN

1.- INTRODUCCIÓN

1.1.- Introducción

Los implantes dentales se utilizan para reemplazar los dientes perdidos con el objetivo de restaurar la función masticatoria, la estética y la fonética (1). A pesar que la terapia implantológica tiene un elevado índice de éxito y supervivencia, se pueden producir complicaciones biológicas, biomecánicas, iatrogénicas y/o estéticas (2–5). El fracaso de los implantes puede estar asociado al procedimiento quirúrgico, a la contaminación bacteriana, a la sobrecarga funcional, a la restauración protésica y a determinadas condiciones locales o sistémicas que, junto con la respuesta del huésped, pueden influir en la progresión de la enfermedad periimplantaria (6,7).

La presencia de placa bacteriana adherida a la superficie de los implantes puede producir inflamación de la mucosa periimplantaria y, si no es tratada adecuadamente, puede evolucionar a la pérdida del hueso periimplantario (8,9).

La inflamación de la mucosa periimplantaria sin signos de pérdida ósea alrededor de un implante en función se ha definido como mucositis, mientras que la presencia de inflamación con pérdida de hueso marginal periimplantario como periimplantitis (10). La periimplantitis es una de las complicaciones biológicas más comunes y se considera una de las causas principales de fracaso implantológico (6).

El tratamiento de la patología periimplantaria implica el desbridamiento mecánico y la descontaminación de la superficie del implante con el fin de reducir la carga bacteriana. La terapia mecánica no quirúrgica es eficaz en mucositis, y no hay consenso sobre si el uso adjunto de antisépticos locales o antibióticos locales y/o sistémicos mejora los resultados (11–13). Sin embargo, el tratamiento no quirúrgico tiene un efecto limitado y no predecible en periimplantitis y, aunque el uso de antisépticos locales o antibióticos locales y/o sistémicos pueden mejorar la eficacia de la terapia mecánica, no resuelven completamente la lesión periimplantaria (11–15).

El tratamiento quirúrgico de la periimplantitis permite un mejor acceso para la descontaminación de la superficie del implante y, si bien parece mejorar las lesiones periimplantarias, hay evidencia limitada sobre el método de descontaminación más eficaz y sobre el beneficio clínico de las diferentes terapias quirúrgicas (12,16–18).

Debido a la falta de consenso en los protocolos clínicos para el manejo de la enfermedad periimplantaria, se pone de manifiesto la necesidad de investigar nuevas alternativas de tratamiento que prevengan la aparición de las lesiones periimplantarias y terapias eficaces a largo plazo una vez establecida la enfermedad (12), como el uso de un agente que contenga bacterias probióticas que puedan ejercer un papel modulador y protector en la colonización bacteriana patógena responsable de la mucositis y la periimplantitis.

De acuerdo con *Food and Agriculture Organization of the United Nations/World Health Organization* (FAO/WHO) en 2001, los probióticos son “microorganismos vivos que, administrados en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud del huésped” (19). Los beneficios de los probióticos han sido ampliamente estudiados a nivel sistémico y se ha demostrado su efecto positivo en diferentes patologías, tales como determinadas enfermedades gastrointestinales, infecciones urogenitales, etc. (20,21). También se han observado efectos favorables a nivel oral, en la prevención y tratamiento de la enfermedad periodontal (22,23) y periimplantaria (24), la halitosis (25), la caries (26,27) y la candidiasis oral (28,29).

Varios estudios clínicos han demostrado que la administración de probióticos orales, en pacientes con gingivitis o periodontitis, como tratamiento coadyuvante a la terapia mecánica no quirúrgica, mejora los parámetros clínicos, índice de placa, índice gingival, sangrado al sondaje y profundidad de sondaje (22,23,30,31), la concentración de bacterias periodontopatógenas, tales como *A. Actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* y *P. intermedia* (23,32), y los niveles de citoquinas proinflamatorias (30,33). Sin embargo, existe una evidencia controvertida y limitada sobre la eficacia de los probióticos en la enfermedad periimplantaria (24,34,35).

Además, algunos estudios *in vitro* han demostrado el efecto antimicrobiano de determinadas cepas probióticas sobre periodontopatógenos orales como *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* y *P. intermedia*, y su acción puede variar según la dosis (36), la secuencia de inoculación (37) y la cepa del probiótico administrado (36,38).

Teniendo en cuenta que la placa bacteriana es el factor etiológico principal de las enfermedades periodontales y periimplantarias (8,9,39), que los probióticos aportan un beneficio adicional al tratamiento de la gingivitis y la periodontitis (22,23) y que la microbiota es similar entre dientes e implantes tanto en salud como en enfermedad (40–43), sugerimos la introducción de bacterias probióticas, como agentes inhibidores del crecimiento de las bacterias periodontopatógenas en el manejo de la enfermedad periimplantaria, con el fin de obtener una microbiota compatible con salud periimplantaria. La administración de probióticos orales podría ser una herramienta útil, tanto a nivel preventivo como terapéutico, puesto que podría tener un efecto modulador sobre la composición del *biofilm* bacteriano que se adhiere a la superficie de los implantes.

Por este motivo, el objetivo del presente estudio fue evaluar clínica y microbiológicamente el efecto del probiótico oral *Lactobacillus reuteri* Prodentis (PerioBalance®, Sunstar, Suiza) en implantes con mucositis o periimplantitis. La evidencia limitada *in vitro* e *in vivo* sobre el efecto de las bacterias probióticas a nivel periimplantario, crea la necesidad de realizar estudios que aclaren el efecto de los probióticos como tratamiento coadyuvante a la terapia mecánica de la mucositis y la periimplantitis. Este ensayo podría darnos información de la modulación microbiana que genera la presencia de *Lactobacillus reuteri* en la microbiota subgingival, creando una posible vía para la prevención y ofreciendo una alternativa como tratamiento coadyuvante de las enfermedades periimplantarias.

1.2.- Justificación

La necesidad de realizar este estudio se basa en cuatro aspectos fundamentales: la alta prevalencia de la mucositis y la periimplantitis, la falta de consenso en el tratamiento de la periimplantitis, el beneficio que aportan los probióticos en el tratamiento de la enfermedad periodontal y la evidencia limitada del efecto de los probióticos en el tratamiento de la enfermedad periimplantaria.

Alta prevalencia de la mucositis y periimplantitis

La tasa de supervivencia de los implantes es elevada y va disminuyendo a lo largo del tiempo debido a la aparición de complicaciones biológicas y biomecánicas, siendo del 95.4% a los 5 años, del 92.8% a los 10 años (44) y del 82.9% a los 16 años (45). La prevalencia de la mucositis es alta y está presente entre el 19 y el 65% de los pacientes, siendo la media del 42.9% y la prevalencia de la periimplantitis está entre el 1 y el 47% de los pacientes, siendo la media del 21.7% (46).

Falta de consenso del tratamiento de la periimplantitis

Los métodos utilizados tradicionalmente para el manejo de la enfermedad periimplantaria se basan en eliminar el *biofilm* bacteriano mediante el desbridamiento mecánico de la superficie del implante y la administración coadyuvante de agentes químicos (antisépticos locales y antibióticos locales o sistémicos) (11,12,14,15).

El tratamiento mecánico no quirúrgico es eficaz en mucositis, pero no en periimplantitis (11–13) y, por este motivo, se han desarrollado técnicas quirúrgicas para el tratamiento de la periimplantitis, tales como la cirugía de acceso, resectiva o regenerativa, junto con métodos adicionales de descontaminación de la superficie de los implantes (11–13,16,17). Sin embargo, no hay suficiente evidencia científica que describa si hay un método de descontaminación superior a otro y existe falta de consenso en los protocolos del tratamiento quirúrgico de la periimplantitis (12,16,17).

Por todo ello, surge la necesidad de investigar nuevas alternativas de tratamiento que ayuden en la prevención y el tratamiento de la patología periimplantaria.

Antecedentes del tratamiento de la enfermedad periodontal con probióticos

La evidencia científica extraída de una revisión sistemática y dos metaanálisis recientes (27,47,48) expone que la administración de probióticos orales, como agentes coadyuvantes a la terapia mecánica no quirúrgica de la gingivitis y la periodontitis, podría mejorar los parámetros clínicos y microbiológicos, especialmente en periodontitis crónicas y en bolsas periodontales profundas.

Teniendo en cuenta los resultados positivos del uso de probióticos en el tratamiento de la gingivitis y la periodontitis (22,23) y la similitud de la microbiota entre dientes e implantes (40–43), sugerimos el uso del probiótico oral *Lactobacillus reuteri* Prodentis (PerioBalance®, Sunstar, Suiza), como tratamiento coadyuvante a la terapia mecánica de la mucositis y la periimplantitis, con el fin de modular la colonización bacteriana y conseguir una microbiota subgingival compatible con salud periimplantaria.

Antecedentes del tratamiento de la enfermedad periimplantaria con probióticos

Hasta la actualidad, solo se han publicado dos estudios clínicos (24,34) que evalúen el efecto del probiótico oral *Lactobacillus reuteri* a nivel periimplantario. Flichy-Fernández *et al.* (24) demostró que la administración del probiótico, después de una profilaxis supragingival, mejoraba los parámetros clínicos, los niveles de citoquinas proinflamatorias y el volumen del fluido gingival crevicular, tanto en implantes sanos como con mucositis. Por contra, Hallström *et al.* (34) no encontró diferencias estadísticamente significativas entre administrar tratamiento probiótico o placebo tras el desbridamiento mecánico de implantes con mucositis, ni a nivel clínico y microbiológico ni a nivel de los mediadores inflamatorios. Hay un estudio reciente (35) que valoró el efecto del probiótico *L. plantarum* y *L. brevis* en combinación con el tratamiento mecánico y fotodinámico de implantes con mucositis y no observó diferencias clínicas entre el tratamiento probiótico y placebo a lo largo del tiempo.

INTRODUCCIÓN

La falta de evidencia científica y la heterogeneidad de los resultados publicados ponen de manifiesto la necesidad de realizar más estudios que valoren la efectividad del *Lactobacillus reuteri* Prodentis en implantes con mucositis o periimplantitis y así desarrollar nuevos protocolos preventivos y terapéuticos en la enfermedad periimplantaria.

2.- FUNDAMENTOS

2.- FUNDAMENTOS

2.1.- Enfermedad periimplantaria

2.1.1.- Concepto y prevalencia

El tratamiento implantológico se ha convertido en una terapia habitual para la rehabilitación de pacientes parcial o totalmente desdentados (10). A pesar de la elevada tasa de éxito y supervivencia que presentan los implantes dentales, diversos estudios han demostrado que no están exentos de complicaciones (5,44,45). Estas complicaciones pueden ser de origen biológico, biomecánico, iatrogénico o estético (5,6). Dentro de las complicaciones biológicas se distingue el “fracaso implantológico temprano”, que se produce antes de la carga funcional, y el “fracaso implantológico tardío”, que ocurre después de la carga funcional (49). El trauma quirúrgico, la alteración de la cicatrización, la falta de estabilidad primaria, la sobrecarga temprana y la infección parecen ser las causas principales del fracaso de implantes temprano (5,6). Por otro lado, la periimplantitis y la sobrecarga oclusal son los factores etiológicos más importantes del fracaso de implantes tardío, teniendo en cuenta que el diseño del implante, la restauración protésica y los factores relacionados con el huésped también pueden influir en dicho fracaso (5,6).

La enfermedad periodontal (gingivitis y periodontitis) es una condición inflamatoria que afecta a los tejidos que rodean el diente, cuyo factor etiológico principal es la presencia de placa bacteriana en forma de *biofilm* supra y/o subgingival (50). La gingivitis está caracterizada por la existencia de inflamación gingival sin signos de pérdida de soporte periodontal, mientras que la periodontitis es una enfermedad progresiva y destructiva que afecta a los tejidos de soporte de los dientes, produciendo inflamación gingival y pérdida de inserción y de hueso alveolar (51). El proceso inflamatorio que se produce en la enfermedad periodontal se desarrolla de una manera similar alrededor de los tejidos que rodean a los implantes dentales. Así pues, la enfermedad periimplantaria es una lesión inflamatoria que afecta a los tejidos de soporte de los implantes e incluye la mucositis y la periimplantitis. La mucositis se define como la presencia de inflamación en la mucosa periimplantaria sin signos de

pérdida de soporte óseo alrededor de un implante en función, mientras que la periimplantitis, además de la inflamación de la mucosa periimplantaria, presenta pérdida del hueso de soporte después del remodelado óseo biológico inicial (10).

En la literatura se han propuesto diferentes definiciones para mucositis y periimplantitis (10,52–55) y aún no se ha instaurado un consenso en el umbral de los parámetros clínicos y radiográficos a evaluar para establecer el diagnóstico concreto de cada una de estas entidades patológicas (56). Por este motivo, el rango de prevalencia de las enfermedades periimplantarias es amplio, y puede variar según el criterio diagnóstico utilizado para definir y clasificar la mucositis y la periimplantitis. El metaanálisis más reciente que evalúa la prevalencia de las lesiones periimplantarias muestra un rango entre el 19% y el 65% de los pacientes en el caso de la mucositis, y entre el 1% y el 47% en la periimplantitis, estimando una prevalencia media de la mucositis y de la periimplantitis del 42.9% y 21.7%, respectivamente (46).

2.1.2.- Etiología y factores de riesgo

La placa bacteriana es el factor etiológico principal en el desarrollo de la infección periimplantaria (8,9,39) y la respuesta del huésped determinará la progresión de la misma. En consecuencia, hay tres factores que hay que considerar para determinar si la enfermedad periimplantaria se desarrollará en un sujeto: la susceptibilidad del huésped, la presencia de especies periodontopatógenas y la presencia de bacterias beneficiosas.

La adhesión del *biofilm* bacteriano a la superficie del implante produce inicialmente mucositis, desencadenando una respuesta en el huésped similar a la gingivitis (8). Si este *biofilm* persiste en el tiempo puede evolucionar a periimplantitis, siguiendo la misma secuencia de progresión que de gingivitis a periodontitis (57,58). Sin embargo, la disposición paralela de las fibras de colágeno desde la cresta alveolar hasta el margen gingival debido a la ausencia del cemento radicular (59) y la menor vascularización de la mucosa periimplantaria debido a la ausencia del ligamento periodontal (60) hacen que, ante la presencia de placa bacteriana, se produzca una respuesta inflamatoria

más pronunciada y una progresión más rápida en implantes que en dientes (58).

Se han descrito factores de riesgo locales y sistémicos que pueden hacer al huésped más susceptible a desarrollar enfermedad periimplantaria y pueden influir en el mantenimiento a corto y a largo plazo de los tratamientos implantológicos. Entre ellos se destacan el mal control de placa (61), la historia previa de periodontitis (45,62), el tabaco (63), la diabetes mellitus no controlada (61), la susceptibilidad genética (64), el consumo de alcohol (65), la ausencia de mucosa queratinizada (66), las características de la superficie del implante (67,68) y la restauración protésica (presencia de cemento residual, restauración sobrecontorneada, ajuste inadecuado de la prótesis, prótesis no higienizable, sobrecarga oclusal, etc.) (69). La sobrecarga oclusal tiene un papel relevante en la pérdida ósea periimplantaria y existen estudios que demuestran que dicha destrucción puede empezar incluso sin la presencia de placa bacteriana adherida a la superficie del implante (70–73).

Es necesaria una correcta planificación previa a la colocación de los implantes, teniendo en cuenta la cantidad y calidad del hueso receptor, el diseño del implante, la localización y posición del implante, la técnica quirúrgica utilizada, etc, ya que éstos tienen que absorber altas cargas funcionales. Además, es muy importante realizar una prótesis sobreimplante con un diseño que permita una correcta higienización de la misma.

2.1.3.- Microbiología periimplantaria

La cavidad oral puede llegar a albergar multitud de especies bacterianas. Socransky *et al.* (74) clasificó las especies bacterianas que forman la placa dental en complejos microbianos: azul (*Actinomyces* ssp.), amarillo (*Streptococcus* ssp.), verde (*E. corrodens*, *Capnocytophaga* ssp.), lila (*V. parvula* y *Actinomyces odontolyticus*), naranja (*P. micros*, *Eubacterium nodatum*, *Fusobacterium* ssp., *Prevotella* ssp. y *Campylobacter* ssp.) y rojo (*P. gingivalis*, *T. denticola* y *T. forsythia*). Los colonizadores tempranos corresponden a los complejos azul, amarillo, verde y lila, los intermedios al complejo naranja y los tardíos al complejo rojo (74) (véase Figura 1).

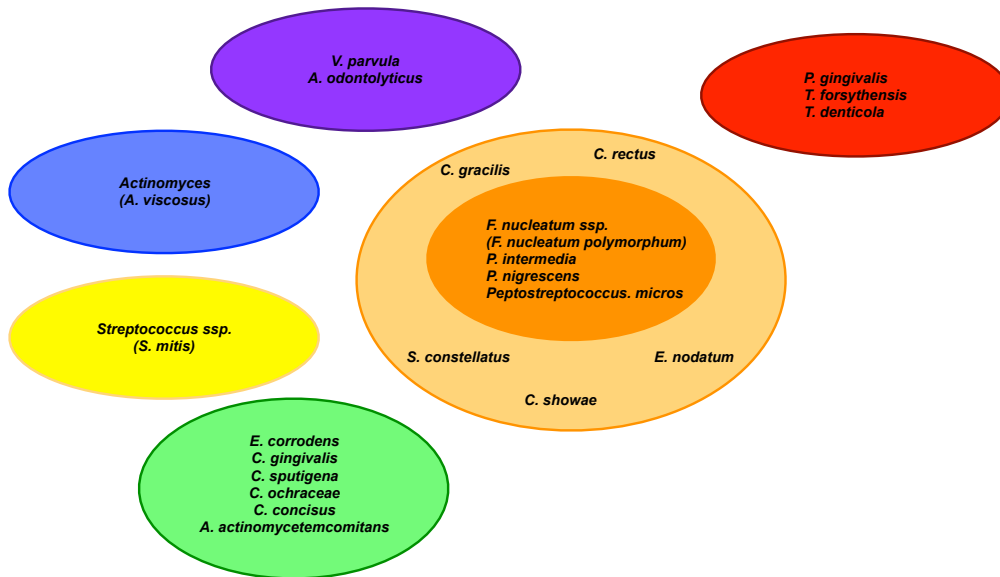


Figura 1. Diagrama de los complejos microbianos en el *biofilm* oral. Los complejos azul, amarillo, verde y lila corresponden a los colonizadores tempranos, el naranja a los intermedios y el rojo a los tardíos.

La mayoría de estudios describen que la composición de la microbiota a nivel subgingival es similar entre dientes e implantes, tanto en condiciones de salud como enfermedad (40,41,43,75). No obstante, se han observado algunas diferencias en la especificidad bacteriana entre dientes e implantes. En la microbiota periimplantaria se han detectado especies bacterianas oportunistas que no encontramos normalmente en la flora periodontal, tales como *Staphylococcus* ssp., *Enterobacteriaceae* ssp., *Pseudomonas* ssp. y *Candida* ssp (42,76).

2.1.3.1.- Microbiota asociada a tejidos periimplantarios sanos

Los estudios microbiológicos han descrito que la composición de la microbiota asociada a la salud periimplantaria está compuesta predominantemente por altas proporciones de cocos y bacilos gram-positivos facultativos, pero también se pueden encontrar bajas proporciones de espiroquetas y bacilos gram-negativos anaeróbicos (77). Tras la exposición de un implante a la cavidad oral se forma la película adquirida, que crea una interfase entre la superficie del implante y los colonizadores iniciales. Se ha observado que la colonización bacteriana ocurre 30 minutos después de la exposición de un implante a la cavidad oral (78) y éstas bacterias crean las condiciones para que se produzca la sucesión bacteriana (74).

2.1.3.2.- Microbiota asociada a enfermedades periimplantarias

La sucesión bacteriana es la adhesión y proliferación secuencial de especies bacterianas pertenecientes a los complejos bacterianos previamente descritos, de manera que se produce un cambio progresivo en la microbiota subgingival periimplantaria, pasando de bacterias aeróbicas gram-positivas a anaeróbicas gram-negativas (79).

La composición de la microbiota asociada a la mucositis es difícil de describir debido a la escasez de literatura, pero muestra un descenso en la proporción de cocos y bacilos gram positivos y un aumento en la proporción de espiroquetas y bacilos gram-negativos anaeróbicos (80,81). Hay un estudio (81) que demuestra que los implantes con mucositis presentan bacterias del complejo rojo, *P. gingivalis*, *T. denticola* y *T. forsythia*, y que la proporción de éstas aumenta con la severidad de la enfermedad. Además, otro estudio (80) mostró una mayor proporción de las bacterias del complejo rojo en mucositis (11%) que en implantes sanos (1%), siendo más elevada en implantes con periimplantitis (25%).

La composición de la microbiota asociada a periimplantitis está formada por elevadas proporciones de bacilos gram-negativos anaeróbicos y espiroquetas (79). En la mayoría de los casos la composición del *biofilm* en la periimplantitis es similar a la periodontitis, predominando las bacterias del complejo rojo (*P. gingivalis*, *T. denticola*, *T. forsythia*) y naranja (*P. nigrescens*, *C. rectus* y *Fusobacterium* ssp.) (42,77). Los patógenos del complejo rojo han sido descritos como los más agresivos y están fuertemente relacionados con la destrucción ósea (74,82). También se ha observado la presencia de *A. actinomycetemcomitans* y *E. corrodens* como microbiota asociada a la periimplantitis (83,84). Además, se han detectado especies bacterianas no vinculadas a la periodontitis, tales como *Staphylococcus* ssp., *Enterobacteriaceae* ssp., *Pseudomonas* ssp. y *Candida* ssp (42,76).

2.1.4.- Diagnóstico

El diagnóstico de las enfermedades periimplantarias es fundamentalmente clínico y radiológico y se puede complementar con tests microbiológicos y análisis del fluido crevicular periimplantario (85).

El sondaje periimplantario, utilizando una fuerza ligera de 0.2-0.3N, es una herramienta esencial para evaluar la profundidad de sondaje y la presencia de sangrado al sondaje y/o supuración (86). Después de la conexión protésica definitiva se debe valorar y establecer el sondaje periimplantario de referencia, el cual debe ser monitorizado a lo largo del tiempo (54) porque un aumento de la profundidad de sondaje está asociado con pérdida de inserción y de hueso alrededor del implante (9,39). Además, la presencia de sangrado al sondaje es un predictor clínico de progresión de la enfermedad periimplantaria (87) y la ausencia de sangrado al sondaje en pacientes no fumadores es un indicador de estabilidad periimplantaria (88).

Para evaluar el patrón y extensión de la pérdida ósea marginal periimplantaria es necesario la realización de pruebas radiográficas. El nivel óseo se debe registrar mediante una radiografía periapical en el momento de la colocación de la prótesis definitiva, para así poder monitorizarlo a lo largo del tiempo (54,85,89). En este contexto, es importante distinguir entre el remodelado óseo inicial que se produce durante la formación del espacio biológico y la pérdida ósea que se puede producir después de la conexión protésica definitiva.

El análisis de la microbiota subgingival y de los marcadores bioquímicos secretados a nivel del fluido crevicular periimplantario, como las citoquinas, las enzimas y las proteasas, pueden ser utilizados como marcadores diagnósticos para monitorizar la salud periimplantaria (85).

Existen diferentes tipos de tests microbiológicos y la mayoría sólo detectan la presencia de las bacterias más frecuentemente asociadas con la periodontitis y la periimplantitis, *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. forsythia* y *T. denticola*. Sin embargo, el test utilizado en este estudio, Guidor Perio-Implant Diagnostic Test® (Sunstar S.A, Suiza), identifica y cuantifica el número total de las siguientes especies bacterianas, *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia*, *P.*

gingivalis, *T. denticola*, *P. intermedia*, *P. micros*, *F. nucleatum*, *C. rectus* y *E. corrodens*. La cuantificación de la carga bacteriana total se realiza mediante la reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real (Real-Time PCR), utilizando sondas sintéticas específicas del gen 16S del ácido ribonucleico ribosómico (ARNr) de las bacterias, lo que hace que sea una técnica muy sensible y altamente específica para especies bacterianas individuales.

2.1.5.- Tratamiento

En el tratamiento de las enfermedades periimplantarias es imprescindible el desbridamiento mecánico y la descontaminación de la superficie de los implantes. Se han propuesto terapias coadyuvantes, como los antibióticos y los antisépticos, para mejorar la eficacia del desbridamiento mecánico en la reducción de la carga bacteriana a un nivel compatible con la salud periimplantaria (12).

La terapia mecánica no quirúrgica es eficaz en mucositis y no está claro si el uso adjunto de antisépticos locales o antibióticos locales y/o sistémicos mejora los resultados (11–13). Sin embargo, la terapia no quirúrgica tiene una eficacia limitada e impredecible en periimplantitis (11–13) y el uso adjunto de antisépticos o antibióticos locales y/o sistémicos pueden mejorar los parámetros clínicos pero no resuelven totalmente la lesión periimplantaria (11–13).

La terapia quirúrgica de la periimplantitis permite un mejor acceso a la superficie del implante para una adecuada descontaminación de la misma (52). Existen diferentes técnicas quirúrgicas para el tratamiento de la periimplantitis, tales como la cirugía de acceso, resectiva o regenerativa, y distintos métodos de descontaminación de la superficie de los implantes (11–13,16,17), pero no hay un método de descontaminación superior a otro (12,17).

Existe falta de consenso en los protocolos del tratamiento quirúrgico de la periimplantitis y hay evidencia limitada entre si es mejor realizar tratamiento quirúrgico regenerativo o no regenerativo (18). El tratamiento quirúrgico no regenerativo, que incluye la cirugía de acceso o el colgajo apicalmente posicionado con cirugía ósea y con o sin implantoplastia, se realiza cuando

existen defectos supraóseos o infraóseos no candidatos a regenerar. Estudios recientes demuestran que el tratamiento quirúrgico no regenerativo, aunque tiene una eficacia limitada y es impredecible, si se realiza junto con la implantoplastia o el uso adjunto de antibióticos sistémicos, disminuye la inflamación de la mucosa periimplantaria y la profundidad de sondaje y, por consiguiente, puede frenar la progresión de la periimplantitis (16). Por otro lado, la terapia quirúrgica regenerativa se realiza con el fin de reconstruir los defectos infraóseos periimplantarios, siendo recomendable realizar la implantoplastia del componente supraóseo (90,91). El tratamiento quirúrgico regenerativo es una terapia que mejora de manera predecible los parámetros clínicos y radiográficos de los implantes con periimplantitis (18) y el grado de regeneración periimplantaria conseguido variará según la selección del defecto, el uso y tipo de injerto óseo o membrana, los factores locales y sistémicos del paciente, etc (17). No obstante, no se han observado diferencias entre utilizar un injerto óseo con o sin membrana o sumergir o no los implantes durante el período de cicatrización (18).

El objetivo principal del tratamiento de la mucositis y la periimplantitis es reducir la colonización bacteriana de la superficie del implante. Sin embargo, también deberíamos añadir como objetivo conseguir una ecología que suprima la flora anaeróbica subgingival. Por este motivo, surge la necesidad de investigar nuevas alternativas de tratamiento que ayuden en la prevención y el tratamiento de la patología periimplantaria.

2.2.- Probióticos

2.2.1.- Historia y concepto

El término "probiótico" proviene del griego y significa "pro vida", es decir, que favorece la vida. Como un antónimo del término "antibiótico", fue introducido por primera vez por Lilly y Stillwell en 1965 como un "factor de origen microbiológico que estimula el crecimiento de otros organismos" (92). Sin embargo, el uso de microorganismos para promover la salud ha sido utilizado desde la antigüedad. La literatura clásica romana explicaba cómo la comida fermentada con microorganismos se utilizaba como un agente terapéutico (93).

Desde 1965, se han propuesto varias definiciones para los probióticos (94–96). En 1989, Roy Fuller añadió a la definición de los probióticos que, además de estimular el crecimiento de otras bacterias, éstos eran beneficiosos para la salud del huésped (95). La definición actual de los probióticos es la consensuada por la Organización Mundial de la Salud en 2001 como “microorganismos vivos que, administrados en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud del huésped” (19). No obstante, esta definición seguirá evolucionando a medida que aprendamos más acerca de las acciones de los probióticos y sus interacciones con el huésped.

Los probióticos deben ser seguros, libres de efectos adversos, resistentes a la secreción gástrica y/o biliar, capaces de adherirse a las células epiteliales, tener actividad antimicrobiana, proceder de cepas humanas aisladas de humanos sanos y contener un número adecuado de cepas viables que permanezcan estables durante la vida útil del producto (97).

Los probióticos más comúnmente utilizados son las especies de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* (21,98). En el presente estudio, se utilizó una combinación de dos cepas de *Lactobacillus reuteri* (1×10^8 células vivas de DSM 17938 y 1×10^8 de ATCCPTA 5289).

2.2.2.- Mecanismos de acción

Los probióticos son microorganismos vivos no patógenos (levaduras y/o bacterias) que aportan un beneficio a la salud del huésped a través de tres mecanismos de acción: estimulando los sistemas inmunitarios innato y adquirido, inhibiendo los agentes patógenos y favoreciendo la proliferación de la microbiota beneficiosa (21,99).

Modulación de la respuesta inmunitaria innata y adquirida del huésped.

Las bacterias beneficiosas pueden modular el sistema inmune y producir una acción anti-inflamatoria. Por un lado, la modulación del sistema inmunológico innato se produce porque los probióticos favorecen la fagocitosis de los patógenos, a través del aumento de la capacidad fagocítica de los macrófagos (100) y de la estimulación de la expresión de los receptores de la fagocitosis de

los neutrófilos (101), y modifican la producción de citoquinas que, a su vez, éstas pueden ser las responsables de mejorar la actividad de las células nulas (102). Por otro lado, la modulación del sistema inmunológico adquirido se produce debido a que los probióticos estimulan la producción de anticuerpos. La literatura reporta que las bacterias probióticas o sus productos (metabolitos, componentes de la pared celular y ADN) pueden ser reconocidos por las células epiteliales e inmunológicas del huésped (103).

Inhibición de los agentes patógenos y proliferación de la microbiota beneficiosa

Los probióticos tienen la capacidad de inhibir a los agentes patógenos y favorecer la proliferación de la flora beneficiosa a través de dos mecanismos de acción: produciendo sustancias antimicrobianas y compitiendo por el mismo hábitat y nutrientes esenciales.

Las bacterias probióticas secretan compuestos que actúan como agentes antimicrobianos, tales como el ácido láctico, el peróxido de hidrógeno y las bacteriocinas (104). Estos agentes antimicrobianos pueden inhibir el crecimiento de las bacterias periodontopatogénicas a través de diferentes vías (105,106). Por ejemplo, los ácidos grasos de cadena corta, tales como el ácido láctico, pueden traspasar la membrana de la célula bacteriana, acidificar el citoplasma e inhibir la proliferación bacteriana (106).

El principio de exclusión competitiva, también conocido como la Ley de Gause, soporta que dos especies que compiten por los mismos recursos no pueden coexistir de forma estable si los demás factores ecológicos permanecen constantes. Así pues, un competidor dominará al otro, produciendo la extinción del segundo competidor o llevándolo a cambiar de nicho. Cabe destacar que las bacterias beneficiosas utilizan este mecanismo de exclusión competitiva de dos maneras. Por un lado, los probióticos pueden obstaculizar la adhesión de los patógenos de forma pasiva ocupando un nicho o de forma activa limitando su capacidad de adhesión, por ejemplo, a través de la liberación de biosurfactantes (107). Por otro lado, las bacterias probióticas pueden competir con las patógenas porque necesitan los mismos nutrientes o productos

químicos para su crecimiento, y así limitan el desarrollo de una especie bacteriana determinada (108).

2.2.3.- Efectos sistémicos

Existen numerosos estudios que describen el uso de los probióticos en varios campos de la medicina. Los probióticos han sido tradicionalmente aplicados a nivel gastrointestinal y se ha observado su efecto beneficioso en la prevención y tratamiento de la enterocolitis necrotizante (109–112), las diarreas asociadas a antibióticos (113–115) o a quimioterapia (116), las diarreas infecciosas (117,118), la erradicación de la *Helicobacter pylori* (119–122), el síndrome del colon irritable (123), la enfermedad de Crohn y la colitis ulcerosa (124).

También existen estudios en otras áreas médicas que avalan el uso de los probióticos en la prevención y tratamiento de infecciones respiratorias (125–127), reacciones alérgicas y enfermedades dermatológicas (128,129). Además, se están estudiando futuras aplicaciones en enfermedades autoinmunes, como la artritis reumatoide (130,131), el cáncer (132), las enfermedades hepáticas (133,134) y las infecciones urogenitales (135,136).

2.2.4.- Efectos en la cavidad oral

El estudio de los probióticos a nivel de la salud general se ha extrapolado a la salud oral porque la cavidad oral no es un compartimento aislado, sino que forma parte del sistema digestivo y además comunica con el resto del cuerpo a través de diferentes estructuras anatómicas, tales como el sistema respiratorio y circulatorio, donde se ha demostrado que el uso de los probióticos es beneficioso (99). La cavidad oral es un ecosistema complejo donde hay una gran diversidad de especies bacterianas, con diferentes necesidades nutricionales, atmosféricas y fisicoquímicas, y un pH muy variable. Por tanto, las bacterias probióticas orales deben tener la capacidad de adherirse a los tejidos orales, colonizar, formar parte del *biofilm* oral, competir con otras bacterias por los mismos nutrientes o hábitat, ocupando el espacio de los patógenos y previniendo su crecimiento, y producir sustancias antimicrobianas. Además, no deben fermentar azúcares para no disminuir el pH de la cavidad oral y, consecuentemente, aumentar el riesgo de caries (137,138).

2.2.4.1.- Probióticos y Halitosis

En el 90% de los casos la halitosis es de origen intraoral, debido a bacterias que residen principalmente en el dorso de la lengua y en las bolsas periodontales, y en el 10% restante la causa es extraoral, de origen respiratorio, digestivo, etc (139,140).

La principal fuente de halitosis intraoral es la lengua porque la carga bacteriana lingual es más alta que la carga bacteriana de las bolsas periodontales. Esto es debido a que el área de la superficie lingual es mayor y, por tanto, puede retener más bacterias, y a que éstas tienen mayor disponibilidad de nutrientes para degradar a moléculas malolientes. Además, hay que tener en cuenta que la cantidad de bacterias presentes en la lengua es más elevada en pacientes con periodontitis que en sanos (139).

Las bacterias anaerobias gram-negativas son las principales responsables de la halitosis. Durante el proceso de putrefacción bacteriana, los péptidos y proteínas presentes en la saliva, los restos de comida, el fluido crevicular gingival, la placa interdental, las células epiteliales desprendidas, etc. se hidrolizan en aminoácidos que pueden contener sulfuro o no. La degradación proteolítica de los aminoácidos que contienen sulfuro (cisteína, cistina y metionina), por bacterias gram-negativas, producen compuestos de azufre volátiles, tales como el sulfato de hidrógeno, el metil-mercaptano y el dimetil-sulfuro, que darán origen al mal olor (141).

El tratamiento de la halitosis de origen intraoral incluye el tratamiento de la enfermedad periodontal y de las caries, instrucciones de higiene oral, cepillado lingual, enjuagues antimicrobianos y modificación de la dieta con el fin de disminuir la flora proteolítica y anaeróbica (142). Se ha sugerido otra vía de tratamiento de la halitosis que es la colonización preventiva de la cavidad oral con bacterias beneficiosas, ya que los probióticos pueden reemplazar las bacterias implicadas en la halitosis (143) o inhibir su crecimiento secretando agentes antimicrobianos como el peróxido de hidrógeno (144), bacteriocinas, etc. y, por tanto, tener una aplicación potencial como agentes coadyuvantes, tanto para el tratamiento como para la prevención de la halitosis (25,143,145).

2.2.4.2.- Probióticos y Candidiasis

La candidiasis oral es la micosis mucocutánea más frecuente de la faringe y la cavidad oral. Se produce por el género *Candida*, que se encuentra en el 63% de la población general como un organismo comensal común (146). La transformación de organismo comensal a patógeno se origina por la influencia de factores predisponentes del huésped y factores modificadores del medio ambiente de la cavidad oral. Estos factores incluyen la disfunción endocrina, depresión de la médula ósea, inmunodeficiencia, enfermedades malignas, deficiencias nutricionales, radioterapia, prótesis desajustadas, xerostomía y fármacos como los antibióticos, corticoesteroides, antidepresivos, inmunosupresores, etc. (147).

Hasta la actualidad, los agentes quimioterapéuticos, tales como los azoles o la nistatina, se han utilizado como tratamiento antifúngico debido a su efecto beneficioso en la reducción de las infecciones invasivas por cándidas (148,149). Sin embargo, los hongos han desarrollado sofisticados mecanismos de resistencia, creando la necesidad de buscar tratamientos alternativos para el control de la candidiasis oral, como el uso de probióticos (150).

Los probióticos utilizan diferentes mecanismos de acción contra las cándidas, tales como competir por el mismo nicho y nutrientes y alterar su adhesión (151), producir compuestos antimicrobianos como el peróxido de hidrógeno o el ácido láctico (152) y/o modular la respuesta inmunológica innata y adaptativa, estimulando la fagocitosis, promoviendo la producción de citoquinas e induciendo la secreción de anticuerpos como la inmunoglobulina A (153,154)

Estudios *in vitro* y experimentales han demostrado que los probióticos pueden inhibir la adhesión, modular la colonización y el crecimiento de *Candida albicans* en el medio oral y, por tanto, impedir la formación de *biofilms* (155–157). Además, los estudios clínicos, aunque presentan un diseño heterogéneo y de corto tiempo de seguimiento, indican el uso de probióticos para controlar la concentración de cándidas en la cavidad oral y así prevenir la aparición de candidiasis oral y mejorar las condiciones clínicas una vez establecida (28,29).

2.2.4.3.- Probióticos y caries

La caries dental es una de las patologías prevenibles más comunes en humanos (158). La última encuesta de salud bucal realizada en España en 2015 muestra que la prevalencia de la caries dental aumenta con la edad, siendo del 31.5% en dentición temporal a los 5-6 años, del 33.3% en dentición permanente a los 12 años, del 43.2% a los 15 años, del 95% entre los 35 y 44 años y alcanzando el 99.5% a partir de los 65 años (159).

La caries dental es una enfermedad multifactorial causada por la interacción entre las bacterias cariogénicas adheridas a las superficies dentales (principalmente *S. mutans* y *Lactobacillus*), una dieta rica en hidratos de carbono y otros factores del huésped, como la tasa de secreción de la saliva y su capacidad neutralizadora (160). La patogénesis de la caries se caracteriza por un desequilibrio en el medio oral derivado del metabolismo de los azúcares por parte de las bacterias, las cuales producen ácidos que originarán una desmineralización del esmalte dental, conduciendo al desarrollo de la lesión de caries (161).

Para prevenir la aparición de caries debemos eliminar el *biofilm* y actuar a nivel de los factores del huésped y los factores dietéticos. Estos incluyen el control mecánico y químico de la placa dental, el uso de fluoruros tópicos y la supervisión dietética (162). Asimismo, para superar las limitaciones del tratamiento convencional, se ha sugerido el uso de los probióticos con el fin de interferir en la colonización oral de los patógenos cariogénicos y de disminuir el riesgo de aparición de caries (26,163,164).

Los mecanismos de acción de los probióticos para prevenir la aparición de caries son poco conocidos. Se ha descrito su capacidad para competir con otros patógenos por los nutrientes y por la adhesión a la superficie dental, coagregando con otras bacterias para desarrollar un *biofilm*, y así tener un efecto beneficioso en la prevención de la caries dental (165–167). Además, los probióticos pueden antagonizar las bacterias cariogénicas, evitar su proliferación, produciendo sustancias como la bacteriocina, y modular la respuesta inmunológica e inflamatoria del huésped (166).

Es muy importante que los probióticos tengan la capacidad de neutralizar un medio ácido y que cuando metabolicen los azúcares procedentes de los alimentos produzcan una mínima cantidad de ácido (166).

Se han desarrollado estudios *in vitro* para evaluar cómo se adhieren los probióticos a las superficies dentales e interactúan con las bacterias cariogénicas (especialmente *S. mutans*) y valorar los factores que pueden modular su actividad. Aunque la terapia con probióticos puede variar entre individuos y dependerá de la cepa utilizada y de ciertas condiciones ambientales (tiempo, concentración de células, pH, presencia de calcio, etc), los resultados indican que las bacterias probióticas pueden sobrevivir y crecer en la saliva afectando la ecología oral, previniendo la adhesión y el crecimiento de otras bacterias (167–172).

Estudios clínicos en humanos han evaluado el efecto de diferentes cepas de probióticos, *Lactobacillus* ssp y *Bifidobacterium* ssp, en la caries dental y han demostrado que, aunque reducen la cantidad de bacterias cariogénicas, concretamente *S. mutans*, la evidencia es limitada a la hora de recomendar probióticos orales para disminuir el riesgo de caries (26,27). Desde el punto de vista de tratamiento, se ha demostrado que los probióticos tienen la capacidad de remineralizar una lesión de caries incipiente (173). Sin embargo, la literatura es muy heterogénea en cuanto a la metodología, cepas probióticas, vías de administración y dosificación utilizada.

2.2.4.4.- Probióticos y enfermedad periodontal

La enfermedad periodontal es una condición inflamatoria que afecta a los tejidos de soporte del diente. La última encuesta sobre salud bucal, realizada en España en 2015, muestra que la prevalencia de la gingivitis es del 51.9-56.6% y de la periodontitis del 24-37% de los adultos mayores de 35 y 65 años respectivamente, siendo avanzada en el 5.5-10% de la población. Cabe destacar que el 19.4% de los adultos mayores de 35 años y el 11.1% de los adultos mayores de 65 años tienen las encías sanas (159).

La enfermedad periodontal engloba dos entidades patológicas, la gingivitis y la periodontitis. La gingivitis está caracterizada por la inflamación limitada en la encía sin signos de pérdida de soporte periodontal, mientras que la periodontitis es una enfermedad que, además de la inflamación gingival, presenta destrucción de los tejidos de soporte de los dientes incluyendo el hueso alveolar (51).

El factor etiológico principal para el desarrollo de la enfermedad periodontal es la presencia de placa bacteriana (50), pero la influencia de factores genéticos, ambientales y sistémicos determinarán el desarrollo y la progresión de la misma. Los principales agentes periodontopatógenos asociados a la periodontitis son *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *T. denticola* y *T. forsythia* (82). Estas bacterias tienen una amplia variedad de capacidades virulentas que les permite colonizar los tejidos subgingivales y causar daños tisulares (74). Por estas razones, los esfuerzos para la prevención y tratamiento de la enfermedad periodontal se centran principalmente en la reducción de los periodontopatógenos, contribuyendo así a la disminución de la susceptibilidad a la infección.

El tratamiento periodontal convencional implica el desbridamiento mecánico supra y subgingival para reducir la carga bacteriana total y mejorar los parámetros clínicos (174,175). Dado que los principales patógenos periodontales pueden escapar del tratamiento, debido a limitaciones anatómicas y/o de la terapia convencional (176,177), el desbridamiento mecánico necesita ser combinado con agentes antimicrobianos (antisépticos y antibióticos) (178,179) y/o cirugía periodontal (180,181). Sin embargo, si el paciente no tiene un óptimo control de placa, la recolonización bacteriana y el restablecimiento de la microbiota subgingival patógena se producirá a los dos meses (182,183).

El crecimiento exponencial de la resistencia a los antibióticos y la posible sustitución de bacterias periodontopatógenas por bacterias beneficiosas, favorece el desarrollo de enfoques alternativos para el tratamiento de la enfermedad periodontal.

Algunos estudios *in vitro* han demostrado el efecto antimicrobiano de determinadas cepas probióticas sobre los principales periodontopatógenos orales asociados a la periodontitis y su acción puede variar según la dosis (36), la secuencia de inoculación (37) y la cepa del probiótico administrado (36,38).

Varios estudios clínicos han evaluado el efecto de diferentes cepas de probióticos en los parámetros clínicos y microbiológicos de pacientes con gingivitis y periodontitis (22,23,31–33,138,184,185). A pesar de la heterogeneidad metodológica observada entre estudios, a nivel de la población incluida, los parámetros clínicos y microbiológicos evaluados, las cepas probióticas utilizadas, el tiempo de administración de los probióticos, etc., la mayoría de las investigaciones muestran que el uso de probióticos, como tratamiento coadyuvante a la terapia mecánica no quirúrgica, proporcionan una mejora adicional a la terapia no quirúrgica sola (27,48). Éste beneficio añadido se observa a nivel de la reducción del índice de placa, índice gingival, sangrado al sondaje y profundidad de sondaje (22,23,30,31,186), la concentración de periodontopatógenos, tales como *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* y *P. intermedia* (23,32,187) y los niveles de citoquinas proinflamatorias (30,33).

La mayoría de los estudios clínicos utilizan el probiótico *Lactobacillus reuteri* como tratamiento coadyuvante a la terapia mecánica no quirúrgica de la enfermedad periodontal (véase Tabla 1) e incluso hay un metaanálisis reciente (47) que se realizó a partir de tres estudios y todos utilizaron éste probiótico. El *Lactobacillus reuteri* es una bacteria gram-positiva heterofermentativa que, además de ser capaz de adherirse, colonizar los tejidos periodontales y formar *biofilms* (188), secreta una gran variedad de compuestos, tales como la reuterina, la reutericina y la reuter ciclina, que tienen efectos inhibitorios y antimicrobianos contra un amplio espectro de microorganismos, incluyendo bacterias gram-positivas, gram-negativas, hongos y protozoos (189–191). Así pues, tiene la capacidad de inhibir de forma selectiva las principales bacterias asociadas a la periodontitis y restablecer el equilibrio de la microflora periodontal (23,32,186,187), además de regular el sistema inmunitario, disminuyendo los niveles de las citoquinas proinflamatorias IL-1 β , IL-8, IL-17 y TNF- α (30,33).

| AUTOR | PACIENTES | EVALUACIÓN | DOSIS | RESULTADOS |
|----------------------------|---|--|---------------------------------|---|
| Tekce et al. 2015 | 40 pacientes no fumadores con periodontitis crónica moderada recibieron RAR y probiótico o placebo. | Clínica y microbiológica (cultivo) a 0, 21, 90, 180 y 360 días. | 2 compr. al día durante 3 sem. | RAR + probiótico: beneficio adicional en la reducción de IP, IG y PS que RAR sólo hasta 360 días. Recuento total CFU y anaerobios estrictos disminuyó hasta 180 días y se restableció a valores iniciales a los 360 días. |
| Ince et al. 2015 | 30 pacientes no fumadores con periodontitis crónica moderada recibieron RAR y probiótico o placebo. | Clínica y FGC a 0, 21, 90, 180 y 360 días. | 2 compr. al día durante 3 sem. | RAR + probiótico: beneficio adicional en GI y reducción de IP, IG, BOP y PS hasta los 360 días versus RAR sólo. |
| Szkaradkiewicz et al. 2014 | 38 pacientes no fumadores con periodontitis crónica moderada recibieron RAR y dos semanas después probiótico (n=24) o placebo (n=14). | Clínica y FGC a 0, 2 (inicio del probiótico/ placebo) y 4 semanas. | 2 compr. al día durante 2 sem. | RAR + probiótico: más mejoría de los parámetros clínicos, BOP, PS, GI que RAR sólo. |
| Hallström et al. 2013 | 18 mujeres adultas, no fumadoras y sin enfermedad periodontal. Se desarrolló una gingivitis experimental durante 3 semanas. | Clínica, FGC y microbiológica (hibridación checkerboard ADN-ADN) a 0 y 21 días | 2 compr. al día durante 3 sem. | El uso de probiótico durante la gingivitis experimental no afectó significativamente al acúmulo de placa, la reacción inflamatoria y la composición de la microbiota supragingival. |
| Teughels et al. 2013 | 30 pacientes no fumadores con periodontitis crónica recibieron RAR a boca completa y placebo (n=15) o probiótico (n=15). | Clínica y microbiológica (Real-Time PCR) a 0, 3, 6, 9 y 12 semanas. | 2 compr. al día durante 12 sem. | A las 12 semanas se redujeron los parámetros clínicos en ambos grupos. RAR + probiótico: mayor disminución de PS y GI en PS ≥ 5mm y reducción adicional de <i>P. gingivalis</i> versus RAR sólo. |

| | | | | |
|-------------------------|---|--|--|--|
| Vicario et al. 2013 | 20 pacientes no fumadores con periodontitis crónica inicial o moderada recibieron probiótico (n=10) o placebo (n=10) sin profilaxis ni RAR previo. | Clínica a 0 y 30 días. | 1 compr. al día durante 30 días | Probiótico: más reducción de todos los parámetros clínicos, PI, BOP y PS que placebo a los 30 días. |
| Iniesta et al. 2012 | 40 pacientes con gingivitis. Se realizó pulido con copa de goma (no profilaxis) y se administró probiótico (n=20) o placebo (n=20). Incluyeron pacientes fumadores. | Clínica y microbiológica en saliva y subgingival (cultivo y PCR cualitativa) a 0, 4 y 8 semanas. | 1 compr. al día durante 28 días | No hubo diferencias clínicas de IP e IG entre probiótico y placebo. El probiótico disminuyó <i>P. gingivalis</i> y el recuento total de anaerobios en saliva a las 4 semanas y el recuento de <i>P. intermedia</i> a las 8 semanas. |
| Vivekananda et al. 2010 | 30 pacientes no fumadores con periodontitis crónica tratados a boca partida (dos cuadrantes con RAR y los otros dos no). | Clínica y microbiológica (cultivo) a 0, 21 y 42 días. | 2 compr. al día durante 21 días (del día 21 al 42) | La reducción del IP, IG y BOP fue, de mayor a menor, RAR+probiótico > probiótico > RAR+placebo > placebo. La mayor reducción de PS y GI se obtuvo con RAR + probiótico. RAR + probiótico o probiótico sólo redujo <i>P. gingivalis</i> , <i>P. Intermedia</i> y <i>A.actinomycetemcomitans</i> . Sin embargo, RAR + placebo no afectó a los periodontopatógenos. |
| Sinkiewicz et al. 2010 | 23 pacientes sin enfermedad periodontal recibieron probiótico o placebo. | Clínica y microbiológica (Hibridación checkerboard ADN-ADN) en saliva, placa supra y subgingival a 0 y 12 semanas. | 1 compr. al día durante 12 sem. | PI aumentó en el grupo placebo a las 12 semanas, sin cambios en el probiótico. <i>L. reuteri</i> no tuvo efecto en la microbiota supra y subgingival. |

| | | | | |
|---------------------|--|---|--------------------------------|--|
| Twetman et al. 2009 | 42 pacientes no fumadores con gingivitis recibieron probiótico + placebo, placebo + placebo o probiótico + placebo, sin profilaxis previa. | Clínica y FGC a 0, 1, 2 y 4 semanas. | 1 chicle al día durante 2 sem. | Disminuyó el BOP en todos los grupos durante 2 semanas, pero sólo fue significativo en los que reciben probiótico. |
| Krasse et al. 2006 | 59 pacientes con gingivitis recibieron probiótico (n=41) o placebo (n=18). | Clínica (IP y IG) y saliva a 0 y 14 días. | 2 compr. al día durante 2 sem. | IP disminuyó en el grupo probiótico a los 14 días (no en placebo) e IG disminuyó en los grupos probiótico y placebo. |

Tabla 1. Estudios clínicos que utilizan diferentes cepas de *Lactobacillus reuteri* en pacientes sanos, con gingivitis o periodontitis

2.2.4.5.- Probióticos y enfermedad periimplantaria

Hasta la fecha existe una evidencia muy limitada sobre el efecto de los probióticos en las enfermedades periimplantarias y no se han encontrado estudios *in vitro* o experimentales que evalúen el efecto de los probióticos en un *biofilm* formado sobre la superficie de los implantes. A nivel clínico hay dos estudios prospectivos, aleatorizados, a doble ciego y controlados por placebo (véase Tabla 2) que evalúan el efecto del probiótico *Lactobacillus reuteri* Prodentis (PerioBalance®, Sunstar/BioGaia, Suiza/Suecia) en implantes sanos (24) o con mucositis (24,34). Por un lado, Flichy-Fernández *et al.* (24), examinó 54 implantes sanos de 22 pacientes y 23 implantes con mucositis de 12 pacientes que presentaban como mínimo una arcada dental completamente edéntula rehabilitada con implantes. Tras un mes de realizar la profilaxis supragingival, administró un comprimido de probiótico al día durante 30 días y, después de 6 meses, realizó el mismo protocolo con placebo. Por otro lado, Hällstrom *et al.* (34) seleccionó 49 pacientes con mucositis periimplantaria y, tras el desbridamiento mecánico, 25 sujetos recibieron la aplicación tópica profesional de un aceite con *L. reuteri* seguido de la administración de dos comprimidos de *L. reuteri* al día durante 3 meses, y 24 sujetos recibieron la

misma pauta con placebo. Ambos estudios demostraron que el tratamiento probiótico redujo significativamente el IP, IG y PS, los niveles de citoquinas proinflamatorias y el volumen del FGC, tanto en los implantes sanos (24) como con mucositis (24,34). Sin embargo, así como Flichy-Fernández *et al.* (24) observó que la terapia con el probiótico *Lactobacillus reuteri* Prodentis ofrecía un beneficio adicional en la reducción de los parámetros anteriormente mencionados respecto el tratamiento placebo, Hällstrom *et al.* (34) encontró las mismas mejorías entre ambos grupos, además de no observar ninguna modificación a nivel de la composición de la microbiota subgingival a lo largo del tiempo. Hay un estudio experimental reciente, aleatorizado, doble ciego y controlado por placebo (35), que evalúa el efecto del probiótico *L. plantarum* y *L. brevis* en implantes con mucositis. Se incluyeron 20 pacientes y, tras inducir la mucositis en un implante por paciente, se realizó la terapia mecánica y fotodinámica y se administró el probiótico oral durante 15 días. Al mes se realizó el mismo protocolo con placebo y no se observaron diferencias clínicas entre ambos grupos de tratamiento a lo largo del tiempo.

| AUTOR | PACIENTES | EVALUACIÓN | DOSIS | RESULTADOS |
|------------------------------|--|--|---|--|
| Flichy-Fernández et al. 2015 | 34 pacientes no fumadores y como mínimo 1 arcada edéntula. Incluyeron 54 implantes sanos de 22 pacientes y 23 implantes con mucositis de 12 pacientes. Recibieron profilaxis supragingival y probiótico o placebo. | Clínica y FGC a 0, 30 y 60 días. | 1 compr. al día durante 30 días. | Probiótico produjo una disminución adicional en IP, IG y PS, volumen del FGC y niveles de citoquinas que placebo, tanto en implantes sanos como mucositis. |
| Hallström et al. 2015 | 49 pacientes con mucositis recibieron desbridamiento mecánico y probiótico (n=25) o placebo (n=24). Incluyeron pacientes fumadores. | Clínica, FGC y microbiológica (Hibridación checkerboard ADN-ADN) a 0, 30, 90 y 180 días. | 2 compr. al día y aceite tópico durante 12 sem. | El IP, BOP, PS, volumen del FGC y niveles de citoquinas disminuyeron en ambos grupos a los 90 días y se mantuvieron a los 180 días. Tampoco hubo diferencias microbiológicas entre grupos. |

Tabla 2. Estudios clínicos que utilizan el *Lactobacillus reuteri* Prodentis en pacientes con implantes sanos o mucositis.

La falta de evidencia científica y la controversia existente en la literatura sobre si los suplementos probióticos proporcionan un beneficio adicional al tratamiento mecánico de la mucositis, ponen de manifiesto la necesidad de realizar más estudios que valoren la efectividad del *Lactobacillus reuteri* Prodentis en implantes con mucositis o periimplantitis y así desarrollar nuevos protocolos preventivos y terapéuticos.

3.- HIPÓTESIS

3.- HIPÓTESIS

Hipótesis nulas principales

1.- Hipótesis nula (H_0): El uso del agente probiótico oral *Lactobacillus reuteri* Prodentis, como coadyuvante al tratamiento mecánico, tiene la misma efectividad clínica que el uso del agente placebo, tanto en los parámetros clínicos generales (índice de placa y sangrado al sondaje) como a nivel de implantes con mucositis o periimplantitis (índice de placa, sangrado al sondaje y profundidad de sondaje) de pacientes con antecedentes de enfermedad periodontal.

2.- Hipótesis nula (H_0): El uso del agente probiótico oral *Lactobacillus reuteri* Prodentis, como coadyuvante al tratamiento mecánico, tiene la misma efectividad en modular la composición de la microflora subgingival que el uso del agente placebo en implantes con mucositis o periimplantitis de pacientes con antecedentes de enfermedad periodontal.

Hipótesis alternativas principales

1.- Hipótesis alternativa (H_1): El uso del agente probiótico oral *Lactobacillus reuteri* Prodentis, como coadyuvante al tratamiento mecánico, tiene mayor efectividad clínica que el uso del agente placebo, tanto en los parámetros clínicos generales (índice de placa y sangrado al sondaje) como a nivel de implantes con mucositis o periimplantitis (índice de placa, sangrado al sondaje y profundidad de sondaje) de pacientes con antecedentes de enfermedad periodontal.

2.- Hipótesis alternativa (H_1): El uso del agente probiótico oral *Lactobacillus reuteri* Prodentis, como coadyuvante al tratamiento mecánico, tiene mayor efectividad en modular la composición de la microflora subgingival que el uso del agente placebo en implantes con mucositis o periimplantitis de pacientes con antecedentes de enfermedad periodontal.

4.- OBJETIVOS

4.- OBJETIVOS

Los objetivos principales de este ensayo clínico aleatorizado a triple ciego son:

1.- Evaluar el efecto del probiótico oral *Lactobacillus reuteri* Prodentis, como coadyuvante al tratamiento mecánico, en los parámetros clínicos generales (índice de placa y sangrado al sondaje) y a nivel de implantes con mucositis o periimplantitis (índice de placa, sangrado al sondaje y profundidad de sondaje) de pacientes con antecedentes de enfermedad periodontal.

2.- Evaluar el efecto del probiótico oral *Lactobacillus reuteri* Prodentis, como coadyuvante al tratamiento mecánico, en la microflora periimplantaria subgingival de implantes con mucositis o periimplantitis en pacientes con antecedentes de enfermedad periodontal.

Los objetivos secundarios son:

3.- Evaluar si la administración del probiótico oral *Lactobacillus reuteri* Prodentis causa algún efecto secundario.

4.- Evaluar si los pacientes cumplen con la toma del probiótico oral *Lactobacillus reuteri* Prodentis.

5.- MATERIAL Y MÉTODOS

5.- MATERIAL Y MÉTODOS

5.1.- Diseño y población de estudio

Diseño del estudio

El presente estudio fue diseñado como un ensayo clínico prospectivo controlado, aleatorizado a triple ciego, de diseño paralelo y con un seguimiento de 3 meses, para evaluar si habían diferencias clínicas y microbiológicas significativas entre el uso del probiótico oral *Lactobacillus reuteri* Prodentis (PerioBalance®, Sunstar, Suiza) o placebo en implantes con mucositis o periimplantitis de pacientes parcialmente edéntulos con antecedentes de enfermedad periodontal.

Población de estudio

El Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) de la Clínica Universitaria de Odontología de la Universitat Internacional de Catalunya (CUO-UIC) aprobó el protocolo de estudio (*Anexo 1 y 2*), que fue realizado de acuerdo con los principios de la Declaración de Helsinki en experimentación con seres humanos.

Los sujetos incluidos en el estudio fueron seleccionados en el Departamento de Periodoncia de la Clínica Universitaria de Odontología de la Universitat Internacional de Catalunya (Sant Cugat del Vallès, Barcelona, España), entre diciembre de 2014 y diciembre de 2016.

Los criterios de inclusión fueron: (I) pacientes adultos con buena salud general, (II) no fumadores, (III) con antecedentes de periodontitis crónica leve-moderada, de acuerdo con los criterios de la Clasificación Internacional de Armitage de 1999 (192), (IV) que presentaran al menos un implante dental en la boca con una PS de ≥ 4 mm junto con BOP y/o supuración, y con una restauración protésica fija definitiva en función durante un mínimo de 12 meses, (V) que cumplieran con el programa de mantenimiento periodontal, y tuvieran disponibilidad a lo largo de todo el período de estudio y voluntad y capacidad para cumplir con el protocolo.

Los criterios de exclusión fueron: (I) mujeres embarazadas o lactantes, (II) sujetos que requirieran profilaxis de endocarditis bacteriana o que hubieran recibido terapia con antisépticos, probióticos, antiinflamatorios o antibióticos locales o sistémicos en los últimos 3 meses, (III) pacientes que hubieran recibido tratamiento periodontal quirúrgico en los últimos 6 meses, (IV) historia previa o actual de alcoholismo o tabaquismo, (V) tratamiento con bifosfonatos, deficiencias neurológicas, patologías sistémicas tales como inmunodeficiencias o diabetes no controlada, enfermedad reumatoide, hepática, renal, cardiovascular o infecciosa, radioterapia, quimioterapia, cualquier enfermedad o medicación que pudiera afectar a nivel periodontal, (VI) falta de cooperación del paciente (incumplimiento con el seguimiento de las instrucciones del tratamiento y/o incumplimiento en acudir a las visitas) e (VII) implantes con presencia de movilidad y/o pérdida ósea radiográfica $\geq 5\text{mm}$ y/o $\geq 50\%$ de la longitud del implante.

Durante el período de reclutamiento, todos los pacientes que cumplieron los criterios de inclusión y exclusión recibieron información oral y escrita (*Anexo 3*) del protocolo de estudio. Una vez comprendieron la información dada acerca de los objetivos, beneficios y/o riesgos del estudio, así como de sus derechos y responsabilidades, expresaron voluntariamente su intención de participar en la investigación firmando el consentimiento informado (*Anexo 4*).

5.2.- Tamaño de la muestra

El cálculo del tamaño muestral del estudio, considerando los implantes con mucositis o periimplantitis por separado, determinó que 11 pacientes por grupo (probiótico o placebo) proporcionaban una potencia estadística del 95% (alta) para detectar una diferencia clínica real en la PS entre el grupo probiótico y placebo de 1 mm, aceptando un riesgo alfa de 0.05 y un riesgo beta inferior a 0.05, en un contraste bilateral, y estimando una tasa de abandono durante el seguimiento del 10%. Se asumió una desviación estándar común de 0.6mm, extraída de un estudio piloto realizado con doce pacientes del estudio, seis con mucositis y seis con periimplantitis, de los cuales tres pacientes de cada grupo recibieron tratamiento probiótico o placebo (www.imim.cat/ofertadeserveis/software-public/granmo/ versión 7.12, Barcelona, España).

La unidad de estudio fue el paciente, de manera que sólo se incluyó un implante con mucositis o periimplantitis en cada paciente.

5.3.- Tratamiento

Producto probiótico

El probiótico PerioBalance® (Sunstar, Suiza) se presentó en forma de comprimidos que contenían una combinación de dos cepas de *Lactobacillus reuteri* (1×10^8 células vivas de DSM 17938 y 1×10^8 de ATCC PTA 5289).

Los agentes probiótico (PerioBalance®, Sunstar, Suiza) y placebo se recibieron en envases idénticos con cierre inviolable. Simplemente se diferenciaban porque unos envases estaban codificados como “A” y los otros como “B”, puesto que unos contenían los comprimidos con probiótico y los otros contenían los comprimidos placebo. Los comprimidos placebo y probióticos eran idénticos en aspecto, textura, tamaño, color, forma y sabor, únicamente había ausencia del *Lactobacillus reuteri* Prodentis en los comprimidos placebo.

Aleatorización

Los pacientes incluidos en el estudio, de acuerdo con los criterios de inclusión y exclusión, se clasificaron en función de la salud periimplantaria en base a los criterios de la VIII EWP 2012 (55), Atieh *et al.* 2013 (193) y la AAP 2013 (194):

- ✓ La mucositis se definió como una inflamación de la mucosa con BOP y/o supuración, PS \geq 4 mm y sin evidencia de pérdida ósea radiográfica.
- ✓ La periimplantitis se definió como la presencia de inflamación de la mucosa con BOP y/o supuración, PS \geq 5 mm y una pérdida ósea radiográfica de \geq 2 mm y/o \geq 3 espiras del implante.

De acuerdo con la clasificación de periimplantitis propuesta por Ata-Ali *et al.* 2015 (195) sólo se incluyeron los implantes que presentaban una pérdida ósea radiográfica inferior a 5mm tras el remodelado óseo biológico (estadio 1 y 2) e inferior al 50% de la longitud del implante.

Los sujetos seleccionados fueron asignados aleatoriamente a uno de los dos grupos de tratamiento (“A” o “B”) a través de un programa de aleatorización (www.graphpad.com/quickcalcs/randomize1/ Copyright ©2017 GraphPad Software) para conseguir que el tamaño muestral fuera igual entre ambos grupos.

El código de aleatorización no fue desvelado hasta que todos los datos fueron recopilados y analizados, consiguiendo así un estudio a triple ciego, debido a que los pacientes, el examinador clínico, el técnico de laboratorio y el estadístico no conocían el contenido de los envases.

Protocolo de tratamiento

Los pacientes incluidos en este estudio clínico prospectivo aleatorizado siguieron la secuencia de tratamiento relatada a continuación (véase Figura 2).

Screening

Se realizó una historia clínica completa para recoger los antecedentes médicos, quirúrgicos y dentales, además de la medicación, los hábitos, la edad, el sexo y el régimen de higiene oral para valorar si los pacientes cumplían los criterios de inclusión y exclusión y podían ser incluidos en el estudio. A continuación, después de recibir información oral y escrita de las características del estudio e invitarles a formar parte de la investigación, aceptaron voluntariamente a participar firmando el consentimiento informado.

Fase experimental: administración de placebo o probiótico (día 0 – día 30)

Después de realizar la exploración clínica, radiológica y microbiológica inicial y una vez asignado aleatoriamente el grupo de estudio (probiótico o placebo), se realizó una profilaxis supragingival en el grupo de mucositis y una terapia mecánica subgingival en el grupo de periimplantitis con ultrasonidos Newtron P5 (ACTEON Médico-Dental Iberica S.A.U, España), puntas de carbono Ph1, Ph2L y Ph2R (ACTEON Médico-Dental Iberica S.A.U, España) y curetas de titanio (Quirurgical Bontempi, España). Los pacientes no recibieron instrucciones de higiene oral. A continuación, se les entregó, según el grupo, un envase con 30 comprimidos de probiótico (Periobalance®, Sunstar, Suiza) o

placebo e instrucciones de cómo y cuándo tomarlos. Se indicó a los pacientes disolver un comprimido durante 10 minutos por toda la cavidad oral, cada día por la noche, justo después del cepillado dental, para permitir que el probiótico se diseminara por toda la cavidad oral y se adhiriera a las diversas superficies orales. Este procedimiento se realizó durante 30 días consecutivos, basándonos en Vicario *et al.* (22). Todos los tratamientos fueron realizados por el mismo periodoncista.

Al finalizar la fase experimental, se pidió a los pacientes que devolvieran los envases para comprobar si habían consumido todos los comprimidos y así evaluar el cumplimiento con el protocolo de estudio. Además, se realizó una entrevista para registrar los efectos secundarios percibidos por parte del paciente o del investigador.

Período de seguimiento: día 30 y día 90

El período experimental fue de 30 días y el seguimiento fue realizado a los 30 y 90 días de iniciar el tratamiento, de modo que a los 30 días, justo al finalizar el tratamiento con placebo o probióticos, se realizó la segunda exploración clínica, radiológica y microbiológica y, a los 90 días, se realizó la tercera exploración clínica, radiológica y microbiológica.

Durante el período de estudio (90 días), los pacientes no recibieron instrucciones de higiene oral ni ningún otro tratamiento periodontal mecánico. Además, se les pidió que no modificaran sus hábitos dietéticos ni de higiene oral y que no usaran ningún otro probiótico, antibiótico o antiséptico durante todo el estudio.

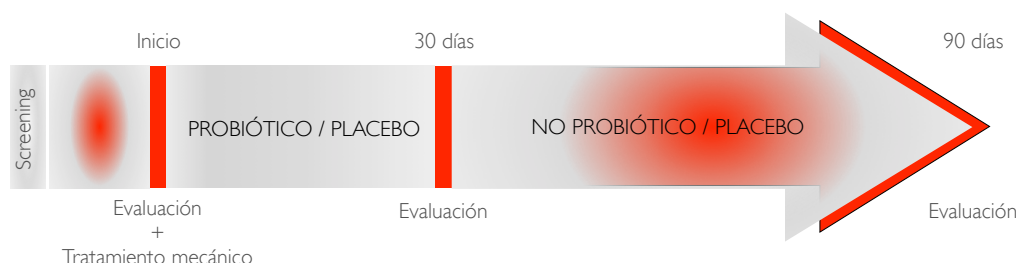


Figura 2. Protocolo de tratamiento. Después de la evaluación inicial, se realizó el tratamiento mecánico y se administró el agente probiótico o placebo durante 30 días. Al finalizar el período experimental se realizó otra evaluación, que se repitió a los 90 días.

Calibración del investigador

Un sólo examinador experimentado y calibrado (D.P) registró los parámetros clínicos, radiográficos y microbiológicos al inicio, 30 y 90 días. Previamente, dicho examinador realizó un proceso de calibración en 10 pacientes con periodontitis que no pertenecieron al estudio, midiendo un cuadrante por sujeto que como mínimo tuviera un implante. Se evaluó la profundidad de sondaje con un intervalo mínimo de 60 minutos, y se consiguió una reproducibilidad intraexaminador del 98%.

5.4.- Variables de estudio

Examen clínico

Se llevó a cabo una exploración extra e intraoral completa, que incluía un examen periodontal de toda la boca al inicio, 30 y 90 días (véase Figura 3). Los parámetros clínicos se evaluaron mediante una sonda manual CP-15 UNC (Hu-Friedy Co., Chicago IL, USA), por el examinador calibrado (D.P), en seis puntos por diente o implante, y excluyendo los terceros molares. El material que se utilizó para registrar los parámetros clínicos fueron un espejo intraoral, una sonda periodontal, un periodontograma y eritrosina. Se registró el índice de placa, el sangrado al sondaje y la profundidad de sondaje basándonos en el estudio de Vicario *et al.* (22).

Profundidad de sondaje (PS)

La profundidad de sondaje (PS), que fue la variable de estudio primaria, se midió en milímetros como la distancia desde el margen gingival hasta la base de la bolsa periodontal y mucosa periimplantaria, insertando la sonda periodontal con una fuerza de 0.2-0.3N (86). La PS fue registrada en seis puntos por diente e implante presente: mesio-vestibular, medio vestibular, disto-vestibular, mesio-lingual, medio lingual y disto-lingual. Las mediciones se redondearon al 0.5mm más próximo y se calculó la media de PS para cada implante.

Índice de placa

El índice de placa general (IP) se registró de acuerdo con O'Leary *et al.* (196). Se utilizó un revelador de placa, se asignó de manera dicotómica la presencia o ausencia de placa (1 indicaba presencia de placa y 0 ausencia de placa) en cuatro superficies por diente e implante, mesial, distal, vestibular y lingual/palatino, y finalmente se calculó el porcentaje de superficies que revelaban la presencia de placa detectada sobre el total de superficies presentes.

El índice de placa del implante (IPI) se registró asignando con un valor dicotómico la presencia o ausencia de placa (1 indicaba presencia de placa y 0 ausencia de placa) del implante en estudio.

Sangrado al sondaje

El sangrado al sondaje general (BOP), se determinó según Ainamo y Bay (197). Se evaluó la presencia o ausencia de sangrado en las superficies mesial, distal, vestibular y lingual/palatino con valores dicotómicos (1 indicaba presencia de sangrado y 0 ausencia de sangrado). Después se calculó el porcentaje de superficies totales que presentaban sangrado hasta 15 segundos después del sondaje sobre el total de superficies presentes.

El sangrado al sondaje del implante (BOPI) se registró de manera dicotómica según si el implante en estudio presentaba o no sangrado (1 indicaba presencia de sangrado y 0 ausencia de sangrado).

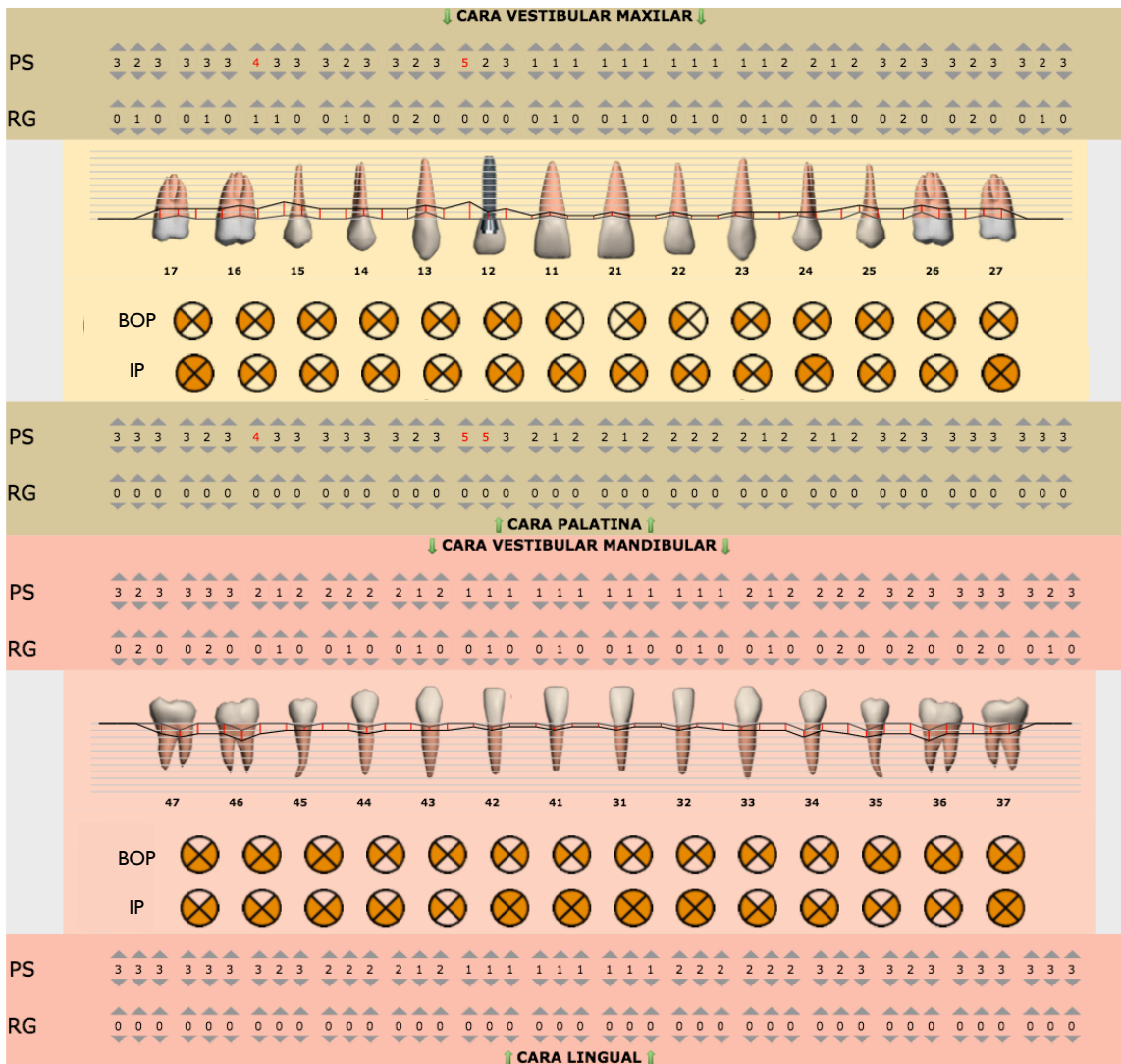


Figura 3. Periodontograma. Se registró el índice de placa, la profundidad de sondaje y el sangrado al sondaje a nivel general y a nivel del implante con mucositis o periimplantitis al inicio, 30 y 90 días.

Examen radiográfico

Para evaluar la pérdida ósea marginal de los implantes se realizaron radiografías periapicales digitales (Planmeca®, Helsinki, Finlandia) con placas radiográficas de fósforo (Planmeca ProScanner®, Daejeon, Corea), estandarizadas con una plantilla milimetrada radiopaca e individualizadas con un paralelizador intraoral (XCP® Dentsply, York, Pensilvania, USA) unido a una férula de mordida de silicona. Se instauraron unos valores determinados (8mA-63kV/25ms) para realizar las radiografías mediante la técnica de paralelismo y la cuadrícula milimetrada quedó plasmada en cada película radiográfica después del revelado (Planmeca ProScanner®, Daejeon, Corea) (véase Figura 4). Las radiografías intraorales fueron realizadas por el mismo examinador calibrado (D.P).



Figura 4. Radiografías periapicales digitales estandarizadas. Se utilizó un paralelizador intraoral y una plantilla milimetrada a nivel del implante.

Examen microbiológico

El test microbiológico utilizado fue el Guidor Perio-Implant Diagnostic Test® (Sunstar S.A, Suiza), que mediante Real-Time PCR identifica y cuantifica la carga bacteriana total de *A. actinomycetemcomitans* (DSM 8324), *T. forsythia* (CIP 105220), *P. gingivalis* (DSM 20709), *T. denticola* (DSM 14222), *P. intermedia* (DSM 20706), *P. micros* (DSM 20468), *F. nucleatum* (DSM 20482), *C. rectus* (LMG 18530) y *E. corrodens* (DSM 8340) (véase Figura 5).

La Real-Time PCR es una técnica muy sensible y altamente específica para detectar pequeñas cantidades de un determinado microorganismo, y además permite cuantificar un amplio espectro de patógenos orales (198,199).

Los tests microbiológicos fueron realizados al inicio, 30 y 90 días por el mismo examinador (D.P) en la bolsa periimplantaria más profunda. Para tomar las muestras de placa subgingival periimplantaria se realizó el siguiente protocolo: (I) aislamiento relativo del implante con rollos de algodón, (II) eliminación de la placa supragingival y secado del área con una bola de algodón estéril sin penetrar en la mucosa periimplantaria, (III) se insertaron cuatro puntas de papel estériles (Dentsply Maillefer size #50, Ballaigues, Suiza), mediante pinzas estériles, hasta la base de la mucosa periimplantaria durante 10-15 segundos y (IV) se introdujeron en un tubo *ependorf* que se envió al Institut Clinident SAS (Aix en Provence, Francia) junto con la hoja de datos del paciente.

Procedimientos de laboratorio

Para realizar la Real-Time PCR se utilizó un volumen de 10 μ l, que estaba compuesto por 1xQuantiFast® SYBR® Green PCR (Qiagen, Alemania), 2 μ l de ADN y 1 μ M de cada *primer*.

Los *primers* específicos para cada especie bacteriana, que provinieron de la secuencias 16S ribosómica, fueron proporcionados por el Institut Clinident SAS (Aix en Provence, Francia) y fabricados por Metabion GmbH (Martinsried, Alemania).

Los ensayos se llevaron a cabo mediante el sistema de ciclos térmicos Rotor-Gene® Q (Qiagen, Alemania) a través del siguiente protocolo: 95°C durante 5 minutos, seguido de 40 ciclos de 10 segundos a 95°C, 10 segundos a 60°C, y 35 segundos a 72°C. Se realizó una curva de fusión final (de 70 a 95°C en incrementos de 1°C cada 5 segundos) y las señales de fluorescencia se midieron en cada ciclo al final de la etapa de extensión y continuamente durante el análisis de la curva de fusión. Los datos resultantes se analizaron utilizando el programa Rotor-Gene® Q Series (Qiagen, Alemania).

Para cuantificar los patógenos bacterianos estudiados se utilizó un patrón externo, que consistió en la dilución seriada del ADN bacteriano patrón proporcionado por el Institut Clinident SAS. Las cepas bacterianas estándar utilizadas para la producción de ADN estándar provinieron de DSMZ (Alemania), CIP Collection del Institut Pasteur o de BCMM / LMG Bacteria Collection.

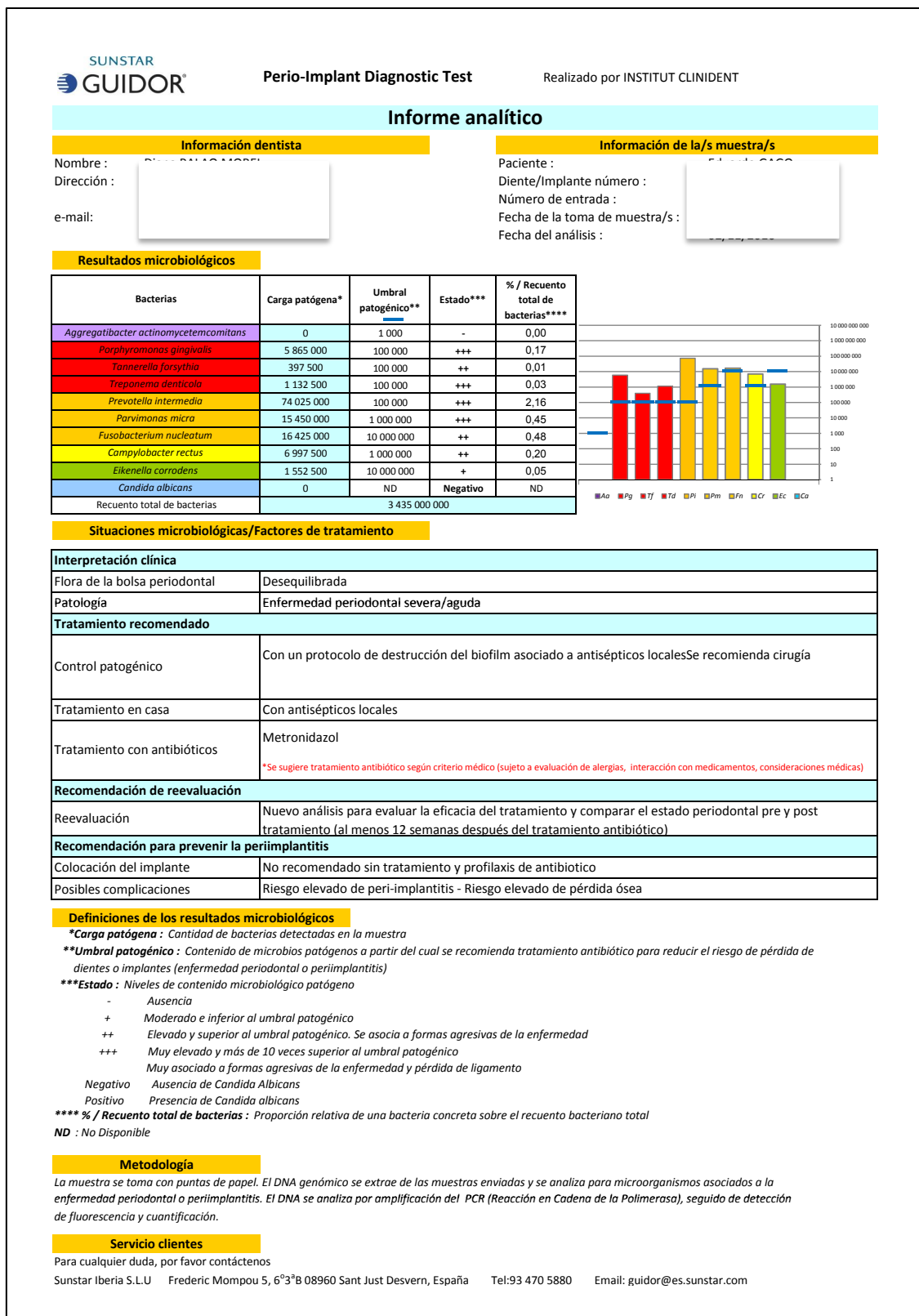


Figura 5. Test microbiológico Guidor Perio-Implant Diagnostic Test® (Sunstar S.A, Suiza). Cuantificó mediante Real-Time PCR la concentración de nueve especies bacterianas diferentes.

5.5.- Análisis estadístico

Los datos obtenidos de cada variable de estudio fueron introducidos en una base de datos utilizando el programa Excel (Microsoft Office 2011) y después fueron importados al entorno de programación IBM SPSS Statistics 22.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) para realizar el análisis estadístico.

En el análisis descriptivo se determinó la media, desviación estándar, mínimo, máximo y mediana para las variables cuantitativas, y la distribución de frecuencias y porcentajes para las variables cualitativas. Además, se utilizaron *box plots* para representar de forma sucinta las distribuciones de las variables.

El análisis bivalente, utilizado para evaluar la eficacia del probiótico, emplea técnicas estadísticas paramétricas y no paramétricas según la normalidad de la distribución de cada variable de estudio. La prueba de Kolmogorov-Smirnov se utilizó para comprobar la normalidad de las variables continuas del estudio. Cuando el *p*-valor era superior a 0.05 la distribución de la variable de estudio era normal y, por tanto, se aplicaban pruebas paramétricas (t-student). Cuando el *p*-valor era inferior a 0.05 la variable no presentaba una distribución normal y se aplicaban pruebas no paramétricas (Wilcoxon y Mann-Whitney). Puesto que las variables clínicas continuas estudiadas y las concentraciones de bacterias representadas en logaritmos presentaban una distribución normal, se realizó el análisis bivalente mediante técnicas paramétricas. Así pues, para cada variable continua y para cada uno de los grupos de datos del día 0, 30 y 90 se realizó la prueba t-student, que permitió comparar el grupo probiótico versus placebo tanto en mucositis como en periimplantitis. Además, para evaluar la evolución de las variables continuas a lo largo del tiempo, entre los días 0-30, 30-90 y 0-90, se calculó la diferencia de los valores de las variables para cada paciente en cada par de instantes temporales. A partir de estas diferencias se realizó la t-student para evaluar si los grupos probiótico y placebo presentaban cambios en las variables durante el período de estudio. Se consideró estadísticamente significativo cuando el *p*-valor era ≤ 0.05 .

Para las variables dicotómicas se emplearon pruebas no paramétricas de asociación, el chi-cuadrado. A nivel de las variables clínicas dicotómicas, el chi-cuadrado se utilizó para comprobar, por un lado, la dependencia entre la presencia y la ausencia de IPI o BOPI con probiótico y placebo en cada uno de los instantes temporales de medición (0, 30 y 90 días) y, por otro, la presencia de cambios positivos y negativos con probiótico y placebo en cada intervalo de tiempo (0-30, 30-90 y 0-90). Para evaluar la evolución en el tiempo de la ausencia o presencia de IPI y BOPI en cada uno de los grupos de estudio, se aplicaron las pruebas de McNemar para muestras relacionadas, que determinaron si la proporción de cambios en un sentido fue distinta de la proporción de cambios en el otro.

6.- RESULTADOS

6.- RESULTADOS.

6.1.- Sujetos, cumplimiento y efectos adversos

Sujetos

Un total de 95 pacientes fueron examinados, de los cuales 42 fueron excluidos porque no cumplían los criterios de inclusión y exclusión y 9 abandonaron el estudio por la imposibilidad de acudir a las visitas asignadas (un paciente debido a su hospitalización). Por consiguiente, un total de 44 pacientes, 22 con mucositis y 22 con periimplantitis, fueron asignados aleatoriamente al grupo control o al grupo test, de modo que 11 pacientes de cada grupo recibieron tratamiento placebo y 11 probiótico. El diagrama de flujo del estudio se presenta en la Figura 6.

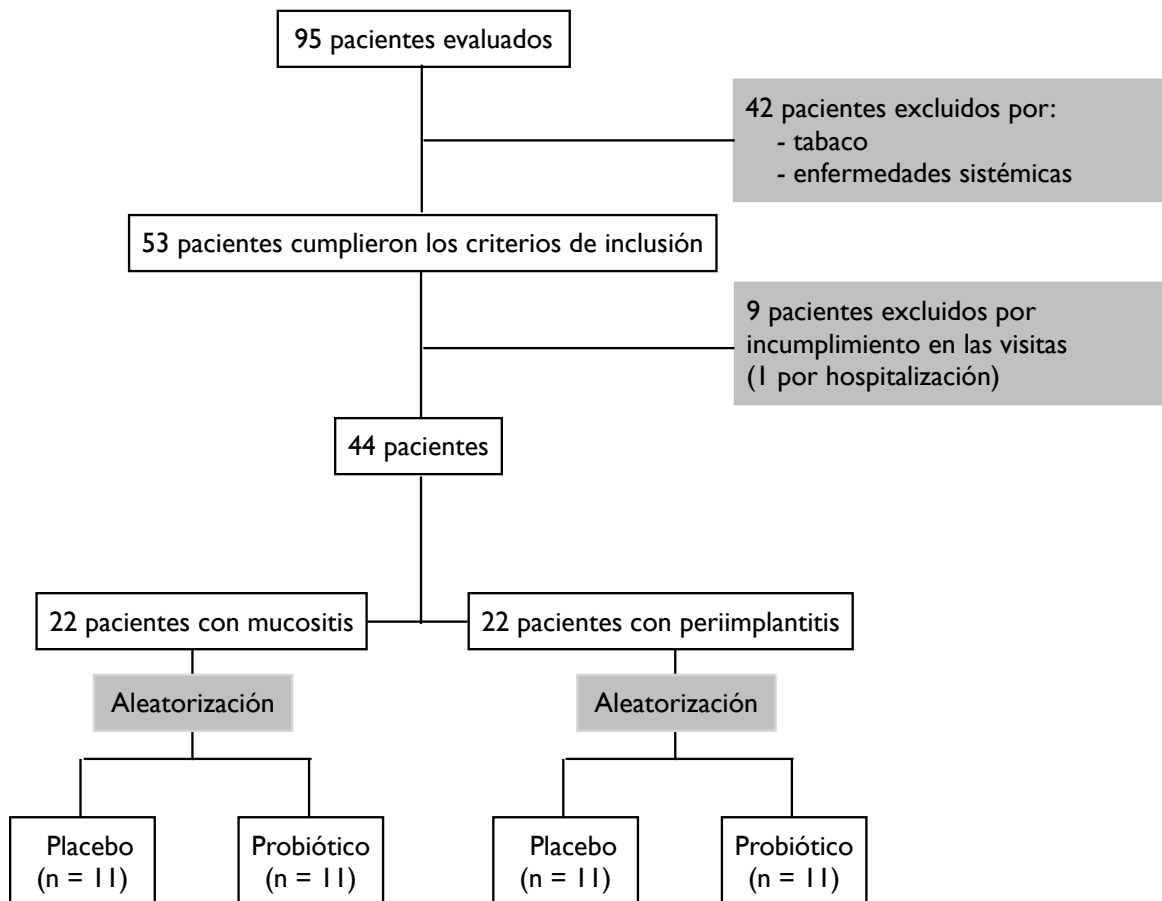


Figura 6. Diagrama de flujo. Distribución de los grupos de estudio. 22 pacientes con un implante con mucositis y 22 pacientes con un implante con periimplantitis recibieron aleatoriamente tratamiento probiótico o placebo.

Cumplimiento y efectos adversos

El cumplimiento con el protocolo de estudio fue bueno debido a que todos los pacientes consumieron todos los comprimidos. Además, no se percibió ningún efecto secundario ni por parte del paciente ni del investigador.

6.2.- Variables de estudio

6.2.1.- Parámetros demográficos

La Tabla 3 muestra las características demográficas iniciales (número de pacientes e implantes, edad, sexo, localización del implante y prótesis higienizable) del grupo de mucositis y periimplantitis por separado. Todos los implantes estaban rehabilitados con una restauración protésica fija definitiva que llevara un mínimo de 12 meses en función.

La edad media de los pacientes con mucositis fue de 61.5 (48-76) años en el grupo probiótico y de 60 (48-73) años en el grupo placebo. Las mujeres representaron el 27% del grupo probiótico y el 45% del grupo placebo. El 73% de los implantes del grupo probiótico y el 64% del grupo placebo estaban localizados en el maxilar.

La edad media de los pacientes con periimplantitis fue de 61.7 (50-72) años en el grupo probiótico y de 56.8 (44-74) años en el grupo placebo. Las mujeres representaron el 64% del grupo probiótico y el 55% del grupo placebo. El 27% de los implantes del grupo probiótico y el 64% del grupo placebo estaban localizados en el maxilar.

El grupo probiótico y placebo de los pacientes con implantes con mucositis o periimplantitis estaban equilibrados en edad, sexo, localización del implante y prótesis higienizable ($p > 0.05$).

| | MUCOSITIS | | | PERIIMPLANTITIS | | | TEST |
|--|-------------|---------------|---------|-----------------|---------------|---------|----------------|
| | GRUPO TEST | GRUPO PLACEBO | p-valor | GRUPO TEST | GRUPO PLACEBO | p-valor | |
| PACIENTES | 11 | 11 | | 11 | 11 | | |
| IMPLANTES | 11 | 11 | | 11 | 11 | | |
| EDAD Media ± DE | 61.5 ± 10.4 | 60.0 ± 9.5 | 0.736 | 61.7 ± 7.0 | 56.8 ± 9.3 | 0.178 | t-student |
| SEXO (%) H M | 73% 27% | 55% 45% | 0.375 | 36% 64% | 45% 55% | 0.665 | X ² |
| MX/MB (%) | 73% 27% | 64% 36% | 0.647 | 27% 73% | 64% 36% | 0.087 | X ² |
| PRÓTESIS HIGIÉNICA (NO SI) | 9% 91 % | 9% 91 % | 1.000 | 18% 82% | 18% 82% | 1.000 | X ² |

Tabla 3. Descripción demográfica de la población de estudio al inicio. Se muestra el número de sujetos e implantes incluidos en el estudio, la edad media de los pacientes, distribución por sexos (H: hombre; M: mujer), localización del implante (MX: maxilar; MB: mandíbula) y si la prótesis fija sobreimplante es higienizable o no, tanto del grupo probiótico como placebo de implantes con mucositis y periimplantitis por separado. Se aplicó la t-student para las variables continuas y chi cuadrado (X²) para las dicotómicas. $p \leq 0.05$ significa que hay diferencias significativas entre grupos.

6.2.2.- Eficacia del probiótico sobre los parámetros clínicos

6.2.2.1.- Parámetros clínicos iniciales

El examen clínico inicial (véase Tabla 4) mostró que el grupo probiótico y placebo de los pacientes con mucositis tenían características similares a nivel del IP, IPI, BOP, BOPI y PS, siendo el porcentaje de BOP ligeramente superior en el grupo probiótico ($p > 0.05$). Tampoco hubo diferencias significativas a priori entre ambos grupos de pacientes con periimplantitis ($p > 0.05$). Además, la PS fue mayor en los implantes con periimplantitis que con mucositis. Debido a que las medidas clínicas iniciales eran homogéneas entre el grupo placebo y probiótico tanto en pacientes con mucositis como con periimplantitis, los valores iniciales no condicionaron los resultados obtenidos tras el tratamiento.

| | MUCOSITIS | | | PERIIMPLANTITIS | | | TEST |
|----------|-------------|---------------|---------|-----------------|---------------|---------|-----------|
| | GRUPO TEST | GRUPO PLACEBO | p-valor | GRUPO TEST | GRUPO PLACEBO | p-valor | |
| IP (%) | 0.41 ± 0.21 | 0.39 ± 0.10 | 0.707 | 0.44 ± 0.14 | 0.43 ± 0.21 | 0.924 | t-student |
| IPI (%) | 72,7% | 54,5% | 0,330 | 63,6% | 45,5% | 0.392 | χ^2 |
| BOP (%) | 0.61 ± 0.27 | 0.41 ± 0.21 | 0.061 | 0.53 ± 0.23 | 0.49 ± 0.23 | 0.702 | t-student |
| BOPI (%) | 100% | 100% | 1.000 | 100% | 90,9% | 0.500 | χ^2 |
| PS (mm) | 3.84 ± 0.55 | 3.82 ± 0.64 | 0.944 | 5.07 ± 0.87 | 4.90 ± 0.66 | 0.605 | t-student |

Tabla 4. Descripción clínica de la población de estudio al inicio. Se expresa el porcentaje medio ± desviación estándar de las variables clínicas IP y BOP, los milímetros medios ± desviación estándar de PS, el porcentaje de implantes con presencia de placa (IPI) y sangrado (BOPI). Se aplicó la t-student para las variables continuas y chi cuadrado (χ^2) para las dicotómicas. $p \leq 0.05$ significa que hay diferencias significativas entre los grupos de estudio.

6.2.2.2.- Evolución de los parámetros clínicos a lo largo del tiempo

Se analizó la media del IP, BOP y PS al inicio, 30 y 90 días y se examinó para cada uno de los implantes si el IPI y el BOPI mejoraban, empeoraban o se mantenían estables en los diferentes intervalos de tiempo y así valorar si había diferencias estadísticamente significativas entre el grupo probiótico y placebo de implantes con mucositis o periimplantitis en el tiempo (véase Tabla 5 y 6).

RESULTADOS

| MUCOSITIS | | 0 | 30 | 90 | 0-30 | | 30-90 | | 0-90 | |
|-----------|---------------------------|-------------|-------------|-------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| | | Media ± DE | Media ± DE | Media ± DE | Diferencia | p-valor | Diferencia | p-valor | Diferencia | p-valor |
| IP (%) | Probiótico | 0.41 ± 0.21 | 0.28 ± 0.11 | 0.25 ± 0.10 | -0.13 ± 0.14 | 0.013* | -0.03 ± 0.05 | 0.061 | -0.16 ± 0.17 | 0.012* |
| | Placebo | 0.39 ± 0.10 | 0.31 ± 0.11 | 0.29 ± 0.10 | -0.07 ± 0.24 | 0.000* | -0.02 ± 0.03 | 0.047* | -0.09 ± 0.04 | 0.000* |
| | p-valor (t-student) | 0.707 | 0.483 | 0.328 | 0.201 | | 0.221 | | 0.586 | |
| BOP (%) | Probiótico | 0.61 ± 0.27 | 0.35 ± 0.13 | 0.29 ± 0.09 | -0.27 ± 0.22 | 0.003* | -0.05 ± 0.07 | 0.044* | -0.32 ± 0.24 | 0.001* |
| | Placebo | 0.42 ± 0.18 | 0.34 ± 0.19 | 0.35 ± 0.22 | -0.08 ± 0.16 | 0.136 | 0.01 ± 0.31 | 0.932 | -0.07 ± 0.24 | 0.377 |
| | p-valor (t-student) | 0.061 | 0.968 | 0.432 | 0.031* | | 0.541 | | 0.024* | |
| PS (mm) | Probiótico | 3.84 ± 0.55 | 3.58 ± 0.63 | 3.35 ± 0.76 | -0.25 ± 0.35 | 0.038* | -0.23 ± 0.18 | 0.002* | -0.48 ± 0.50 | 0.009* |
| | Placebo | 3.82 ± 0.64 | 3.52 ± 0.47 | 3.66 ± 0.62 | -0.30 ± 0.34 | 0.015* | 0.15 ± 0.23 | 0.062 | -0.15 ± 0.36 | 0.187 |
| | p-valor (t-student) | 0.944 | 0.791 | 0.306 | 0.761 | | 0.000* | | 0.094 | |
| | | + | + | + | + / - + | p-valor | ++ | p-valor | + / - | p-valor |
| IPI (%) | Probiótico | 72,7% | 36,4% | 27,3% | 36,4%/0,0% | 0,125 | 100% | ---- | 45,5%/ 0,0% | 0,063 |
| | Placebo | 54,5% | 45,5% | 63,6% | 9,1%/ 0,0% | 1,000 | 0,0% | ---- | 18,2%/ 27,3% | 1,000 |
| | p-valor (X ²) | 0,330 | 0,500 | 0,087 | 0,155 | | 0,050 | | 0,117 | |
| BOPI (%) | Probiótico | 100,0% | 45,5% | 54,5% | 54,5%/0,0% | ---- | 33,0% | ---- | 45,5%/ 0,0% | ---- |
| | Placebo | 100,0% | 72,7% | 90,9% | 27,3%/ 0,0% | ---- | 0,0% | ---- | 9,1%/ 0,0% | ---- |
| | p-valor (X ²) | ---- | 0,193 | 0,074 | 0,193 | | 0,375 | | 0,074 | |

Tabla 5. Descripción clínica de las variables de estudio de los implantes con mucositis en los diferentes intervalos de tiempo. Se expresa el porcentaje medio ± DE de las variables clínicas IP y BOP, los milímetros medios ± DE de PS y el porcentaje de implantes con presencia de placa (IPI) y sangrado (BOPI) al inicio, 30 y 90 días, además de las diferencias a lo largo del tiempo. IP y BOP se expresan en decimales. (+) Significa presencia y (–) ausencia. (+ -) Representa los cambios positivos, es decir, los implantes que presentaban placa al inicio y a los 30 o 90 días no; (- +) representa los cambios negativos, es decir, los implantes que no presentaban placa al inicio y a los 30 o 90 días si. (++) Representa los cambios positivos a los 30 días que se mantuvieron a los 90 días. Las pruebas t-student y chi-cuadrado evaluaron si había diferencias estadísticamente significativas entre el grupo probiótico y placebo en los diferentes intervalos de tiempo. La t-student apareada valoró si había diferencias en IP, BOP y PS dentro del mismo grupo de tratamiento a lo largo del tiempo y el test McNemar comparó las tasas de cambios positivos y negativos del IPI y BOPI. *p*-valor ≤ 0.05 significa que hay diferencias significativas entre los grupos de estudio.

RESULTADOS

| PERIIMPLANTITIS | | 0 | 30 | 90 | 0-30 | | 30-90 | | 0-90 | |
|-----------------|---------------------------|-------------|-------------|-------------|---------------|---------------|--------------|---------------|---------------|---------------|
| | | Media ± DE | Media ± DE | Media ± DE | Diferencia | p-valor | Diferencia | p-valor | Diferencia | p-valor |
| IP (%) | Probiótico | 0.44 ± 0.14 | 0.31 ± 0.12 | 0.28 ± 0.24 | -0.13 ± 0.10 | 0.002* | -0.03 ± 0.04 | 0.026* | -0.16 ± 0.09 | 0.000* |
| | Placebo | 0.43 ± 0.21 | 0.36 ± 0.16 | 0.33 ± 0.28 | -0.08 ± 0.09 | 0.015* | -0.03 ± 0.04 | 0.042* | -0.10 ± 0.11 | 0.008* |
| | p-valor (t-student) | 0.924 | 0.470 | 0.383 | 0.210 | | 0.200 | | 0.823 | |
| BOP (%) | Probiótico | 0.53 ± 0.23 | 0.34 ± 0.06 | 0.33 ± 0.09 | -0.20 ± 0.23 | 0.018* | 0.00 ± 0.06 | 0.963 | -0.20 ± 0.22 | 0.015* |
| | Placebo | 0.49 ± 0.23 | 0.42 ± 0.22 | 0.39 ± 0.17 | -0.08 ± 0.08 | 0.009* | -0.03 ± 0.18 | 0.637 | -0.10 ± 0.18 | 0.090 |
| | p-valor (t-student) | 0.702 | 0.247 | 0.325 | 0.116 | | 0.665 | | 0.281 | |
| PS (mm) | Probiótico | 5.07 ± 0.87 | 4.55 ± 0.69 | 4.53 ± 0.72 | -0.53 ± 0.33 | 0.000* | -0.02 ± 0.19 | 0.762 | -0.55 ± 0.37 | 0.001* |
| | Placebo | 4.90 ± 0.66 | 4.65 ± 0.78 | 4.70 ± 0.75 | -0.25 ± 0.27 | 0.013* | 0.05 ± 0.18 | 0.424 | -0.20 ± 0.35 | 0.089 |
| | p-valor (t-student) | 0.605 | 0.732 | 0.587 | 0.040* | | 0.436 | | 0.036* | |
| | | + | + | + | + / - | p-valor | ++ | p-valor | + / - | p-valor |
| IPI (%) | Probiótico | 63,6% | 9,1% | 36,4% | 54,5%/ 0,0% | 0,031* | 50,0% | ----- | -27,3%/ 0,0% | 0,250 |
| | Placebo | 45,5% | 18,2% | 36,4% | 27,3%/ 0,0% | 0,250 | 66,7% | ----- | -27,3%/ 18,2% | 1,000 |
| | p-valor (X ²) | 0,392 | 0,500 | 0,670 | 0,193 | | 0,587 | | 0,319 | |
| BOPI (%) | Probiótico | 100,0% | 54,5% | 63,6% | -45,5%/ 0,0% | ----- | 80,0% | ----- | -36,4%/ 0,0% | ----- |
| | Placebo | 90,9% | 90,9% | 90,9% | 0,0%/ 0,0% | 1,000 | ----- | ----- | 0,0%/ 0,0% | 1,000 |
| | p-valor (X ²) | 0,500 | 0,074 | 0,155 | 0,018* | | 0,500 | | 0,045* | |

Tabla 6. Descripción clínica de las variables de estudio de los implantes con periimplantitis en los diferentes intervalos de tiempo. Se expresa el porcentaje medio ± DE de las variables clínicas IP y BOP, los milímetros medios ± DE de PS y el porcentaje de implantes con presencia de placa (IPI) y sangrado (BOPI) al inicio, 30 y 90 días, además de las diferencias a lo largo del tiempo. IP y BOP se expresan en decimales. (+) Significa presencia y (-) ausencia. (+ -) Representa los cambios positivos, es decir, los implantes que presentaban placa al inicio y a los 30 o 90 días no; (- +) representa los cambios negativos, es decir, los implantes que no presentaban placa al inicio y a los 30 o 90 días si. (++) Representa los cambios positivos a los 30 días que se mantuvieron a los 90 días. Las pruebas t-student y chi-cuadrado evaluaron si había diferencias estadísticamente significativas entre el grupo probiótico y placebo en los diferentes intervalos de tiempo. La t-student apareada valoró si había diferencias en IP, BOP y PS dentro del mismo grupo de tratamiento a lo largo del tiempo y el test McNemar comparó las tasas de cambios positivos y negativos del IPI y BOPI. $p\text{-valor} \leq 0.05$ significa que hay diferencias significativas entre los grupos de estudio.

El índice de placa general (IP) disminuyó prácticamente el doble en el grupo probiótico versus placebo entre el inicio y los 30 días, tanto en pacientes con mucositis (13% vs 7.1%) como con periimplantitis (13% vs 7.7%), y luego mejoró levemente hasta los 90 días. Aunque la disminución del IP a lo largo del tiempo fue estadísticamente significativa en los implantes con mucositis y periimplantitis, no se encontraron diferencias significativas entre el grupo probiótico y placebo en los diferentes intervalos de tiempo ($p > 0.05$) (véase Figura 7 y 8).

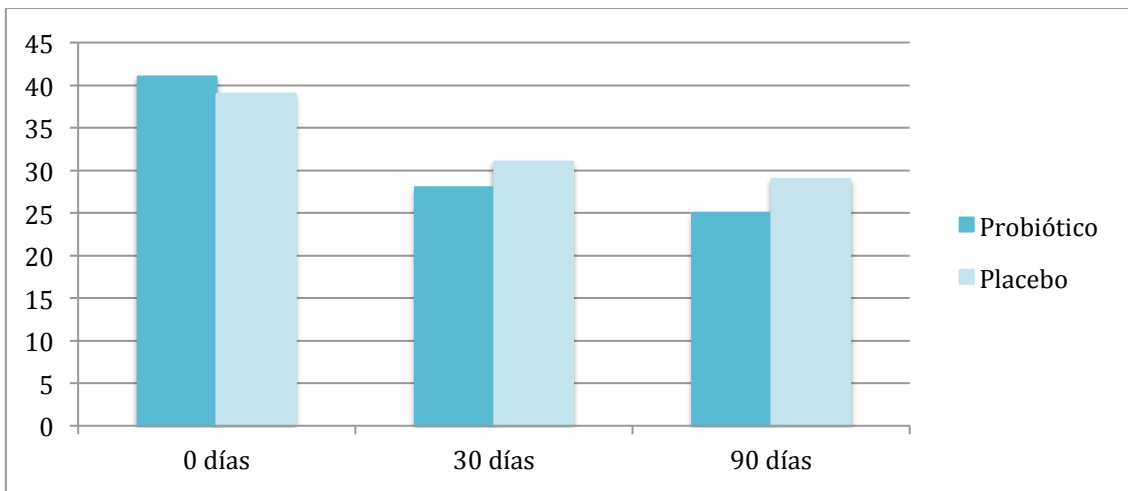


Figura 7. Índice de placa general de los pacientes con mucositis. El eje Y representa el porcentaje de índice de placa y el eje X los intervalos de tiempo (0, 30 y 90 días).

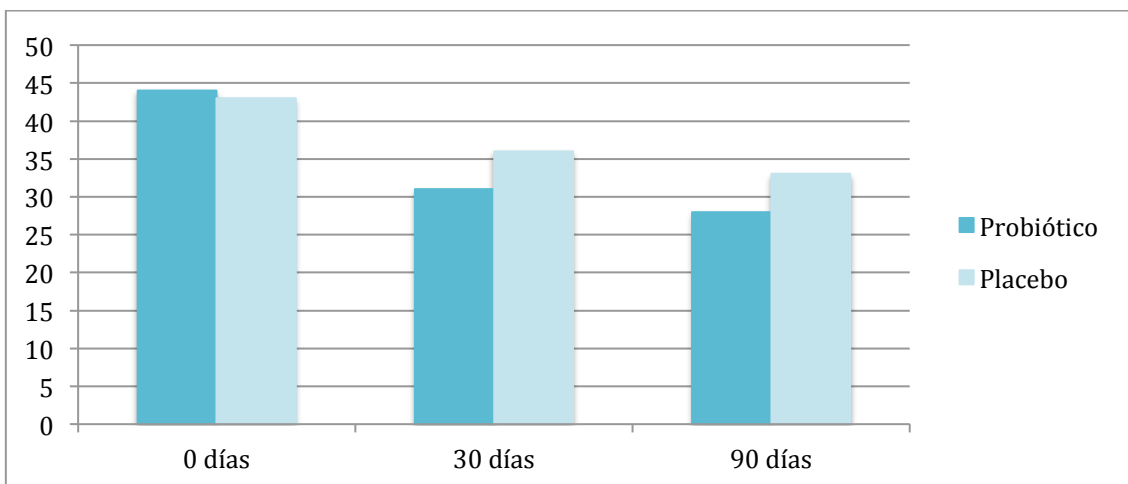


Figura 8. Índice de placa general de los pacientes con periimplantitis. El eje Y representa el porcentaje de índice de placa y el eje X los intervalos de tiempo (0, 30 y 90 días).

RESULTADOS

El sangrado al sondaje general (BOP) disminuyó aproximadamente tres veces más tras el tratamiento probiótico que placebo en pacientes con mucositis (27% vs 8%) o periimplantitis (20% vs 7.5%) a los 30 días, siendo estadísticamente significativo en mucositis (p 0.031). Posteriormente, se mantuvo estable e incluso mejoró ligeramente hasta los 90 días en ambos grupos de tratamiento (véase Figura 9 y 10).

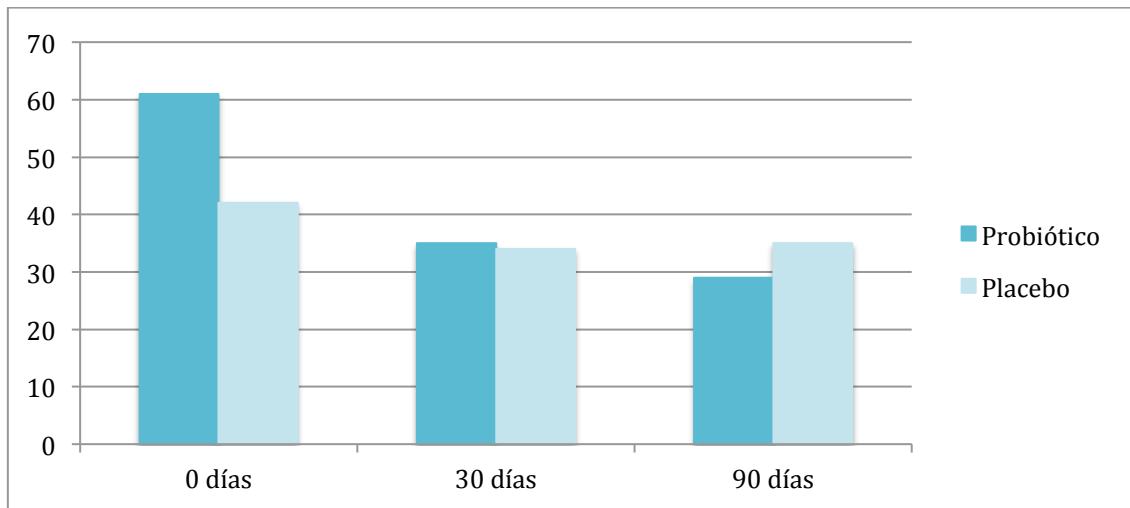


Figura 9. Sangrado al sondaje general de pacientes con mucositis. En el eje Y observamos el porcentaje de sangrado al sondaje y en el eje X los intervalos de tiempo (0, 30 y 90 días).

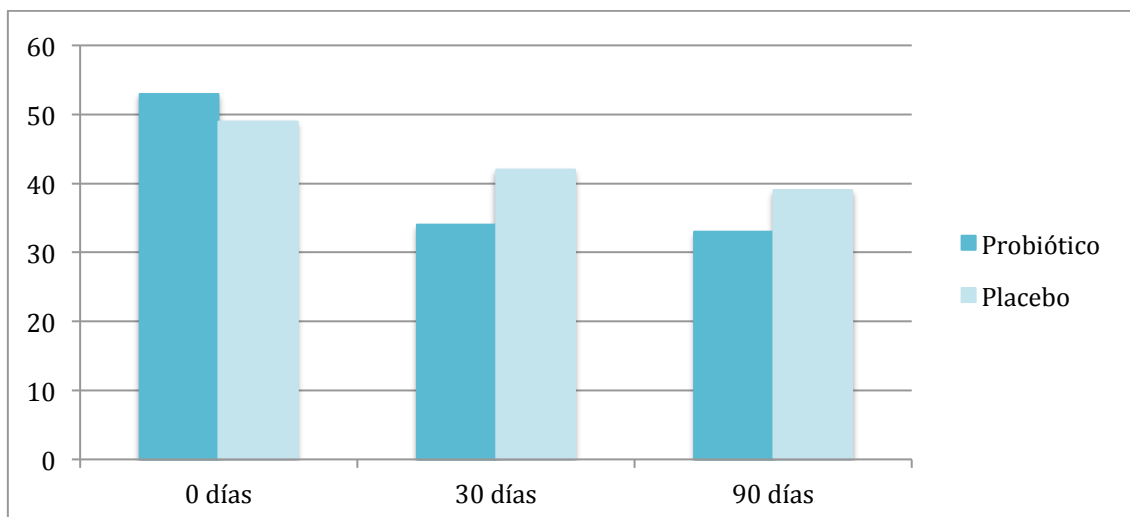


Figura 10. Sangrado al sondaje general de pacientes con periimplantitis. En el eje Y observamos el porcentaje de sangrado al sondaje y en el eje X los intervalos de tiempo (0, 30 y 90 días).

La profundidad de sondaje media (PS) disminuyó 0.3 mm y 0.5 mm en los implantes con mucositis y periimplantitis, respectivamente, a los 30 días de iniciar el tratamiento probiótico. En los implantes con mucositis la reducción fue similar entre el grupo probiótico y placebo, pero en los implantes con periimplantitis la disminución fue estadísticamente superior en el grupo probiótico (p 0.040). La PS de los implantes con mucositis mejoró 0.2mm en el grupo probiótico y empeoró 0.15mm en el grupo placebo entre los 30 y 90 días, siendo ésta diferencia estadísticamente significativa (p 0.000). Sin embargo, la PS de los implantes con periimplantitis permaneció constante hasta los 90 días, tanto en el grupo placebo como probiótico. Así pues, a los 90 días los implantes con mucositis y periimplantitis que recibieron tratamiento probiótico presentaron una reducción de la PS de 0.5mm y los que recibieron placebo mostraron una disminución de 0.2mm, siendo estadísticamente significativo en periimplantitis (p 0.036) (véase Figura 11 y 12).

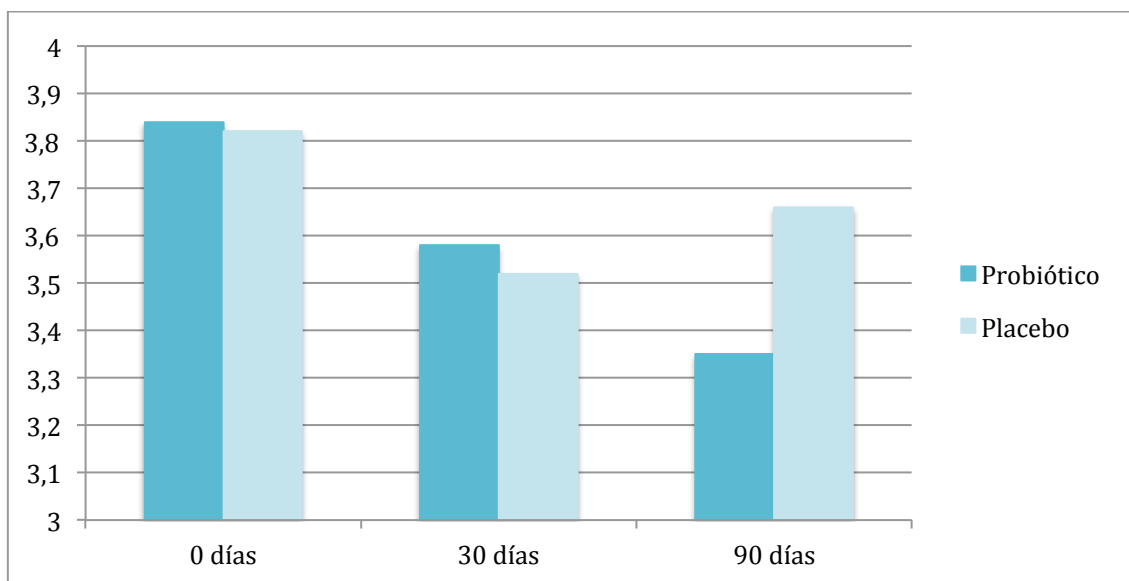


Figura 11. Profundidad de sondaje de los implantes con mucositis tras la terapia probiótica o placebo a lo largo del tiempo. En el eje Y observamos los milímetros de profundidad de sondaje y en el eje X los intervalos de tiempo (0, 30 y 90 días).

RESULTADOS

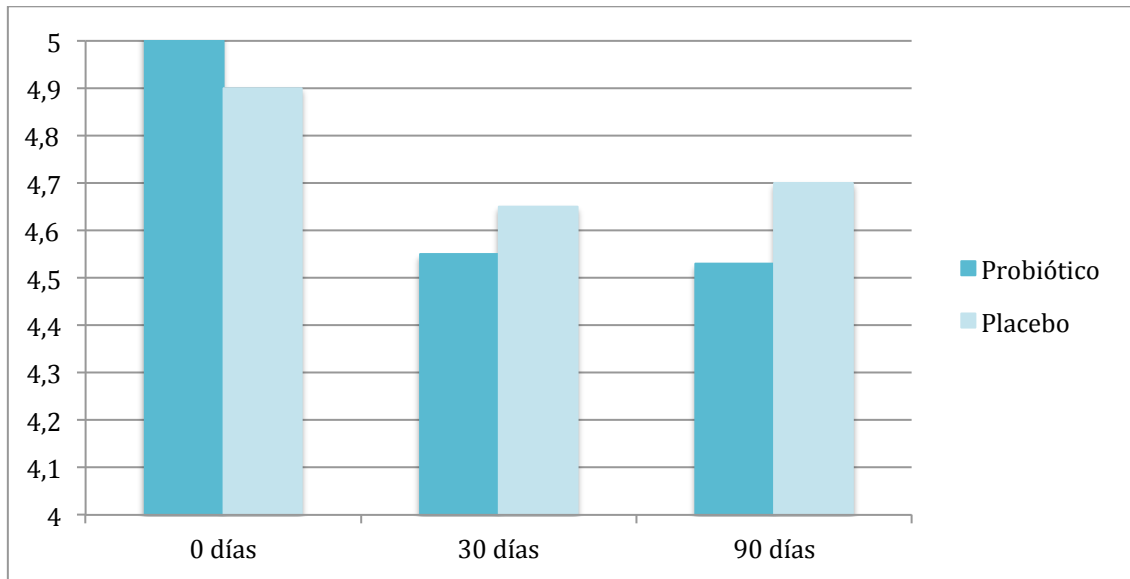


Figura 12. Profundidad de sondaje de los implantes con periimplantitis tras la terapia probiótica o placebo a lo largo del tiempo. En el eje Y observamos los milímetros de profundidad de sondaje y en el eje X los intervalos de tiempo (0,30 y 90 días)

Para evaluar el IPI y BOPI analizamos el porcentaje de implantes que mostraban presencia de placa bacteriana o sangrado al sondaje en un inicio y ausencia a los 30 o 90 días y lo denominamos como cambios positivos. De igual modo, evaluamos el porcentaje de implantes que no presentaban placa bacteriana o sangrado al sondaje en un inicio y si a los 30 o 90 días y lo denominamos como cambios negativos.

El índice de placa a nivel de los implantes mejoró cuatro veces más tras 30 días de haber recibido el tratamiento probiótico que placebo (36.4% vs 9.1%) en implantes con mucositis y dos veces más en implantes con periimplantitis (54.5% vs 27.3%), sin diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$). Así pues, por un lado, el 36.4% y 9.1% de los implantes con mucositis que recibieron tratamiento probiótico o placebo, respectivamente, mostraron cambios positivos a los 30 días. Por otro lado, el 54.5% y 27.3% de los implantes con periimplantitis que recibieron tratamiento probiótico o placebo, respectivamente, mostraron cambios positivos en el mismo intervalo de tiempo (véase Figura 13 y 14).

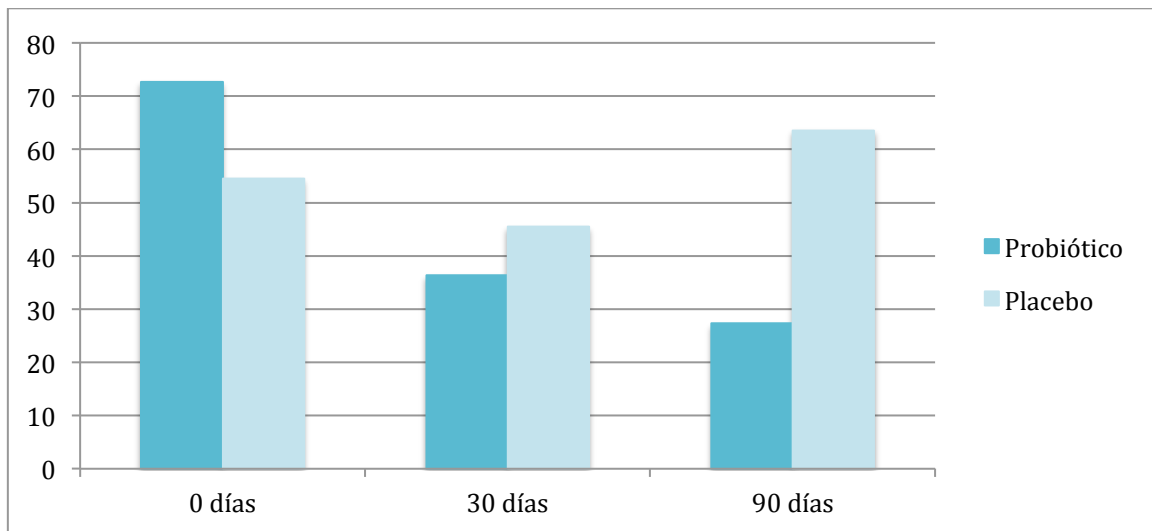


Figura 13. Índice de placa a nivel de los implantes con mucositis. El eje Y representa el porcentaje de implantes con presencia de placa bacteriana y el eje X los intervalos de tiempo (0 y 30 días)

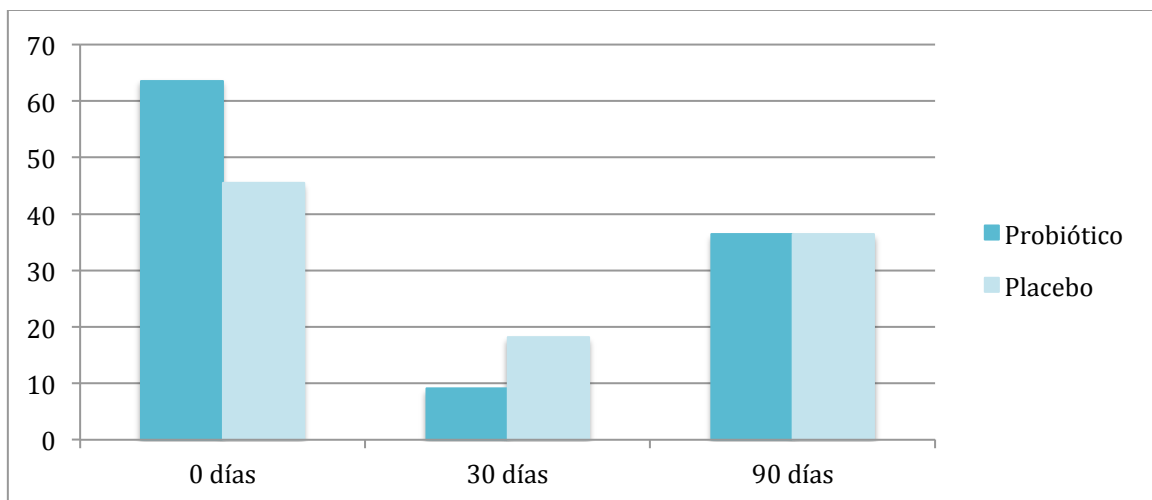


Figura 14. Índice de placa a nivel de los implantes con periimplantitis. El eje Y representa el porcentaje de implantes con presencia de placa bacteriana y el eje X los intervalos de tiempo (0 y 30 días).

Todos los implantes con mucositis que mostraron cambios positivos en el IPI a los 30 días de haber recibido el RAR junto con el probiótico, se mantuvieron sin placa hasta los 90 días. Sin embargo, todos los que no recibieron probiótico presentaron placa al finalizar el estudio (p 0.05). Además, la mitad de los implantes con periimplantitis que mostraron cambios positivos en el IPI a los 30 días de haber recibido el RAR con o sin probiótico, permanecieron sin placa hasta los 90 días.

RESULTADOS

La reducción del sangrado al sondaje a nivel de los implantes (BOPI) con mucositis y periimplantitis fue mayor después de realizar el RAR junto con la terapia probiótica que con el RAR sólo, siendo estadísticamente significativa en implantes con periimplantitis entre el inicio y los 30 días (p 0.018) y manteniéndose a los 90 días (p 0.045) (véase Figura 15 y 16).

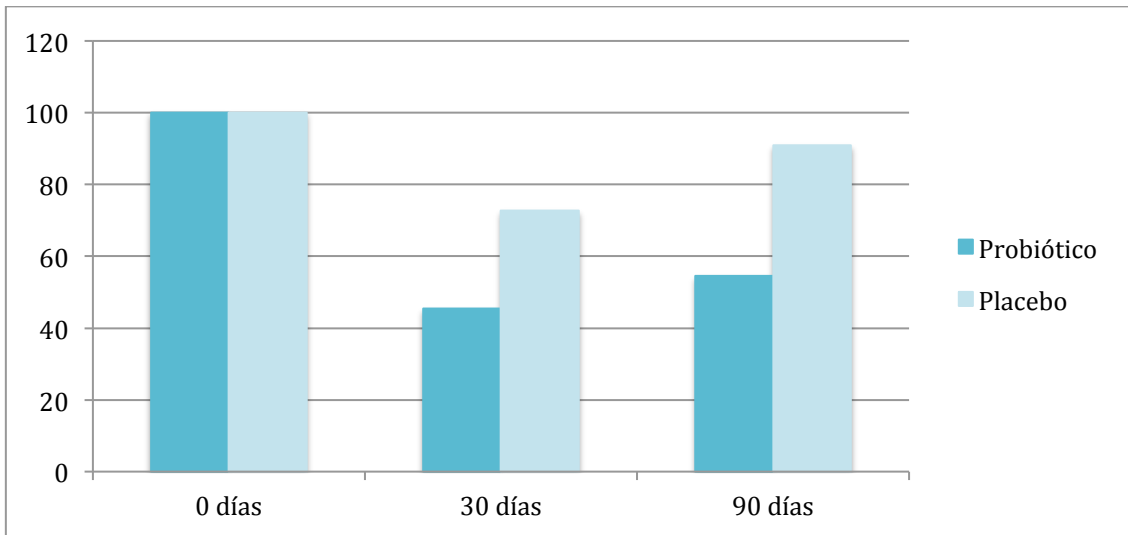


Figura 15. Sangrado al sondaje a nivel de los implantes con mucositis. El eje Y representa el porcentaje de implantes con sangrado al sondaje y el eje X los intervalos de tiempo (0 y 30 días).

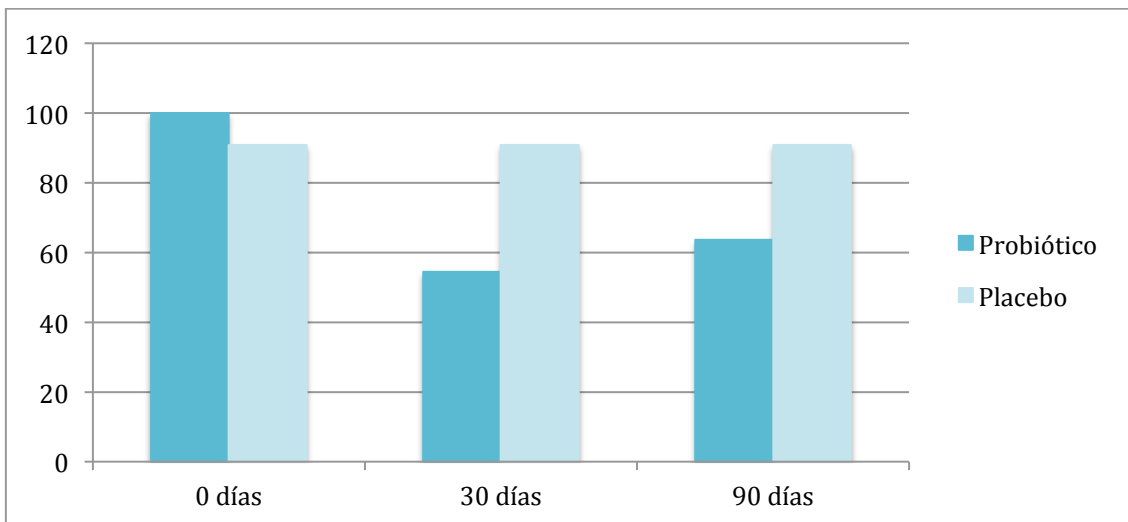


Figura 16. Sangrado al sondaje a nivel de los implantes con periimplantitis. El eje Y representa el porcentaje de implantes con sangrado al sondaje y el eje X los intervalos de tiempo (0 y 30 días).

6.2.3.- Eficacia del probiótico sobre los parámetros microbiológicos

6.2.3.1.- Parámetros microbiológicos iniciales

El examen microbiológico inicial (véase Tabla 7) reveló que la carga bacteriana total presente en la microbiota subgingival de los implantes con mucositis era mayor en el grupo probiótico que placebo, sin llegar a ser estadísticamente significativo (p 0.064). Asimismo, la carga bacteriana de *P. gingivalis* al inicio del estudio fue superior en los implantes con mucositis del grupo probiótico que placebo, sin alcanzar el nivel de significancia (p 0.095). Sin embargo, la carga bacteriana total de los implantes con periimplantitis fue ligeramente superior en el grupo placebo ($p > 0.05$). Cabe destacar que la carga bacteriana inicial de los implantes con periimplantitis fue mayor que en mucositis.

| | MUCOSITIS | | | PERIIMPLANTITIS | | |
|----------------------------------|-------------|---------------|------------|-----------------|---------------|------------|
| | GRUPO TEST | GRUPO PLACEBO | p -valor | GRUPO TEST | GRUPO PLACEBO | p -valor |
| <i>A. actinomycetem-comitans</i> | 0.00 ± 0.00 | 0.00 ± 0.00 | - | 0.00 ± 0.00 | 0.00 ± 0.00 | - |
| <i>P. gingivalis</i> | 3.99 ± 3.28 | 1.77 ± 2.62 | 0.095 | 5.20 ± 2.90 | 4.81 ± 3.29 | 0.776 |
| <i>T. forsythia</i>) | 3.22 ± 2.59 | 2.42 ± 2.37 | 0.456 | 5.46 ± 1.20 | 5.06 ± 1.87 | 0.563 |
| <i>T. denticola</i> | 3.44 ± 2.78 | 1.57 ± 2.28 | 0.100 | 3.80 ± 3.16 | 4.33 ± 2.92 | 0.688 |
| <i>P. intermedia</i> | 4.65 ± 3.02 | 5.30 ± 1.07 | 0.513 | 6.10 ± 2.34 | 6.43 ± 2.22 | 0.742 |
| <i>P. micros</i> | 3.95 ± 2.00 | 3.67 ± 1.96 | 0.738 | 5.88 ± 0.78 | 6.10 ± 0.61 | 0.474 |
| <i>F. nucleatum</i> | 5.82 ± 0.99 | 5.30 ± 1.01 | 0.239 | 6.78 ± 0.97 | 6.81 ± 0.66 | 0.946 |
| <i>C. rectus</i> | 5.03 ± 1.89 | 3.92 ± 2.54 | 0.257 | 5.97 ± 1.16 | 6.07 ± 0.86 | 0.807 |
| <i>E. corrodens</i> | 4.38 ± 2.26 | 3.50 ± 2.85 | 0.432 | 4.36 ± 2.94 | 5.72 ± 1.12 | 0.177 |
| Carga bacteriana total | 8.66 ± 0.73 | 8.02 ± 0.82 | 0.064 | 9.05 ± 1.11 | 9.31 ± 0.67 | 0.516 |

Tabla 7. Descripción microbiológica al inicio del estudio. Se expresa en logaritmos la media ± desviación estándar de la carga bacteriana de cada una de las especies bacterianas analizadas. Se aplicó la t-student para observar si habían diferencias dentro del mismo grupo de estudio o entre probiótico y placebo a lo largo del tiempo. $p \leq 0.05$ significa que hay diferencias significativas entre los grupos de estudio.

6.2.3.2.- Evolución de los parámetros microbiológicos a lo largo del tiempo

El tratamiento probiótico y placebo no presentaron diferencias estadísticamente significativas en la composición de la microbiota subgingival de los implantes con mucositis y periimplantitis en los diferentes intervalos de tiempo (véase Tabla 8 y 9).

En los implantes con mucositis, se observó una disminución no estadísticamente significativa de la carga bacteriana de *T. forsythia* y *E. corrodens* a los 30 días de iniciar la terapia probiótica, con el aumento respectivo en el grupo placebo. Además, la concentración subgingival de *E. corrodens* fue mejorando hasta los 90 días. Asimismo, la carga de *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *F. nucleatum* y *C. rectus* se fue reduciendo en el grupo probiótico y aumentando en el grupo placebo entre los 30 y 90 días, siendo estadísticamente significativo en el caso de *P. gingivalis* entre el inicio y los 90 días (p -valor 0.031).

En los implantes con periimplantitis hubo un aumento de la concentración de la mayoría de las bacterias a los 30 días de iniciar la terapia probiótica y una reducción gradual hasta los 90 días. Sin embargo, en el grupo placebo hubo una reducción de la carga bacteriana inmediatamente tras el RAR y un aumento progresivo de la misma hasta finalizar el estudio.

Cabe mencionar que la carga bacteriana total fue mayor en los implantes con periimplantitis que mucositis en todos los intervalos de tiempo.

RESULTADOS

| MUCOSITIS | | 0 | 30 | 90 | 0-30 | | 30-90 | | 0-90 | |
|----------------------------|------------|-------------|-------------|-------------|--------------|---------|--------------|---------|--------------|---------|
| | | Media ± DE | Media ± DE | Media ± DE | Diferencia | p-valor | Diferencia | p-valor | Diferencia | p-valor |
| A. actinomyces-temcomitans | Probiótico | 0.00 ± 0.00 | 0.00 ± 0.00 | 0.00 ± 0.00 | 0.00 ± 0.00 | ----- | 0.00 ± 0.00 | ----- | 0.00 ± 0.00 | ----- |
| | Placebo | 0.00 ± 0.00 | 0.00 ± 0.00 | 0.00 ± 0.00 | 0.00 ± 0.00 | ----- | 0.00 ± 0.00 | ----- | 0.00 ± 0.00 | ----- |
| | p-valor | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- |
| P. gingivalis | Probiótico | 3.99 ± 3.28 | 4.07 ± 3.38 | 3.65 ± 3.11 | 0.08 ± 0.51 | 0.614 | -0.42 ± 0.89 | 0.152 | -0.34 ± 0.88 | 0.233 |
| | Placebo | 1.77 ± 2.62 | 2.43 ± 2.95 | 2.77 ± 2.89 | 0.67 ± 1.42 | 0.151 | 0.34 ± 1.54 | 0.479 | 1.01 ± 1.65 | 0.070 |
| | p-valor | 0.095 | 0.242 | 0.501 | 0.221 | | 0.173 | | 0.031* | |
| T. forsythia | Probiótico | 3.22 ± 2.59 | 1.96 ± 2.77 | 2.65 ± 2.59 | -1.27 ± 2.31 | 0.099 | 0.70 ± 3.12 | 0.476 | -0.57 ± 2.66 | 0.493 |
| | Placebo | 2.42 ± 2.37 | 2.66 ± 2.67 | 3.06 ± 2.51 | 0.25 ± 2.67 | 0.766 | 0.40 ± 2.95 | 0.664 | 0.64 ± 2.22 | 0.360 |
| | p-valor | 0.456 | 0.549 | 0.710 | 0.171 | | 0.821 | | 0.259 | |
| T. denticola | Probiótico | 3.44 ± 2.78 | 3.91 ± 2.61 | 4.11 ± 2.23 | 0.48 ± 1.26 | 0.238 | 0.19 ± 2.09 | 0.767 | 0.67 ± 2.32 | 0.361 |
| | Placebo | 1.57 ± 2.28 | 1.97 ± 2.76 | 1.91 ± 2.73 | 0.40 ± 2.01 | 0.527 | -0.06 ± 2.50 | 0.940 | 0.34 ± 2.50 | 0.662 |
| | p-valor | 0.100 | 0.104 | 0.052 | 0.913 | | 0.802 | | 0.752 | |
| P. intermedia | Probiótico | 4.65 ± 3.02 | 4.97 ± 3.26 | 4.73 ± 3.12 | 0.32 ± 2.81 | 0.717 | -0.24 ± 3.06 | 0.798 | 0.07 ± 0.93 | 0.795 |
| | Placebo | 5.30 ± 1.07 | 4.77 ± 2.52 | 5.77 ± 1.33 | -0.53 ± 2.56 | 0.509 | 1.00 ± 3.01 | 0.296 | 0.47 ± 1.57 | 0.341 |
| | p-valor | 0.513 | 0.877 | 0.323 | 0.470 | | 0.348 | | 0.480 | |
| P. micros | Probiótico | 3.95 ± 2.00 | 4.48 ± 1.71 | 4.46 ± 2.33 | 0.53 ± 1.12 | 0.149 | -0.02 ± 1.43 | 0.968 | 0.51 ± 0.73 | 0.044* |
| | Placebo | 3.67 ± 1.96 | 4.66 ± 1.74 | 4.91 ± 1.92 | 0.99 ± 2.41 | 0.202 | 0.25 ± 1.13 | 0.484 | 1.24 ± 2.41 | 0.118 |
| | p-valor | 0.738 | 0.810 | 0.630 | 0.568 | | 0.633 | | 0.346 | |
| F. nucleatum | Probiótico | 5.82 ± 0.99 | 6.14 ± 1.17 | 5.93 ± 1.02 | 0.32 ± 0.49 | 0.057 | -0.21 ± 1.01 | 0.498 | 0.10 ± 0.78 | 0.669 |
| | Placebo | 5.30 ± 1.01 | 6.05 ± 0.90 | 6.04 ± 0.95 | 0.74 ± 0.95 | 0.027* | -0.01 ± 0.89 | 0.973 | 0.73 ± 0.97 | 0.031* |
| | p-valor | 0.239 | 0.833 | 0.799 | 0.202 | | 0.620 | | 0.110 | |
| C. rectus | Probiótico | 5.03 ± 1.89 | 5.19 ± 2.00 | 4.40 ± 2.31 | 0.16 ± 0.55 | 0.355 | -0.79 ± 1.80 | 0.177 | -0.63 ± 1.59 | 0.220 |
| | Placebo | 3.92 ± 2.54 | 4.62 ± 2.40 | 4.92 ± 1.75 | 0.71 ± 1.61 | 0.175 | 0.30 ± 1.60 | 0.546 | 1.01 ± 2.07 | 0.137 |
| | p-valor | 0.257 | 0.553 | 0.558 | 0.299 | | 0.149 | | 0.051 | |
| E. corrodens | Probiótico | 4.38 ± 2.26 | 3.83 ± 3.11 | 2.83 ± 2.76 | -0.55 ± 2.43 | 0.469 | -1.00 ± 1.82 | 0.097 | -1.55 ± 2.38 | 0.055 |
| | Placebo | 3.50 ± 2.85 | 4.90 ± 2.54 | 4.09 ± 2.14 | 1.39 ± 2.22 | 0.064 | -0.81 ± 2.65 | 0.336 | 0.58 ± 3.24 | 0.563 |
| | p-valor | 0.432 | 0.390 | 0.245 | 0.064 | | 0.843 | | 0.093 | |
| Carga bacteriana total | Probiótico | 8.66 ± 0.73 | 8.80 ± 1.11 | 8.54 ± 1.11 | 0.14 ± 0.56 | 0.425 | -0.26 ± 0.95 | 0.386 | -0.12 ± 0.88 | 0.664 |
| | Placebo | 8.02 ± 0.82 | 8.66 ± 0.75 | 8.38 ± 0.93 | 0.65 ± 0.71 | 0.013* | -0.28 ± 0.89 | 0.316 | 0.36 ± 1.01 | 0.265 |
| | p-valor | 0.064 | 0.725 | 0.705 | 0.079 | | 0.953 | | 0.250 | |

Tabla 8. Descripción microbiológica de los implantes con mucositis en los diferentes intervalos de tiempo. La t-student se utilizó para evaluar si había diferencias significativas dentro del mismo grupo o entre grupos de estudio a lo largo del tiempo. $p \leq 0.05$ significa que hay diferencias significativas.

RESULTADOS

| PERIIMPLANTITIS | | 0 | 30 | 90 | 0-30 | | 30-90 | | 0-90 | |
|----------------------------|------------|-------------|-------------|-------------|--------------|---------|--------------|---------|--------------|---------|
| | | Media ± DE | Media ± DE | Media ± DE | Diferencia | p-valor | Diferencia | p-valor | Diferencia | p-valor |
| A. actinomyces-temcomitans | Probiótico | 0.00 ± 0.00 | 0.00 ± 0.00 | 0.00 ± 0.00 | 0.00 ± 0.00 | ----- | 0.00 ± 0.00 | ----- | 0.00 ± 0.00 | ----- |
| | Placebo | 0.00 ± 0.00 | 0.00 ± 0.00 | 0.00 ± 0.00 | 0.00 ± 0.00 | ----- | 0.00 ± 0.00 | ----- | 0.00 ± 0.00 | ----- |
| | p-valor | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- | ----- |
| P. gingivalis | Probiótico | 5.20 ± 2.90 | 5.74 ± 3.08 | 5.21 ± 2.86 | 0.54 ± 1.01 | 0.106 | -0.53 ± 1.20 | 0.174 | 0.02 ± 1.08 | 0.962 |
| | Placebo | 4.81 ± 3.29 | 4.75 ± 3.34 | 4.91 ± 3.43 | -0.06 ± 0.87 | 0.820 | 0.15 ± 1.06 | 0.643 | 0.09 ± 1.19 | 0.802 |
| | p-valor | 0.776 | 0.480 | 0.823 | 0.148 | | 0.173 | | 0.876 | |
| T. forsythia | Probiótico | 5.46 ± 1.20 | 5.60 ± 1.09 | 4.78 ± 2.45 | 0.14 ± 1.00 | 0.649 | -0.82 ± 1.95 | 0.192 | -0.68 ± 1.98 | 0.280 |
| | Placebo | 5.06 ± 1.87 | 4.54 ± 2.34 | 4.89 ± 2.48 | -0.52 ± 2.64 | 0.528 | 0.34 ± 2.31 | 0.631 | -0.18 ± 1.58 | 0.720 |
| | p-valor | 0.563 | 0.190 | 0.917 | 0.446 | | 0.215 | | 0.517 | |
| T. denticola | Probiótico | 3.80 ± 3.16 | 4.04 ± 3.26 | 3.14 ± 3.14 | 0.24 ± 0.64 | 0.241 | -0.91 ± 2.97 | 0.335 | -0.67 ± 3.08 | 0.489 |
| | Placebo | 4.33 ± 2.92 | 3.73 ± 3.12 | 3.30 ± 3.26 | -0.60 ± 1.92 | 0.328 | -0.43 ± 1.20 | 0.257 | -1.03 ± 2.25 | 0.159 |
| | p-valor | 0.688 | 0.823 | 0.905 | 0.186 | | 0.632 | | 0.756 | |
| P. intermedia | Probiótico | 6.10 ± 2.34 | 7.18 ± 0.88 | 6.06 ± 2.18 | 1.08 ± 2.47 | 0.178 | -1.12 ± 2.14 | 0.112 | -0.05 ± 3.36 | 0.964 |
| | Placebo | 6.43 ± 2.22 | 5.67 ± 2.96 | 5.47 ± 2.91 | -0.76 ± 2.36 | 0.314 | -0.20 ± 4.25 | 0.876 | -0.96 ± 3.68 | 0.407 |
| | p-valor | 0.742 | 0.122 | 0.599 | 0.090 | | 0.529 | | 0.550 | |
| P. micros | Probiótico | 5.88 ± 0.78 | 4.81 ± 2.48 | 5.32 ± 1.94 | -1.07 ± 2.79 | 0.233 | 0.51 ± 2.89 | 0.571 | -0.56 ± 1.41 | 0.219 |
| | Placebo | 6.10 ± 0.61 | 5.30 ± 1.94 | 5.97 ± 0.69 | -0.79 ± 1.91 | 0.197 | 0.67 ± 2.09 | 0.316 | -0.13 ± 0.62 | 0.508 |
| | p-valor | 0.474 | 0.611 | 0.311 | 0.792 | | 0.886 | | 0.368 | |
| F. nucleatum | Probiótico | 6.78 ± 0.97 | 5.60 ± 2.92 | 6.64 ± 1.18 | -1.18 ± 3.19 | 0.247 | 1.04 ± 0.78 | 0.246 | -0.15 ± 0.97 | 0.626 |
| | Placebo | 6.81 ± 0.66 | 6.59 ± 0.72 | 6.94 ± 0.50 | -0.22 ± 0.83 | 0.403 | 0.35 ± 0.74 | 0.147 | 0.13 ± 0.71 | 0.554 |
| | p-valor | 0.946 | 0.289 | 0.445 | 0.343 | | 0.446 | | 0.452 | |
| C. rectus | Probiótico | 5.97 ± 1.16 | 4.95 ± 2.58 | 5.80 ± 1.02 | -1.02 ± 2.99 | 0.286 | 0.84 ± 2.63 | 0.312 | -0.17 ± 1.02 | 0.592 |
| | Placebo | 6.07 ± 0.86 | 5.67 ± 1.98 | 6.20 ± 0.87 | -0.40 ± 1.90 | 0.500 | 0.53 ± 1.56 | 0.286 | 0.13 ± 0.88 | 0.639 |
| | p-valor | 0.807 | 0.470 | 0.326 | 0.571 | | 0.736 | | 0.471 | |
| E. corrodens | Probiótico | 4.36 ± 2.94 | 4.48 ± 2.99 | 3.77 ± 2.66 | 0.12 ± 3.43 | 0.909 | -0.71 ± 3.02 | 0.453 | -0.59 ± 3.02 | 0.531 |
| | Placebo | 5.72 ± 1.12 | 5.00 ± 1.88 | 4.96 ± 1.79 | -0.73 ± 2.33 | 0.325 | -0.04 ± 2.46 | 0.961 | -0.76 ± 1.56 | 0.134 |
| | p-valor | 0.177 | 0.637 | 0.235 | 0.505 | | 0.573 | | 0.867 | |
| Carga bacteriana total | Probiótico | 9.05 ± 1.11 | 9.46 ± 0.93 | 8.96 ± 1.10 | 0.41 ± 1.11 | 0.252 | -0.50 ± 1.11 | 0.169 | -0.09 ± 1.06 | 0.790 |
| | Placebo | 9.31 ± 0.67 | 9.26 ± 0.66 | 9.33 ± 0.74 | -0.05 ± 0.83 | 0.834 | 0.07 ± 0.61 | 0.713 | 0.02 ± 0.88 | 0.954 |
| | p-valor | 0.516 | 0.561 | 0.377 | 0.284 | | 0.154 | | 0.807 | |

Tabla 9. Descripción microbiológica de los implantes con periimplantitis en los diferentes intervalos de tiempo. La t-student se utilizó para evaluar si había diferencias significativas dentro del mismo grupo o entre grupos de estudio a lo largo del tiempo. $p \leq 0.05$ significa que hay diferencias significativas.

7.- DISCUSIÓN

7.- DISCUSIÓN

Las enfermedades infecciosas constituyen un problema relevante en la salud actual y el aumento de las resistencias bacterianas a los antibióticos ha conducido a investigar otras terapias alternativas, tales como los probióticos.

El presente estudio clínico fue diseñado para evaluar el efecto del probiótico *L. reuteri* Prodentis (PerioBalance®, Sunstar, Suiza) como tratamiento coadyuvante a la terapia mecánica de implantes con mucositis o periimplantitis en pacientes con antecedentes de enfermedad periodontal.

La literatura actual parece indicar que el uso de *L. reuteri*, como terapia adjunta al tratamiento no quirúrgico de la gingivitis y la periodontitis, aporta un beneficio adicional al tratamiento mecánico sólo, a nivel clínico, microbiológico y de los marcadores proinflamatorios (22,23,30,32,33,187,200,186,47,48). Así pues, el beneficio que aportan los probióticos en el tratamiento de la gingivitis y la periodontitis y la evidencia limitada en el uso de los probióticos para el tratamiento de la mucositis y la periimplantitis, impulsó a realizar el presente estudio

Al iniciar esta investigación, no había ningún estudio publicado que evaluara el efecto de los probióticos orales en la enfermedad periimplantaria y sólo teníamos conocimiento que se estuviera realizando el de Flichy-Fernández *et al.* (24). Hasta la actualidad, los únicos estudios clínicos publicados que utilicen agentes probióticos en implantes, administran el probiótico *Lactobacillus reuteri* (24,34) o *L. plantarum* con *L. brevis* (35) en mucositis y la edad media de los pacientes incluidos fue similar a la presente investigación. Sin embargo, no hay evidencia científica que evalúe el posible beneficio de los probióticos orales en la prevención o tratamiento de la periimplantitis.

7.1.- Objetivo 1: Evaluar el efecto del probiótico oral *Lactobacillus reuteri* Prodentis en los parámetros clínicos.

Los resultados del presente estudio sugieren que la administración de un comprimido diario de *L. reuteri* Prodentis, como coadyuvante al tratamiento mecánico, produce una mejora adicional de los parámetros clínicos de implantes con mucositis y periimplantitis respecto el tratamiento mecánico sólo.

Se observó una reducción del IP y BOP general tras 30 días de haber realizado el RAR, siendo esta disminución dos y tres veces superior, respectivamente, en los pacientes que recibieron tratamiento probiótico que placebo. La mayoría de estudios que evalúan el efecto del probiótico *L. reuteri* en pacientes con periodontitis crónica coinciden con la presente investigación, puesto que observan una disminución adicional del IP y BOP a los 21 – 30 días de administrar el probiótico, sólo o como tratamiento coadyuvante al RAR, comparándolo con placebo o RAR sólo (22,23,32,200,186). Cabe destacar que estos estudios tampoco incluyeron pacientes fumadores y, por tanto, el BOP no estuvo modificado por el efecto del tabaco, y sólo seleccionaron pacientes con historia de periodontitis crónica leve o moderada. Así pues, basándonos en los estudios publicados, seleccionamos pacientes con antecedentes de periodontitis y no fumadores para conseguir una población homogénea.

Ésta mejoría adicional del IP y BOP, obtenida inmediatamente después de finalizar el tratamiento probiótico, se mantuvo constante hasta los 90 días sin modificar las instrucciones de higiene oral, coincidiendo con Ince *et al.* (200) y Tekce *et al.* (186), que demostraron estabilidad clínica a los 90, 180 y 360 días de finalizar la terapia probiótica sin re-instruir a los pacientes. Por contra, Twetman *et al.* (33), que no realizó tratamiento mecánico previo en pacientes con gingivitis, observó que el BOP aumentaba rápidamente después de suspender la administración del probiótico oral. El hecho que la interrupción mecánica del *biofilm* mejore el efecto de los probióticos orales porque facilita el reemplazo de las bacterias patógenas por bacterias beneficiosas (23) podría justificar la estabilidad clínica en el presente estudio.

Los resultados de la actual investigación difieren de otros reportados en la literatura, los cuales no observaron una mejoría del IP y BOP después de administrar el probiótico *L. reuteri* (187,201,202). Cabe mencionar que son estudios que sólo incluyeron pacientes periodontalmente sanos (201,202) o con gingivitis (187) y ninguno realizó el desbridamiento mecánico previo a la administración del probiótico oral (187,201,202).

El índice de placa (IPI) y de sangrado al sondaje (BOPI) a nivel de los implantes con mucositis o periimplantitis mejoró sobretodo después de 30 días de iniciar el tratamiento probiótico, coincidiendo con el estudio de Flichy-Fernández *et al.* (24), que observó una reducción significativa de ambas variables tras el tratamiento probiótico de implantes con mucositis. Cabe mencionar que Hallström *et al.* (34) y Mongardini *et al.* (35) observaron la misma mejoría y estabilidad a lo largo del tiempo del IPI y BOPI entre el grupo probiótico y placebo de implantes con mucositis. A diferencia de Flichy-Fernández *et al.* (24) y Mongardini *et al.* (35), Hallström *et al.* (34) presenta numerosas limitaciones, tales como unos criterios de exclusión poco restrictivos, la presencia de pacientes fumadores, un mayor número de fumadores en el grupo probiótico que placebo (29% vs 8%) y un mayor número de pacientes sistémicamente sanos en el grupo placebo que probiótico (64% vs 33%).

La PS a nivel de los implantes con mucositis y periimplantitis se redujo 0.5mm entre el inicio y los 90 días de realizar el tratamiento mecánico junto con probiótico y 0.2mm después de efectuar la terapia mecánica en combinación con el placebo. Por un lado, en los implantes con periimplantitis esta reducción se produjo a los 30 días y luego se mantuvo estable hasta los 90 días. Por otro lado, la reducción de la PS en los implantes con mucositis fue de 0.3mm a los 30 días y luego hubo una mejoría adicional de 0.2mm hasta los 90 días en el grupo probiótico. En el estudio de Hallström *et al.* (34), la mayor disminución de la PS también se produjo a los 30 días de haber realizado el desbridamiento mecánico y haber iniciado el tratamiento probiótico o placebo de implantes con mucositis, y permaneció invariable hasta los 90 y 180 días. Cabe decir que esta reducción de la PS fue de 0.5mm, sin diferencias entre el grupo probiótico y placebo (34). Sin embargo, en el estudio de Flichy-Fernández *et al.* (24), hubo

una reducción adicional de la PS de 0.09mm a los 30 días de iniciar el tratamiento probiótico, teniendo en cuenta que el probiótico se administró un mes después de realizar el desbridamiento mecánico de los implantes con mucositis.

El hecho que el probiótico *L. reuteri* Prodentis, asociado al desbridamiento mecánico de toda la boca, reduzca tanto el IP y BOP general de pacientes con periodontitis como el IP, BOP y PS de implantes con mucositis y periimplantitis, proporciona un enfoque terapéutico alternativo a considerar en el tratamiento de las enfermedades periodontales y periimplantarias.

7.2.- Objetivo 2: Evaluar el efecto del probiótico oral *Lactobacillus reuteri* Prodentis en la microflora periimplantaria subgingival de implantes con mucositis o periimplantitis.

Los resultados sugieren que la administración de un comprimido diario de *L. reuteri*, como coadyuvante al tratamiento mecánico, no produce una mejoría adicional respecto a la terapia mecánica sola en la disminución de la carga bacteriana presente en la microbiota subgingival de implantes con mucositis y periimplantitis. Sólo existe un estudio publicado en la literatura que evalúe el efecto del probiótico *L. reuteri* Prodentis a nivel de la microbiota periimplantaria, el cual analizó mediante hibridación checkerboard ADN-ADN la carga bacteriana presente en implantes con mucositis y, tras realizar el desbridamiento mecánico y administrar el probiótico, tampoco observó mejorías a nivel microbiológico en comparación con la terapia mecánica sola (34).

Existen varios estudios publicados que evalúan mediante cultivo el efecto del probiótico *L. reuteri* Prodentis a nivel de la placa subgingival de pacientes con gingivitis o periodontitis y revelan una reducción en el recuento de varios periodontopatógenos tras el tratamiento probiótico, tales como *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *F. nucleatum* y *P. intermedia* (23,187,186). Por el contrario, el único estudio que utiliza una técnica cuantitativa para cuantificar la microbiota subgingival de pacientes con periodontitis, la Real-Time PCR, evaluó cinco de las especies bacterianas que hemos analizado en el presente estudio y coincide con los resultados de la

actual investigación (32). Por un lado, no observó diferencias en la disminución de la carga bacteriana de *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia*, *P. intermedia* y *F. nucleatum* entre el grupo probiótico y placebo a lo largo del tiempo y, por el otro, también demostró una reducción significativa de la especie bacteriana *P. gingivalis* mediante el tratamiento probiótico.

El cultivo es una técnica tradicional y comúnmente utilizada en la detección de múltiples patógenos periodontales, pero no tiene la capacidad de detectar niveles bajos de microorganismos. Por este motivo se optó por utilizar la Real-Time PCR, que presenta una mayor sensibilidad y permite detectar cuantitativamente concentraciones más bajas de bacterias, entre 10^2 y 10^3 según el laboratorio Institut Clinident SAS. Así pues, a pesar que la Real-Time PCR permite identificar cantidades mínimas de patógenos que están por debajo del límite de detección del cultivo, hasta la actualidad las investigaciones que han demostrado un efecto beneficioso del probiótico *L. reuteri* a nivel de la microbiota periodontal y periimplantaria han utilizado técnicas de cultivo (23,187,186) y los estudios que no han observado diferencias entre utilizar el probiótico o no han utilizado técnicas cuantitativas, tales como la hibridación checkerboard ADN-ADN (34,201,202) o la Real-Time PCR (32). Por tanto, debemos tener en cuenta que la Real-Time PCR también tiene ciertas limitaciones, tales como las reacciones cruzadas y la sensibilidad técnica.

La selección de las bacterias analizadas se realizó en base a que en la composición de la microbiota asociada a la periimplantitis predominan las bacterias del complejo rojo y naranja (42,77), además de *A. actinomycetemcomitans* y *E. corrodens* (83,84). Cabe decir, que en ningún test microbiológico se detectó la presencia de *A. Actinomycetemcomitans*.

El Guidor Perio-Implant Diagnostic Test® (Sunstar S.A, Suiza) proporciona puntas de papel del #50 para la toma de las muestras subgingivales. El hecho de utilizar puntas de un calibre elevado dificulta la inserción de las mismas a nivel subgingival y, por tanto, puede obstaculizar el acceso a la base de la bolsa. Esto podría haber interferido en los resultados del presente estudio y explicar el aumento de la carga de algunas especies bacterianas después de

realizar el RAR y administrar el tratamiento probiótico o placebo. Por el contrario, pudimos observar que tanto la carga bacteriana total como la carga bacteriana de cada una de las bacterias analizadas al inicio fue superior en los implantes con periimplantitis que con mucositis.

Una de las limitaciones del presente estudio fue que no analizamos la colonización de *L. reuteri* a nivel subgingival en los diferentes tiempos de evaluación. Sin embargo, considerando que los probióticos ejercen su efecto beneficioso sin necesidad de colonizar o colonizando temporalmente la cavidad oral (164,99) y que hay estudios que observan mejoría clínica y microbiológica aún cuando han dejado de detectar *L. reuteri* en las muestras subgingivales (186), la cuantificación de *L. reuteri* no hubiera modificado las conclusiones de nuestro estudio.

7.3.- Aspectos metodológicos

Al analizar los estudios publicados en la literatura que utilizan el probiótico *L. reuteri* para el tratamiento de la gingivitis, la periodontitis y la mucositis, observamos que presentan heterogeneidad en la metodología utilizada, tanto a nivel de las cepas del probiótico empleadas, dosis diaria y duración del tratamiento activo, como a nivel de los pacientes incluidos, del tratamiento realizado, del momento de las evaluaciones clínicas, de los parámetros clínicos analizados y de los tests microbiológicos empleados (203).

7.3.1.- Tamaño muestral

Los dos estudios que evalúan el efecto del probiótico *L. reuteri* Prodentis en las enfermedades periimplantarias relatan cómo se determinó el tamaño muestral, es decir, el número de sujetos o implantes necesarios para dotar al estudio de la potencia suficiente para encontrar diferencias estadísticamente significativas entre grupos y conseguir que los datos obtenidos fueran representativos. Flichy-Fernández *et al.* (24), seleccionó 22 pacientes que presentaban 54 implantes sanos y 12 pacientes que poseían 23 implantes con mucositis, considerando que si un paciente presentaba un implante sano y otro con mucositis se clasificaba al paciente en el grupo de mucositis. El hecho de calcular el tamaño muestral tomando como unidad de estudio el implante e

incluir más de un implante por paciente conlleva a que los factores relacionados con el huésped puedan influir de manera relevante en los resultados obtenidos. En el presente trabajo, se realizó el cálculo del tamaño muestral utilizando el paciente como unidad de estudio, de manera que sólo se incluyó un implante por sujeto, coincidiendo con Hallström *et al.* (34) que seleccionó 49 pacientes que presentaran un implante con mucositis por sujeto.

La variable de estudio primaria fue la PS y el cálculo de la potencia del tamaño muestral se basó en una diferencia de PS de 1mm entre el grupo probiótico y placebo. Dado que la diferencia de PS obtenida entre ambos grupos osciló entre 0.33 y 0.35mm y considerando el control limitado sobre la presión ejercida al sondar, el aumento del número de implantes habría aumentado la probabilidad de dar resultados estadísticamente significativos y habría hecho que los datos obtenidos fueran más representativos.

7.3.2.- Población de estudio

En la presente investigación se excluyeron los pacientes fumadores para que el tabaco no tuviera ninguna influencia en los parámetros clínicos y microbiológicos evaluados. Además, en la selección de la población de estudio, se establecieron unos criterios de inclusión y exclusión muy restrictivos para minimizar la influencia de los factores relacionados con el huésped en los resultados obtenidos.

Los criterios de exclusión que se establecieron en este estudio fueron similares a los publicados por Flichy-Fernández *et al.* (24). Sin embargo, Hallström *et al.* (34) sólo excluyó pacientes con diabetes no controlada, mujeres embarazadas o lactantes y sujetos que hubieran tomado antibióticos o antiinflamatorios en los últimos 3 meses, sin tener en cuenta ni la existencia de otros antecedentes médicos o el uso de cualquier medicación, antiséptico o probiótico que pudiera afectar a nivel periodontal, ni si los pacientes habían recibido algún tratamiento periodontal quirúrgico recientemente.

7.3.3.- Definición de mucositis y periimplantitis

Los parámetros clínicos que se evaluaron para seleccionar los implantes con mucositis del presente trabajo coinciden con los utilizados por los otros estudios publicados sobre probióticos en implantes con mucositis (24,34,35).

Teniendo en cuenta que actualmente no hay evidencia científica que evalúe el efecto de los probióticos orales en el tratamiento de la periimplantitis y que aún no se ha establecido un consenso ni en la definición ni en los parámetros clínicos y radiográficos a evaluar para establecer el diagnóstico de la periimplantitis (56), estos se establecieron en base a los criterios de la VIII EWP 2012 (55), la AAP 2013 (194) y Atieh *et al.* 2013 (193). Los parámetros que se evaluaron para seleccionar los implantes con periimplantitis fueron inflamación de la mucosa, BOP y/o supuración, PS ≥ 5 mm y pérdida ósea radiográfica de ≥ 2 mm y/o ≥ 3 espiras del implante. Cabe destacar que para minimizar el sesgo en los resultados obtenidos, se excluyeron los implantes que presentaban movilidad y/o pérdida ósea radiográfica ≥ 5 mm y/o $\geq 50\%$ de la longitud del implante.

7.3.4.- Número de operadores y calibración

El hecho que un sólo examinador calibrado (D.P) registrara todas las variables del estudio y tomara las muestras microbiológicas al inicio, 30 y 90 días, minimizó el sesgo en los resultados de la investigación. En los estudios publicados que evalúan el efecto del probiótico en implantes también interviene un solo examinador calibrado (24,34,35).

7.3.5.- Cepas del probiótico *L. reuteri* Prodentis

La mayoría de estudios que utilizan el probiótico *L. reuteri* Prodentis (PerioBalance®, Sunstar, Suiza) en gingivitis o periodontitis (23,32,186,187,200) y los dos estudios que lo emplean en mucositis (24,34), lo administran en comprimidos que contienen una combinación de 10^8 CFU de la cepa DSM 17938 y 10^8 CFU de la cepa ATCC PTA 5289. Debido a los buenos resultados reportados, tanto a nivel periodontal como periimplantario, se eligieron las mismas cepas probióticas para realizar el presente trabajo.

7.3.6.- Dosis y duración del tratamiento probiótico

No existe un consenso sobre la dosis diaria y el tiempo de tratamiento necesario para que el probiótico *L. reuteri* tenga un efecto beneficioso en gingivitis y periodontitis, y éstos parámetros varían entre estudios. La mayoría de estudios administran dos comprimidos de *L. reuteri* al día, cada mañana y tarde después del cepillado dental, según recomendaciones de la casa comercial (23,30–32,186,200,202), y algunos un comprimido al día (22,187,201), generalmente durante 2 y 4 semanas, excepto Sinkiewicz *et al.* y Teughels *et al.* (32,201) que lo emplearon durante 12 semanas.

En los dos estudios publicados alrededor de implantes, Flichy-Fernández *et al.* utilizó un comprimido de *L. reuteri* al día durante 30 días (24) y Hallström *et al.* administró dos comprimidos de *L. reuteri* al día durante 12 semanas, además de la aplicación tópica profesional de un aceite experimental de *L. reuteri* (34). En el presente estudio se administró un comprimido de *L. reuteri* Prodentis al día durante 30 días, cada día por la noche después del cepillado dental, siendo la recomendación del fabricante y coincidiendo con en el estudio de Flichy-Fernández *et al.* (24).

7.3.7.- Tratamiento realizado

La literatura muestra que algunos estudios realizan el tratamiento mecánico y dan instrucciones de higiene oral antes de la administración del agente probiótico o placebo (24,30,32,34,186,200), mientras que otros estudios justifican utilizar el *L. reuteri* Prodentis como monoterapia, sin desbridamiento mecánico previo y sin modificar las instrucciones de higiene oral, para demostrar el efecto del probiótico por sí mismo y evitar enmascarar los resultados clínicos y microbiológicos (22,33,187).

Cabe destacar que hay un estudio (23) que evaluó el efecto del probiótico *L. reuteri* Prodentis en pacientes con periodontitis crónica con o sin RAR previo, a boca partida, y demostró que el uso del probiótico después del RAR conseguía una mayor reducción del IP, IG, BOP y PS que sin el RAR previo. Esto parece indicar que la interrupción mecánica del *biofilm* mejora el efecto de los probióticos orales, ya que simplemente empleando el probiótico, sin RAR

previo, sólo se obtuvo una reducción de la PS de 0.10mm (de 5.08 a 4.98mm) y una GI de 0.17mm (de 3.93 a 3.76mm). Sin embargo, administrando el probiótico después de realizar el RAR, se obtuvo una reducción de la PS de 1.31mm (de 5.08 a 3.78mm) y una GI de 1.09mm (de 3.93 a 2.85mm), teniendo en cuenta que sólo un tercio de ésta disminución se debía al RAR. El desbridamiento mecánico subgingival, sin el uso de un probiótico coadyuvante, consiguió una reducción de la PS de 0.49mm (de 5.26 a 4.77mm) y una GI de 0.29mm (de 4.46 a 4.17mm).

Por otro lado, existe falta de consenso entre los estudios publicados sobre el momento en que se administra el probiótico oral *L. reuteri* Prodentis. Algunos estudios empiezan el tratamiento probiótico inmediatamente después de realizar el RAR (32,34,186,200), mientras que otros lo empiezan entre las 2 (23,30) y 4 semanas (24) post-RAR.

Considerando que la disrupción mecánica del *biofilm* favorece el efecto de los probióticos y mejora la colonización por bacterias beneficiosas (23,99) y que los estudios que evalúan la eficacia del probiótico *L. reuteri* Prodentis en pacientes con mucositis realizan el tratamiento mecánico periimplantario previo a la administración del probiótico oral (24,34), en éste estudio se administró el probiótico inmediatamente después del desbridamiento mecánico del *biofilm* supra i subgingival de los implantes con mucositis y periimplantitis, respectivamente, con el fin de potenciar el efecto del probiótico. No obstante, se les pidió que no modificaran sus hábitos dietéticos ni de higiene oral y que no usaran ningún otro probiótico, antibiótico, antiséptico o antiinflamatorio durante todo el período de estudio para no interferir en los resultados.

7.3.8.- Evaluaciones clínicas y seguimiento de la muestra

Para poder comparar los resultados entre estudios sería necesario estandarizar los tiempos de evaluación. Las publicaciones sobre los probióticos en las enfermedades periodontales realizan una valoración inicial y otra entre los 14 (30,31,33), 21 (23,32,186,200,202) y 30 días (22,33,187) de haber recibido el agente probiótico, coincidiendo la mayoría de las veces con el cese del mismo. Así pues, aunque la mayoría de estudios realizan la última evaluación el día

que finalizan el tratamiento probiótico, algunos efectúan la valoración final a los 15 días (33) o al mes (187) de haber terminado el mismo. Cabe mencionar que hay dos estudios recientes que evalúan los cambios clínicos, microbiológicos y del FGC a los 339 días de haber acabado la terapia probiótica (186,200).

También existe diversidad en los tiempos en que se realizan las evaluaciones entre los estudios publicados en implantes. Mientras Hallström *et al.* (34) realizó las evaluaciones a los 30, 90 y 180 días después de iniciar la terapia probiótica, siendo el último registro tras 90 días de haber interrumpido la administración del mismo, Flichy-Fernández *et al.* (24) efectuó la última valoración 30 días después de empezar el tratamiento probiótico y coincidiendo con el cese del mismo.

Teniendo en cuenta que en el último consenso se determinó que, para evaluar terapias para el tratamiento de la mucositis, se deben realizar estudios de cómo mínimo tres meses de evolución (55), en el presente estudio se estableció una evaluación al inicio, otra a los 30 días (al acabar el tratamiento probiótico) y la valoración final se efectuó a los tres meses de realizar el tratamiento mecánico y administrar el probiótico oral. No obstante, sería interesante alargar el seguimiento del estudio para evaluar, por un lado, el efecto del probiótico *L. reuteri* como tratamiento coadyuvante al desbridamiento mecánico no quirúrgico de la mucositis y la periimplantitis a más largo plazo y, por otro, el momento en que disminuye la eficacia clínica y microbiológica del probiótico y se debe volver a administrar.

7.3.9.- Parámetros clínicos analizados

En los estudios publicados alrededor de implantes evalúan las mismas variables clínicas que en el presente trabajo, es decir, IP, BOP y PS. Flichy-Fernández *et al.* (24) evaluó los parámetros clínicos mencionados anteriormente sólo a nivel del implante, mientras que Hallström *et al.* (34) también tuvo en cuenta el IP general del paciente.

Las mediciones clínicas efectuadas en el presente estudio se realizaron en base al estudio de Vicario *et al.* (22), registrando los parámetros de PS, IP de O'Leary *et al.* (196) y BOP de Ainamo y Bay (197).

7.3.10.- Tests microbiológicos empleados.

Existen estudios que han evaluado el efecto del probiótico *L. reuteri* a nivel de la microbiota subgingival alrededor de dientes, utilizando técnicas de cultivo (23,186,187) o PCR cualitativa (187). Estos métodos tradicionales de detección bacteriana presentan ciertas limitaciones y, por este motivo, se han desarrollado técnicas microbiológicas cuantitativas que permiten analizar de manera más precisa los posibles cambios que se pueden producir en el *biofilm* oral. Hay tres estudios publicados en la literatura que evalúen cuantitativamente el efecto del probiótico *L. reuteri* en la microbiota subgingival (32,201,202). Un estudio evaluó la placa subgingival de pacientes sin enfermedad periodontal mediante hibridación checkerboard ADN-ADN (201), otro valoró a través de la misma técnica la placa supragingival de pacientes periodontalmente sanos que fueron sometidos a una gingivitis experimental (202) y el último analizó la microbiota subgingival de pacientes con periodontitis crónica mediante Real-Time PCR, cuantificando las cinco bacterias periodontopatógenas más comúnmente presentes en la periodontitis, *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia*, *P. gingivalis*, *P. intermedia* y *F. nucleatum* (32).

Hasta la actualidad, únicamente existe un estudio publicado en la literatura que evalúe el efecto del *L. reuteri* Prodentis a nivel de la microbiota subgingival periimplantaria (34) y analiza muestras obtenidas de implantes con mucositis mediante hibridación checkerboard ADN-ADN, con el fin de cuantificar la presencia de doce especies bacterianas, *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia*, *P. gingivalis*, *T. denticola*, *P. intermedia*, *F. nucleatum*, *C. rectus*, *P. nigrescens*, *Parvimonas micra*, *Porphyromonas endodontis*, *Filifactor alocis* y *Prevotella tanneriae*.

La principal diferencia del presente estudio respecto a otras publicaciones es que es el primer estudio que evalúa el efecto de los probióticos en implantes con periimplantitis y, además, utiliza un test microbiológico muy preciso que permite cuantificar la presencia de nueve bacterias periodontopatógenas mediante Real-Time PCR, *A. actinomycetemcomitans*, *T. forsythia*, *P. gingivalis*, *T. denticola*, *P. intermedia*, *P. micros*, *F. nucleatum*, *C. rectus* y *E.*

Corrodens. La elección de utilizar el Guidor Perio-Implant Diagnostic Test® (Sunstar S.A, Suiza) es porque el método de detección bacteriana que emplea, la Real-Time PCR, presenta un alto grado de sensibilidad y especificidad para la detección de microorganismos concretos, y además permite cuantificar un amplio espectro de patógenos periodontales (198,199).

7.3.11.- Estandarización de las variables de estudio

Es de vital importancia estandarizar el registro de las variables de estudio, así como las cepas y dosis del probiótico utilizado, el protocolo de tratamiento establecido, el momento de administración y duración de la terapia probiótica, los tiempos de evaluación, los criterios para definir exactamente la unidad de estudio, el test microbiológico empleado etc. para evitar heterogeneidad entre estudios y facilitar la comparación entre ellos.

7.3.12.- Colonización de *L. reuteri* a nivel subgingival

Teniendo en cuenta que la región subgingival no es un hábitat común para las especies de *Lactobacillus* (186,204), sería interesante saber cuánto tarda el *L. reuteri* en colonizar el área subgingival tras iniciar su administración y el tiempo que permanece a nivel subgingival tras cesar la toma del mismo.

Hay pocos estudios que evalúen la presencia del probiótico *L. reuteri* a nivel de la saliva o de la microbiota supra o subgingival. Por un lado, Iniesta *et al.* (187) observó que la colonización de *L. reuteri* en pacientes con gingivitis y sin tratamiento mecánico previo, era mayor en la saliva que a nivel subgingival, aumentando la presencia del mismo tras 14 días de iniciar el tratamiento probiótico, pero permaneció más tiempo en el área subgingival, hasta 75 días después de cesar la terapia probiótica. Además, demostró que la capacidad de colonización de la cepa ATTC-PTA-5289 era mayor que la cepa DSM-17938, tanto a nivel de la saliva (27.5% vs 10.6%) como a nivel subgingival (25.6% vs 2.5%). Por otro lado, Tekce *et al.* (186) observó que *L. reuteri* había colonizado el área subgingival después de 21 días de haber realizado el RAR e iniciado el tratamiento probiótico en pacientes con periodontitis, teniendo en cuenta que antes de empezar la terapia no se había detectado dicho probiótico a nivel subgingival en ningún paciente. Asimismo, *L. reuteri* fue identificado en el área

subgingival 70 días después de haber finalizado el tratamiento probiótico, pero no en la siguiente evaluación a los 180 días, hecho que indicaría que *L. reuteri* no llega a colonizar la cavidad oral de forma permanente y, en consecuencia, realza la necesidad de establecer intervalos de tratamiento.

Así pues, en base a la literatura, parece ser que la colonización de *L. reuteri* en el área subgingival empieza entre los 14 y 21 días de iniciar el tratamiento probiótico y permanece como mínimo hasta los 70-75 días de finalizar el mismo, tanto en pacientes con gingivitis (187) como con periodontitis crónica (186). A pesar que la microbiota preexistente y los factores ambientales podrían afectar a su colonización, sería necesario diseñar estudios que evalúen semanalmente la colonización de *L. reuteri* en el área subgingival durante un período mayor a 75 días tras cesar el tratamiento probiótico, estandarizando la dosis y duración de dicha terapia y utilizando técnicas de detección cuantitativas más precisas, para poder establecer y protocolizar el período óptimo de tratamiento y los intervalos de administración del mismo.

7.4.- Limitaciones

Las limitaciones del presente estudio son el tamaño muestral porque, aunque la potencia estadística era alta, incrementar la muestra hubiera aumentado la probabilidad de dar resultados estadísticamente significativos, el corto período de estudio, el uso de puntas de papel del #50 para la toma de las muestras subgingivales y la falta de estandarización de las variables de estudio con los dos estudios publicados sobre probióticos en mucositis, puesto que en el momento de iniciar el estudio no existía ninguna publicación.

7.5.- Futuras directrices

No hay suficiente evidencia científica que demuestre la eficacia de los probióticos en el tratamiento de las enfermedades periimplantarias. Así pues, es necesario realizar estudios prospectivos a largo plazo para evaluar el efecto del probiótico *L. reuteri* en el tratamiento de la enfermedad periodontal y periimplantaria y estandarizar las variables de estudio para establecer las cepas y dosis de probiótico idóneos y la duración e intervalos del tratamiento más eficaces. Además, puesto que los nuevos enfoques implantológicos se basan en modificar la superficie de los implantes con el fin de obtener, por un lado, una mejor osteointegración y, por otro, la inhibición o disminución de la adhesión y el crecimiento bacteriano a la superficie de los implantes, sugerimos aplicar un tratamiento con *L. reuteri* como método preventivo. La presencia de un probiótico en una superficie previo a la adhesión de un *biofilm* periimplantario podría proveer de propiedades antibacterianas que modifiquen la microbiota periimplantaria contribuyendo así a la prevención de la enfermedad.

8.- CONCLUSIONES

8.- CONCLUSIONES

La administración de un comprimido diario del probiótico oral *Lactobacillus reuteri* Prodentis durante 30 días como coadyuvante a la terapia mecánica de implantes con mucositis y periimplantitis en pacientes parcialmente edéntulos con antecedentes de enfermedad periodontal y no fumadores:

- 1.- Mejora los parámetros clínicos a nivel general (índice de placa y sangrado al sondaje) y a nivel del implante (índice de placa, profundidad de sondaje y sangrado al sondaje).
- 2.- No produce cambios significativos en la composición de la microbiota subgingival de implantes con mucositis y periimplantitis, pero disminuye significativamente la concentración de *P. gingivalis* en implantes con mucositis.
- 3.- No causa ningún efecto adverso percibido por parte del paciente o del investigador.
- 4.- Es una dosificación que los pacientes pueden cumplir con facilidad.

De acuerdo con los resultados del presente estudio, el efecto del probiótico *L. reuteri* Prodentis a nivel de la microbiota subgingival periimplantaria es mucho más limitado que a nivel clínico.

9.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Vouros ID, Kalpidis CDR, Horvath A, Petrie A, Donos N. Systematic assessment of clinical outcomes in bone-level and tissue-level endosseous dental implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2012;27(6):1359–74.
2. Jung RE, Pjetursson BE, Glauser R, Zembic A, Zwahlen M, Lang NP. A systematic review of the 5-year survival and complication rates of implant-supported single crowns. *Clin Oral Implants Res*. 2008;19(2):119–30.
3. Jung R, Zembic A, Pjetursson B, Zwahlen M, Thoma D. Systematic review of the survival rate and the incidence of biological, technical, and aesthetic complications of single crowns on implants reported in longitudinal studies with a mean follow-up of 5 years. *Clin Oral Implant Res*. 2012;23(Suppl 6):2–21.
4. Charyeva O, Altynbekov K, Zhartybaev R, Sabdanieliev A. Long-term dental implant success and survival--a clinical study after an observation period up to 6 years. *Swed Dent J*. 2012;36(1):1–6.
5. Sakka S, Baroudi K, Nassani MZ, Esposito M, Grusovin MG, Worthington H V, et al. Factors associated with early and late failure of dental implants. *CJ Investig Clin Dent*. 2012;3(4):258–61.
6. Esposito M, Hirsch JM, Lekholm U, Thomsen P. Biological factors contributing to failures of osseointegrated oral implants. (II). Etiopathogenesis. *Eur J Oral Sci*. 1998;106(3):721–64.
7. Tonetti MS. Risk factors for osseodisintegration. *Periodontol* 2000. 1998;17:55–62.
8. Berglundh T, Lindhe J, Marinello C, Ericsson I, Liljenberg B. Soft tissue reaction to de novo plaque formation on implants and teeth. An experimental study in the dog. *Clin Oral Implants Res*. 1992;3(1):1–8.
9. Lang NP, Brägger U, Walther D, Beamer B, Kornman KS. Ligature-induced peri-implant infection in cynomolgus monkeys. I. Clinical and radiographic findings. *Clin Oral Implants Res*. 1993;4(1):2–11.

10. Zitzmann NU, Berglundh T. Definition and prevalence of peri-implant diseases. *J Clin Periodontol*. 2008;35(Suppl. 8):286–91.
11. Renvert S, Roos-Jansåker AM, Claffey N. Non-surgical treatment of peri-implant mucositis and peri-implantitis: A literature review. *J Clin Periodontol*. 2008;35(Suppl. 8):305–15.
12. Schwarz F, Schmucker A, Becker J. Efficacy of alternative or adjunctive measures to conventional treatment of peri-implant mucositis and peri-implantitis: a systematic review and meta-analysis. *Int J Implant Dent*. 2015;1–22.
13. Suárez-López del Amo F, Yu S-H, Wang H-L. Non-Surgical Therapy for Peri-Implant Diseases: a Systematic Review. *J Oral Maxillofac Res*. 2016;7(3):1–14.
14. Mombelli A, Feloutzis A, Brägger U, Lang NP. Treatment of peri-implantitis by local delivery of tetracycline. Clinical, microbiological and radiological results. *Clin Oral Implants Res*. 2001;12(4):287–94.
15. Büchter A, Meyer U, Kruse-Lösler B, Joos U, Kleinheinz J. Sustained release of doxycycline for the treatment of peri-implantitis: randomised controlled trial. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2004;42(5):439–44.
16. Ramanauskaite A, Daugela P, Faria de Almeida R, Saulacic N. Surgical Non-Regenerative Treatments for Peri-Implantitis: a Systematic Review. *J Oral Maxillofac Res*. 2016;7(3):1–11.
17. Claffey N, Clarke E, Polyzois I, Renvert S. Surgical treatment of peri-implantitis. *J Clin Periodontol*. 2008;35(Suppl. 8):316–32.
18. Daugela P, Cicciù M, Saulacic N. Surgical Regenerative Treatments for Peri-Implantitis: Meta-analysis of Recent Findings in a Systematic Literature Review. *J Oral Maxillofac Res*. 2016;7(3):1–20.
19. Araya M, Morelli L, Reid G, Sanders ME, Stanton C, Pineiro M, et al. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. Report of a Joint

- FAO/WHO Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. 2002.
20. Broekaert IJ, Walker WA. Probiotics and chronic disease. *J Clin Gastroenterol*. 2006;40(3):270–4.
 21. de Vrese M, Schrezenmeir J. Probiotics, Prebiotics, and Synbiotics. *Adv Biochem Eng Biotechnol*. 2008;111:1–66.
 22. Vicario M, Santos A, Violant D, Nart J, Giner L. Clinical changes in periodontal subjects with the probiotic *Lactobacillus reuteri* Prodentis: A preliminary randomized clinical trial. *Acta Odontol Scand*. 2013;71:813–9.
 23. 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;2:1–9.
 24. Flichy-Fernández AJ, Ata-Ali J, Alegre-Domingo T, Candel-Martí E, Ata-Ali F, Palacio JR, et al. The effect of orally administered probiotic *Lactobacillus reuteri*-containing tablets in peri-implant mucositis: A double-blind randomized controlled trial. *J Periodontal Res*. 2015;50(6):775–85.
 25. Keller MK, Bardow A, Jensdottir T, Lykkeaa J, Twetman S. Effect of chewing gums containing the probiotic bacterium *Lactobacillus reuteri* on oral malodour. *Acta Odontol Scand*. 2012;70(3):246–50.
 26. Laleman I, Detailleur V, Slot DE, Slomka V, Quirynen M, Teughels W. Probiotics reduce mutans streptococci counts in humans: A systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Investig*. 2014;18(6):1539–52.
 27. Gruner D, Paris S, Schwendicke F. Probiotics for managing caries and periodontitis: Systematic review and meta-analysis. *J Dent*. 2016;48:16–25.
 28. Mendonça FHBP, Santos SSF, Faria I da S de, Golçalves e Silva CR, Jorge AOC, Leão MVP. Effects of Probiotic Bacteria on *Candida*

- Presence and IgA Anti- Candida in the Oral Cavity of Elderly. *Braz Dent J.* 2012;23:534–8.
29. Li D, Li Q, Liu C, Lin M, Li X, Xiao X, et al. Efficacy and safety of probiotics in the treatment of Candida-associated stomatitis. *Mycoses.* 2014;57(3):141–6.
30. Szkaradkiewicz AK, Stopa J, Karpiński TM. Effect of oral administration involving a probiotic strain of *Lactobacillus reuteri* on pro-inflammatory cytokine response in patients with chronic periodontitis. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2014;62(6):495–500.
31. Krasse P, Carlsson B, Dahl C, Paulsson A, Nilsson A, Sinkiewicz G. Decreased gum bleeding and reduced gingivitis by the probiotic *Lactobacillus reuteri*. *Swed Dent J.* 2006;30(2):55–60.
32. 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(11):1025–35.
33. Twetman S, Derawi B, Keller M, Ekstrand K, Yucel-Lindberg T, Stecksens-Blicks C. 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.
34. Hallström H, Lindgren S, Widén C, Renvert S, Twetman S. Probiotic supplements and debridement of peri-implant mucositis: A randomized controlled trial. *Acta Odontol Scand.* 2016;74(1):60–6.
35. Mongardini C, Pilloni A, Farina R, G DT, Adjunctive ZB, Farina R. Adjunctive efficacy of probiotics in the treatment of experimental peri-implant mucositis with mechanical and photodynamic therapy: a randomized , cross-over clinical trial. *J Clin Periodon.* 2017;44(4):410–7.
36. Chen LJ, Tsai HT, Chen WJ, Hsieh CY, Wang PC, Chen CS, et al. In vitro antagonistic growth effects of *Lactobacillus fermentum* and *Lactobacillus*

- salivarius and their fermentative broth on periodontal pathogens. *Brazilian J Microbiol.* 2012;43(4):1376–84.
37. Zhu Y, Xiao L, Shen D, Hao Y. Competition between yogurt probiotics and periodontal pathogens in vitro. *Acta Odontol Scand.* 2010;68(14):261–8.
 38. Kõll P, Mändar R, Marcotte H, Leibur E, Mikelsaar M, Hammarström L. Characterization of oral lactobacilli as potential probiotics for oral health. *Oral Microbiol Immunol.* 2008;23(2):139–47.
 39. Schou S, Holmstrup P, Stoltze K, Hjørting-Hansen E, Kornman KS. Ligature-induced marginal inflammation around osseointegrated implants and ankylosed teeth. *Clin Oral Implants Res.* 1993;4(1):12–22.
 40. Quirynen M, Listgarten MA. Distribution of bacterial morphotypes around natural teeth and titanium implants ad modum Brånemark. *Clin Oral Implants Res.* 1990;1(1):8–12.
 41. Papaioannou W, Quirynen M, Van Steenberghe D. The influence of periodontitis on the subgingival flora around implants in partially edentulous patients. *Clin Oral Implants Res.* 1996;7(4):405–9.
 42. Botero JE, González AM, Mercado RA, Olave G, Contreras A. Subgingival microbiota in peri-implant mucosa lesions and adjacent teeth in partially edentulous patients. *J Periodontol.* 2005;76(9):1490–5.
 43. Quirynen M, Vogels R, Peeters W, van Steenberghe D, Naert I, Haffajee A. Dynamics of initial subgingival colonization of “pristine” peri-implant pockets. *Clin Oral Implants Res.* 2006;17(1):25–37.
 44. Pjetursson BE, Tan K, Lang NP, Brägger U, Egger M, Zwahlen M. A systematic review of the survival and complication rates of resin-bonded bridges after an observation period of at least 5 years. *Clin Oral Implants Res.* 2004;15:625–42.

45. Simonis P, Dufour T, Tenenbaum H. Long-term implant survival and success: A 10-16-year follow-up of non-submerged dental implants. *Clin Oral Implants Res.* 2010;21(7):772–7.
46. Derks J, Tomasi C. Peri-implant health and disease. A systematic review of current epidemiology. *J Clin Periodontol.* 2015;42(Suppl. 16):158–71.
47. Martin-Cabezas R, Davideau J-L, Tenenbaum H, Huck O. Clinical efficacy of probiotics as an adjunctive therapy to non-surgical periodontal treatment of chronic periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol.* 2016;43(6):520–30.
48. Matsubara VH, Bandara HMHN, Ishikawa KH, Mayer MPA, Samaranayake LP. The role of probiotic bacteria in managing periodontal disease: a systematic review. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2016;14(7):643–55.
49. Berglundh T, Persson L, Klinge B. A systematic review of the incidence of biological and technical complications in implant dentistry reported in prospective longitudinal studies of at least 5 years. *J Clin Periodontol.* 2002;29(Suppl 3):197–212.
50. Mandel ID, Gaffar A. Calculus revisited. A review. *J Clin Periodontol.* 1986;13:249–57.
51. Armitage GC. Clinical evaluation of periodontal diseases. *Periodontol* 2000. 1995;7(1):39–53.
52. Lindhe J, Meyle J. Peri-implant diseases: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology. *J Clin Periodontol.* 2008;35(Suppl. 8):282–5.
53. Roos-Jansåker AM, Lindahl C, Renvert H, Renvert S. Nine- to fourteen-year follow-up of implant treatment. Part II: Presence of peri-implant lesions. *J Clin Periodontol.* 2006;33(4):290–5.

54. Lang NP, Berglundh T. Periimplant diseases: Where are we now? - Consensus of the Seventh European Workshop on Periodontology. *J Clin Periodontol.* 2011;38(Suppl. 11):178–81.
55. Sanz M, Chapple IL. Clinical research on peri-implant diseases: Consensus report of Working Group 4. *J Clin Periodontol.* 2012;39(Suppl.12):202–6.
56. Ramanauskaite A, Juodzbaly G. Diagnostic Principles of Peri-Implantitis: a Systematic Review and Guidelines for Peri-Implantitis Diagnosis Proposal. *J Oral Maxillofac Res.* 2016;7(3):1–15.
57. Ericsson I, Berglundh T, Marinello C, Liljenberg B, Lindhe J. Long-standing plaque and gingivitis at implants and teeth in the dog. *Clin Oral Implants Res.* 1992;3(3):99–103.
58. Carcuac O, Berglundh T. Composition of human peri-implantitis and periodontitis lesions. *J Dent Res.* 2014;93(11):1083–8.
59. Berglundh T, Lindhe J, Ericsson I, Marinello C, Liljenberg B, Thomsen P. The soft tissue barrier at implants and teeth. *Clin Oral Implant Res.* 1991;2:81–90.
60. Berglundh T, Lindhe J, Jonsson K, Ericsson I. The topography of the vascular systems in the periodontal and peri-implant tissues in the dog. *J Clin Periodontol.* 1994;21(1992):189–93.
61. Ferreira SD, Silva GLM, Cortelli JR, Costa JE, Costa FO. Prevalence and risk variables for peri-implant disease in Brazilian subjects. *J Clin Periodontol.* 2006;33(12):929–35.
62. Schou S, Holmstrup P, Worthington H V, Esposito M. Outcome of implant therapy in patients with previous tooth loss due to periodontitis. *Clin Oral Implants Res.* 2006;17(Suppl 2):104–23.
63. Strietzel FP, Reichart PA, Kale A, Kulkarni M, Wegner B, Kuchler I. Smoking interferes with the prognosis of dental implant treatment: A

- systematic review and meta-analysis. *J Clin Periodontol.* 2007;34(6):523–44.
64. Laine ML, Leonhardt A, Roos-Jansåker A-M, Peña AS, van Winkelhoff AJ, Winkel EG, et al. IL-1RN gene polymorphism is associated with peri-implantitis. *Clin Oral Implants Res.* 2006;17(4):380–5.
65. Galindo-Moreno P, Fauri M, Avila-Ortiz G, Fernández-Barbero JE, Cabrera-León A, Sánchez-Fernández E. Influence of alcohol and tobacco habits on peri-implant marginal bone loss: a prospective study. *Clin Oral Implants Res.* 2005;16(5):579–86.
66. Pranskunas M, Poskevicius L, Juodzbaly G, Kubilius R, Jimbo R. Influence of Peri-Implant Soft Tissue Condition and Plaque Accumulation on Peri-Implantitis: a Systematic Review. *J Oral Maxillofac Res.* 2016;7(3):1–9.
67. Al-Ahmad A, Wiedmann-Al-Ahmad M, Fackler A, Follo M, Hellwig E, Bächle M, et al. In vivo study of the initial bacterial adhesion on different implant materials. *Arch Oral Biol.* 2013;58(9):1139–47.
68. Berglundh T, Gotfredsen K, Zitzmann NU, Lang NP, Lindhe J. Spontaneous progression of ligature induced peri-implantitis at implants with different surface roughness: An experimental study in dogs. *Clin Oral Implants Res.* 2007;18(5):655–61.
69. Serino G, Ström C. Peri-implantitis in partially edentulous patients: association with inadequate plaque control. *Clin Oral Implants Res.* 2009;20(2):169–74.
70. Isidor F. Histological evaluation of peri-implant bone at implants subjected to occlusal overload or plaque accumulation. *Clin Oral Implants Res.* 1997;8(1):1–9.
71. Miyata T, Kobayashi Y, Araki H, Ohto T, Shin K. The influence of controlled occlusal overload on peri-implant tissue. Part 3: A histologic study in monkeys. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2000;15(3):425–31.

72. Misch CE, Suzuki JB, Misch-Dietsh FM, Bidez MW. A positive correlation between occlusal trauma and peri-implant bone loss: literature support. *Implant Dent.* 2005;14(2):108–16.
73. Fu J-H, Hsu Y-T, Wang H-L. Identifying occlusal overload and how to deal with it to avoid marginal bone loss around implants. *Eur J Oral Implantol.* 2012;5(Suppl):91–103.
74. Socransky SS, Haffajee a D, Cugini M a, Smith C, Kent RL. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol.* 1998;25(2):134–44.
75. Sumida S, Ishihara K, Kishi M, Okuda K. Transmission of periodontal disease-associated bacteria from teeth to osseointegrated implant regions. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2002;17(5):696–702.
76. Albertini M, López-Cerero L, O’Sullivan MG, Chereguini CF, Ballesta S, Ríos V, et al. Assessment of periodontal and opportunistic flora in patients with peri-implantitis. *Clin Oral Implants Res.* 2015;26(8):937–41.
77. Shibli JA, Melo L, Ferrari DS, Figueiredo LC, Faveri M, Feres M. Composition of supra- and subgingival biofilm of subjects with healthy and diseased implants. *Clin Oral Implants Res.* 2008;19(10):975–82.
78. Fürst MM, Salvi GE, Lang NP, Persson GR. Bacterial colonization immediately after installation on oral titanium implants. *Clin Oral Implants Res.* 2007;18(4):501–8.
79. Mombelli A, Décaillet F. The characteristics of biofilms in peri-implant disease. *J Clin Periodontol.* 2011;38(Suppl. 11):203–13.
80. Máximo MB, De Mendonça AC, Renata Santos V, Figueiredo LC, Feres M, Duarte PM. Short-term clinical and microbiological evaluations of peri-implant diseases before and after mechanical anti-infective therapies. *Clin Oral Implants Res.* 2009;20(1):99–108.
81. Sato J, Gomi K, Makino T, Kawasaki F, Yashima A, Ozawa T, et al. The evaluation of bacterial flora in progress of peri-implant disease. *Aust Dent*

- J. 2011;56(2):201–6.
82. Socransky SS, Haffajee AD. Periodontal microbial ecology. *Periodontol* 2000. 2005;38:135–87.
83. Hultin M, Gustafsson A, Hallström H, Johansson L-A, Ekfeldt A, Klinge B. Microbiological findings and host response in patients with peri-implantitis. *Clin Oral Implants Res*. 2002 Aug;13(4):349–58.
84. van Winkelhoff AJ, Wolf JW. *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-associated peri-implantitis in an edentulous patient. A case report. *J Clin Periodontol*. 2000;27(7):531–5.
85. Heitz-Mayfield LJA. Peri-implant diseases: Diagnosis and risk indicators. *J Clin Periodontol*. 2008;35(Suppl. 8):292–304.
86. Lang NP, Wetzel AC, Stich H, Caffesse RG. Histologic probe penetration in healthy and inflamed peri-implant tissues. *Clin Oral Implants Res*. 1994;5(4):191–201.
87. Luterbacher S, Mayfield L, Brägger U, Lang NP. Diagnostic characteristics of clinical and microbiological tests for monitoring periodontal and peri-implant mucosal tissue conditions during supportive periodontal therapy (SPT). *Clin Oral Implants Res*. 2000;11(6):521–9.
88. Jepsen S, Rühling A, Jepsen K, Ohlenbusch B, Albers HK. Progressive peri-implantitis. Incidence and prediction of peri-implant attachment loss. *Clin Oral Implants Res*. 1996;7:133–42.
89. Froum SJ. A Proposed Classification for Peri Implantitis. *Int J Periodontics Restorative Dent*. 2012;32:533–40.
90. Matarasso S, Iorio Siciliano V, Aglietta M, Andreuccetti G, Salvi GE. Clinical and radiographic outcomes of a combined resective and regenerative approach in the treatment of peri-implantitis: A prospective case series. *Clin Oral Implants Res*. 2014;25(7):761–7.

91. Suárez-López del Amo F, Faria e Almeida R, Cicciù M, Daugela P, Ramanauskaite A, Saulacic N, et al. The 1st Baltic Osseointegration Academy and Lithuanian University of Health Sciences Consensus Conference 2016. Summary and Consensus Statements: Group III - Peri-Implantitis Treatment. *J Oral Maxillofac Res.* 2016;7(3):1–5.
92. Lilly DM, Stillwell RH. Probiotics: Growth-promoting factors produced by microorganisms. *Science.* 1965;147(3659):747–8.
93. Plinius Secundus G. *Naturalis historiae.* In p. 36–135.
94. Parker R. Probiotics, the other half of the antibiotics story. *Anim Nutr Heal.* 1974;29:4–8.
95. Fuller R. Probiotics in man and animals. *J Appl Bacteriol.* 1989;66(5):365–78.
96. Naidu AS, Bidlack WR, Clemens RA. Probiotic spectra of lactic acid bacteria (LAB). *Crit Rev Food Sci Nutr.* 1999;39(1):13–126.
97. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, et al. Expert consensus document. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol.* 2014;11(8):506–14.
98. Kim JY, Kwon JH, Ahn SH, Lee S II, Han YS, Choi YO, et al. Effect of probiotic mix (*Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus acidophilus*) in the primary prevention of eczema: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *Pediatr Allergy Immunol.* 2010;21(2):386–93.
99. Teughels W, Loozen G, Quirynen M. Do probiotics offer opportunities to manipulate the periodontal oral microbiota? *J Clin Periodontol.* 2011;38(Suppl. 11):159–77.

100. Perdigón G, Maldonado Galdeano C, Valdez JC, Medici M. Interaction of lactic acid bacteria with the gut immune system. *Eur J Clin Nutr.* 2002;56(Suppl 4):21–6.
101. Peltó L, Isolauri E, Lilius EM, Nuutila J, Salminen S. Probiotic bacteria down-regulate the milk-induced inflammatory response in milk-hypersensitive subjects but have an immunostimulatory effect in healthy subjects. *Clin Exp Allergy.* 1998;28(12):1474–9.
102. Takeda K, Suzuki T, Shimada S-I, Shida K, Nanno M, Okumura K. Interleukin-12 is involved in the enhancement of human natural killer cell activity by *Lactobacillus casei* Shirota. *Clin Exp Immunol.* 2006;146(1):109–15.
103. Oelschlaeger TA. Mechanisms of probiotic actions - A review. *Int J Med Microbiol.* 2010;300(1):57–62.
104. Gillor O, Etzion A, Riley MA. The dual role of bacteriocins as anti- and probiotics. *Appl Microbiol Biotechnol.* 2008;81(4):591–606.
105. Mashimo PA, Yamamoto Y, Nakamura M, Reynolds HS, Genco RJ. Lactic acid production by oral *Streptococcus mitis* inhibits the growth of oral *Capnocytophaga*. *J Periodontol.* 1985;56(9):548–52.
106. Sookkhee S, Chulasiri M, Prachyabrued W. Lactic acid bacteria from healthy oral cavity of Thai volunteers: inhibition of oral pathogens. *J Appl Microbiol.* 2001;90(2):172–9.
107. Van Hoogmoed CG, Geertsema-Doornbusch GI, Teughels W, Quirynen M, Busscher HJ, Van Der Mei HC. Reduction of periodontal pathogens adhesion by antagonistic strains. *Oral Microbiol Immunol.* 2008;23(1):43–8.
108. Elli M, Zink R, Rytz A, Reniero R, Morelli L. Iron requirement of *Lactobacillus* spp. in completely chemically defined growth media. *J Appl Microbiol.* 2000;88(4):695–703.

109. Suárez Rodríguez M, Solís Sánchez G. Use of probiotics in the prevention of necrotizing enterocolitis in premature newborns. *Nutr Hosp.* 2015;31(Suppl 1):68–71.
110. Baucells BJ, Mercadal Hally M, Álvarez Sánchez AT, Figueras Aloy J. Probiotic associations in the prevention of necrotising enterocolitis and the reduction of late-onset sepsis and neonatal mortality in preterm infants under 1,500g: A systematic review. *An Pediatría.* 2016;85(5):247–55.
111. Chowdhury T, Ali MM, Hossain MM, Singh J, Yousuf ANM, Yasmin F, et al. Efficacy of Probiotics Versus Placebo in the Prevention of Necrotizing Enterocolitis in Preterm Very Low Birth Weight Infants: A Double-Blind Randomized Controlled Trial. *J Coll Physicians Surg Pak.* 2016;26(9):770–4.
112. Sawh SC, Deshpande S, Jansen S, Reynaert CJ, Jones PM. Prevention of necrotizing enterocolitis with probiotics: a systematic review and meta-analysis. *PeerJ.* 2016;4:e2429.
113. Pattani R, Palda VA, Hwang SW, Shah PS. Probiotics for the prevention of antibiotic-associated diarrhea and *Clostridium difficile* infection among hospitalized patients: systematic review and meta-analysis. *Open Med.* 2013;7(2):e56-67.
114. Hayes SR, Vargas AJ. Probiotics for the Prevention of Pediatric Antibiotic-Associated Diarrhea. *Explor.* 2016;12(6):463–6.
115. Johnston BC, Goldenberg JZ, Parkin PC. Probiotics and the Prevention of Antibiotic-Associated Diarrhea in Infants and Children. *JAMA.* 2016;316(14):1484–5.
116. Wang Y-H, Yao N, Wei K-K, Jiang L, Hanif S, Wang Z-X, et al. The efficacy and safety of probiotics for prevention of chemoradiotherapy-induced diarrhea in people with abdominal and pelvic cancer: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Clin Nutr.* 2016;70(11):1246–53.

117. Ahmadi E, Alizadeh-Navaei R, Rezai MS. Efficacy of probiotic use in acute rotavirus diarrhea in children: A systematic review and meta-analysis. *Casp J Intern Med.* 2015;6(4):187–95.
118. Das S, Gupta PK, Das RR. Efficacy and Safety of *Saccharomyces boulardii* in Acute Rotavirus Diarrhea: Double Blind Randomized Controlled Trial from a Developing Country. *J Trop Pediatr.* 2016;62(6):464–70.
119. Dang Y, Reinhardt JD, Zhou X, Zhang G. The effect of probiotics supplementation on *Helicobacter pylori* eradication rates and side effects during eradication therapy: a meta-analysis. *PLoS One.* 2014;9(11):e1111030.
120. McFarland L V., Huang Y, Wang L, Malfertheiner P. Systematic review and meta-analysis: Multi-strain probiotics as adjunct therapy for *Helicobacter pylori* eradication and prevention of adverse events. *United Eur Gastroenterol J.* 2016;4(4):546–61.
121. Emara MH, Mohamed SY, Abdel-Aziz HR. *Lactobacillus reuteri* in management of *Helicobacter pylori* infection in dyspeptic patients: a double-blind placebo-controlled randomized clinical trial. *Therap Adv Gastroenterol.* 2014;7(1):4–13.
122. Lü M, Yu S, Deng J, Yan Q, Yang C, Xia G, et al. Efficacy of Probiotic Supplementation Therapy for *Helicobacter pylori* Eradication: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. Roujeinikova A, editor. *PLoS One.* 2016;11(10):e0163743.
123. Zhang Y, Li L, Guo C, Mu D, Feng B, Zuo X, et al. Effects of probiotic type, dose and treatment duration on irritable bowel syndrome diagnosed by Rome III criteria: a meta-analysis. *BMC Gastroenterol.* 2016;16(1):62.
124. Palumbo VD, Romeo M, Gammazza AM, Carini F, Damiani P, Damiano G, et al. The long-term effects of probiotics in the therapy of ulcerative colitis: A clinical study. *Biomed Pap.* 2016;160(3):372–7.

125. Garaiova I, Muchová J, Nagyová Z, Wang D, Li J, Országhová Z, et al. Probiotics and vitamin C for the prevention of respiratory tract infections in children attending preschool: a randomised controlled pilot study. *Eur J Clin Nutr.* 2014;69(10):373–9.
126. King S, Glanville J, Sanders ME, Fitzgerald A, Varley D. Effectiveness of probiotics on the duration of illness in healthy children and adults who develop common acute respiratory infectious conditions: a systematic review and meta-analysis. *Br J Nutr.* 2014;112(1):41–54.
127. Wang Y, Li X, Ge T, Xiao Y, Liao Y, Cui Y, et al. Probiotics for prevention and treatment of respiratory tract infections in children. *Medicine (Baltimore).* 2016;95(31):e4509.
128. Kim S-O, Ah Y-M, Yu YM, Choi KH, Shin W-G, Lee J-Y. Effects of probiotics for the treatment of atopic dermatitis: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Ann Allergy Asthma Immunol.* 2014;113(2):217–26.
129. Cuello-Garcia CA, Brožek JL, Fiocchi A, Pawankar R, Yepes-Nuñez JJ, Terracciano L, et al. Probiotics for the prevention of allergy: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Allergy Clin Immunol.* 2015;136(4):952–61.
130. Alipour B, Homayouni-Rad A, Vaghef-Mehrabany E, Sharif SK, Vaghef-Mehrabany L, Asghari-Jafarabadi M, et al. Effects of *Lactobacillus casei* supplementation on disease activity and inflammatory cytokines in rheumatoid arthritis patients: a randomized double-blind clinical trial. *Int J Rheum Dis.* 2014;17(5):519–27.
131. Vaghef-Mehrabany E, Alipour B, Homayouni-Rad A, Sharif S-K, Asghari-Jafarabadi M, Zavvari S. Probiotic supplementation improves inflammatory status in patients with rheumatoid arthritis. *Nutrition.* 2014;30(4):430–5.
132. Kassayová M, Bobrov N, Strojný L, Kisková T, Mikeš J, Demečková V, et al. Preventive effects of probiotic bacteria *Lactobacillus plantarum* and

- dietary fiber in chemically-induced mammary carcinogenesis. *Anticancer Res.* 2014;34(9):4969–75.
133. Gao X, Zhu Y, Wen Y, Liu G, Wan C. Efficacy of probiotics in nonalcoholic fatty liver disease in adult and children: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Hepatol Res.* 2016;46(12):1226–33.
134. Famouri F, Shariat Z, Hashemipour M, Keikha M, Kelishadi R. Effects of Probiotics on Non-Alcoholic Fatty Liver Disease in Obese Children and Adolescents. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2016;13:[Epub ahead of print].
135. Bodean O, Munteanu O, Cirstoiu C, Secara D, Cirstoiu M. Probiotics--a helpful additional therapy for bacterial vaginosis. *J Med Life.* 2013;6(4):434–6.
136. Hanson L, VandeVusse L, Jermé M, Abad CL, Safdar N. Probiotics for Treatment and Prevention of Urogenital Infections in Women: A Systematic Review. *J Midwifery Womens Health.* 2016;61(3):339–55.
137. Caglar E, Kargul B, Tanboga I. Bacteriotherapy and probiotics' role on oral health. *Oral Dis.* 2005;11(3):131–7.
138. Shimauchi H, Mayanagi G, Nakaya S, Minamibuchi M, Ito Y, Yamaki K, et al. Improvement of periodontal condition by probiotics with *Lactobacillus salivarius* WB21: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *J Clin Periodontol.* 2008;35(10):897–905.
139. Yaegaki K, Sanada K. Volatile sulfur compounds in mouth air from clinically healthy subjects and patients with periodontal disease. *J Periodontal Res.* 1992;27(4 Pt 1):233–8.
140. Veerasha KL, Bansal M, Bansal V. Halitosis: A frequently ignored social condition. *J Int Soc Prev Community Dent.* 2011;1(1):9–13.
141. Krespi Y, Shrime M, Kacker A. The relationship between oral malodor and volatile sulfur compound-producing bacteria. *Otolaryngol - Head Neck Surg.* 2006;135(5):671–6.

142. Scully C, Greenman J. Halitology (breath odour: Aetiopathogenesis and management). *Oral Dis.* 2012;18(4):333–45.
143. 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(4):754–64.
144. Kang M-S, Kim B-G, Chung J, Lee H-C, Oh J-S. Inhibitory effect of *Weissella cibaria* isolates on the production of volatile sulphur compounds. *J Clin Periodontol.* 2006;33(3):226–32.
145. Suzuki N, Yoneda M, Tanabe K, Fujimoto A, Iha K, Seno K, et al. *Lactobacillus salivarius* WB21-containing tablets for the treatment of oral malodor: A double-blind, randomized, placebo-controlled crossover trial. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.* 2014;117(4):462–70.
146. Zaremba ML, Daniluk T, Rozkiewicz D, Cylwik-Rokicka D, Kierklo A, Tokajuk G, et al. Incidence rate of *Candida* species in the oral cavity of middle-aged and elderly subjects. *Adv Med Sci.* 2006;51(Suppl 1):233–6.
147. Coronado-Castellote L, Jiménez-Soriano Y. Clinical and microbiological diagnosis of oral candidiasis. *J Clin Exp Dent.* 2013;5(5):279–86.
148. Cruciani M, de Lalla F, Mengoli C. Prophylaxis of *Candida* infections in adult trauma and surgical intensive care patients: a systematic review and meta-analysis. *Intensive Care Med.* 2005;31(11):1479–87.
149. Lyu X, Zhao C, Hua H, Yan Z. Efficacy of nystatin for the treatment of oral candidiasis: a systematic review and meta-analysis. *Drug Des Devel Ther.* 2016;10:1161–71.
150. Pallasch TJ. Antifungal and antiviral chemotherapy. *Periodontol* 2000. 2002;28:240–55.
151. Tomičić Z, Zupan J, Matos T, Raspor P. Probiotic yeast *Saccharomyces boulardii* (nom. nud.) modulates adhesive properties of *Candida glabrata*. *Med Mycol.* 2016;54(8):835–45.

152. Strus M, Brzychczy-Włoch M, Kucharska A, Gosiewski T, Heczko PB. Inhibitory activity of vaginal *Lactobacillus* bacteria on yeasts causing vulvovaginal candidiasis. *Med Dosw Mikrobiol*. 2005;57(1):7–17.
153. Wagner RD, Pierson C, Warner T, Dohnalek M, Farmer J, Roberts L, et al. Biotherapeutic effects of probiotic bacteria on candidiasis in immunodeficient mice. *Infect Immun*. 1997;65(10):4165–72.
154. Elahi S, Pang G, Ashman R, Clancy R. Enhanced clearance of *Candida albicans* from the oral cavities of mice following oral administration of *Lactobacillus acidophilus*. *Clin Exp Immunol*. 2005;141(1):29–36.
155. Ujaoney S, Chandra J, Faddoul F, Chane M, Wang J, Taifour L, et al. In Vitro Effect of Over-the-Counter Probiotics on the Ability of *Candida Albicans* to Form Biofilm on Denture Strips. *J Dent Hyg*. 2011;88(2):183–9.
156. Ishijima SA, Hayama K, Burton JP, Reid G, Okada M, Matsushita Y, et al. Effect of *Streptococcus salivarius* K12 on the In vitro growth of *Candida albicans* and its protective effect in an oral candidiasis model. *Appl Environ Microbiol*. 2012;78(7):2190–9.
157. Matsubara VH, Silva EG, Paula CR, Ishikawa KH, Nakamae AEM. Treatment with probiotics in experimental oral colonization by *Candida albicans* in murine model (DBA/2). *Oral Dis*. 2012;18(3):260–4.
158. Almerich-Silla J-M, Boronat-Ferrer T, Montiel-Company J-M, Iranzo-Cortés J-E. Caries prevalence in children from Valencia (Spain) using ICDAS II criteria, 2010. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2014;19(6):574–80.
159. Bravo Pérez M, Almerich Silla J, Ausina Márquez V, Avilés Gutiérrez P, Blanco González J, Canorea Díaz E, et al. Encuesta de Salud Oral en España 2015. *RCOE*. 2016;21(Suppl. 1):8–48.
160. Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. *Lancet (London, England)*. 2007;369(9555):51–9.

161. Hajishengallis E, Parsaei Y, Klein MI, Koo H. Advances in the microbial etiology and pathogenesis of early childhood caries. *Mol Oral Microbiol*. 2017 Dec 30;32(1):24–34.
162. González Sanz AM, González Nieto BA, González Nieto E. Dental health: relationship between dental caries and food consumption. *Nutr Hosp*. 2013;28(Suppl 4):64–71.
163. Holz C, Alexander C, Balcke C, Moré M, Auinger A, Bauer M, et al. *Lactobacillus paracasei* DSMZ16671 Reduces Mutans Streptococci: A Short-Term Pilot Study. *Probiotics Antimicrob Proteins*. 2013;5(4):259–63.
164. Teughels W, Van Essche M, Sliepen I, Quirynen M. Probiotics and oral healthcare. *Periodontol 2000*. 2008;48(1):111–47.
165. Haukioja A, Loimaranta V, Tenovuo J. Probiotic bacteria affect the composition of salivary pellicle and streptococcal adhesion in vitro. *Oral Microbiol Immunol*. 2008;23(4):336–43.
166. Bonifait L, Chandad F, Grenier D. Probiotics for oral health: myth or reality? *J Can Dent Assoc*. 2009;75(8):585–90.
167. Keller MK, Hasslöf P, Stecksén-Blicks C, Twetman S. Co-aggregation and growth inhibition of probiotic lactobacilli and clinical isolates of mutans streptococci - An in vitro study. *Acta Odontol Scand*. 2011;69(5):263–8.
168. Twetman L, Larsen U, Fiehn NE, Stecksén-Blicks C, Twetman S. Coaggregation between probiotic bacteria and caries-associated strains: an in vitro study. *Acta Odontol Scand*. 2009;67(5):284–8.
169. Söderling EM, Marttinen AM, Haukioja AL. Probiotic Lactobacilli interfere with *Streptococcus mutans* biofilm formation in Vitro. *Curr Microbiol*. 2011;62(2):618–22.
170. Hasslof P, Hedberg M, Twetman S, Stecksén-Blicks C. Growth inhibition of oral mutans streptococci and candida by commercial probiotic

- lactobacilli - an in vitro study. *BMC Oral Health*. 2010;10:18.
171. Lang C, Bottner M, Holz C, Veen M, Ryser M, Reindl A, et al. Specific Lactobacillus/Mutans Streptococcus Co-aggregation. *J Dent Res*. 2010;89(2):175–9.
172. Tanzer JM, Thompson a, Lang C, Cooper B, Hareng L, Gamer a, et al. Caries inhibition by and safety of Lactobacillus paracasei DSMZ16671. *J Dent Res*. 2010;89(9):921–6.
173. Petersson LG, Magnusson K, Hakestam U, Baigi A, Twetman S. Reversal of primary root caries lesions after daily intake of milk supplemented with fluoride and probiotic Lactobacilli in older adults. *Acta Odontol Scand*. 2011;69:321–7.
174. Badersten A, Nilvéus R, Egelberg J. Effect of non-surgical periodontal therapy. *J Clin Periodontol*. 1981;8:57–72.
175. Van der Weijden G a, Timmerman MF. A systematic review on the clinical efficacy of subgingival debridement in the treatment of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2002;29(Suppl 3):55–71.
176. Rateitschak-Plüss EM, Schwarz JP, Guggenheim R, Düggelin M, Rateitschak KH. Nonsurgical Periodontal Treatment: Where Are the Limits? *J Clin Periodontol*. 1992;19(4):240–4.
177. Tomasi C, Leyland AH, Wennström JL. Factors influencing the outcome of non-surgical periodontal treatment: a multilevel approach. *J Clin Periodontol*. 2007;34(8):682–90.
178. Hanes PJ, Purvis JP. Local Anti-Infective Therapy: Pharmacological Agents. A Systematic Review. *Ann Periodontol*. 2003;8(1):79–98.
179. Haffajee AD, Socransky SS, Gunsolley JC. Systemic Anti-Infective Periodontal Therapy. A Systematic Review Systemic Anti-Infective Therapy. *Annu Periodontol*. 2003;8(1):115–81.

180. Caffesse RG, Sweeney P, Smith B. Scaling and root planing with and without periodontal flap surgery. *J Clin Periodon.* 1986;13:205–10.
181. Kaldahl WB, Kalkwarf KL, Patil KD, Molvar MP, Dyer JK. Long-Term Evaluation of Periodontal Therapy. I. Response to 4 therapeutic modalities. *J Periodontol.* 1996;67:93–102.
182. Mousquès T, Listgarten MA, Phillips RW. Effect of scaling and root planing on the composition of the human subgingival microbial flora. *J Periodontal Res.* 1980;15(2):144–51.
183. Magnusson I, Lindhe J, Yoneyama T, Liljenberg B. Recolonization of a subgingival microbiota following scaling in deep pockets. *J Clin Periodontol.* 1984;11(3):193–207.
184. Staab B, Eick S, Knöfler G, Jentsch H. The influence of a probiotic milk drink on the development of gingivitis: A pilot study. *J Clin Periodontol.* 2009;36(10):850–6.
185. Mayanagi G, Kimura M, Nakaya S, Hirata H, Sakamoto M, Benno Y, et al. Probiotic effects of orally administered *Lactobacillus salivarius* WB21-containing tablets on periodontopathic bacteria: A double-blinded, placebo-controlled, randomized clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2009;36(6):506–13.
186. Tekce M, Ince G, Gursoy H, Dirikan Ipci S, Cakar G, Kadir T, 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(4):363–72.
187. Iniesta M, Herrera D, Montero E, Zurbriggen M, Matos AR, Marín MJ, 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(8):736–44.

188. Madhwani T, McBain AJ. Bacteriological effects of a *Lactobacillus reuteri* probiotic on in vitro oral biofilms. *Arch Oral Biol.* 2011;56(11):1264–73.
189. El-Ziney MG, van den Tempel T, Debevere J, Jakobsen M. Application of reuterin produced by *Lactobacillus reuteri* 12002 for meat decontamination and preservation. *J Food Prot.* 1999;62(3):257–61.
190. Gänzle MGG, Hölzel AH, Walter J, Jung GN, Hammes WP. Characterization of Reutericyclin Produced by *Lactobacillus reuteri* LTH2584. *Appl Environ Microbiol.* 2000;66(10):4325–33.
191. Jones SE, Versalovic J. Probiotic *Lactobacillus reuteri* biofilms produce antimicrobial and anti-inflammatory factors. *BMC Microbiol.* 2009;9:35.
192. Armitage GC. Development of a classification system for Periodontal Diseases and Conditions. *Ann Periodontol.* 1999;4:1–6.
193. Atieh MA, Alsabeeha NHM, Faggion CM, Duncan WJ. The Frequency of Peri-Implant Diseases: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Periodontol.* 2013;84:1586–98.
194. The American Academy of Periodontology (AAP). Peri-Implant Mucositis and Peri-Implantitis: A Current Understanding of Their Diagnoses and Clinical Implications. *J Periodontol.* 2013;84(4):436–43.
195. Ata-ali J, Ata-ali F, Bagan L. A Classification Proposal for Peri-Implant Mucositis and Peri-Implantitis: A Critical Update. *Open Dent J.* 2015;9:393–5.
196. O’Leary T, Drake R, Naylor J. The plaque control record. *J Periodontol.* 1972;43(1):38.
197. Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J.* 1975;25(4):229–35.
198. Morillo JM, Lau L, Sanz M, Herrera D, Silva A. Quantitative real-time PCR based on single copy gene sequence for detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis*. *J Periodontol.*

- Res. 2003;38(5):518–24.
199. Sanz M, Lau L, Herrera D, Morillo JM, Silva A. Methods of detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Tannerella forsythensis* in periodontal microbiology, with special emphasis on advanced molecular techniques: a review. *J Clin Periodontol*. 2004;31(12):1034–47.
 200. İnce G, Gürsoy H, İpçi ŞD, Cakar G, Emekli-Alturfan E, Yılmaz S. Clinical and Biochemical Evaluation of Lozenges Containing *Lactobacillus reuteri* as an Adjunct to Non-Surgical Periodontal Therapy in Chronic Periodontitis. *J Periodontol*. 2015;86(6):746–54.
 201. Sinkiewicz G, Cronholm S, Ljunggren L, Dahlén G, Bratthall G. Influence of dietary supplementation with *Lactobacillus reuteri* on the oral flora of healthy subjects. *Swed Dent J*. 2010;34(4):197–206.
 202. Hallström H, Lindgren S, Yucel-Lindberg T, Dahlén G, Renvert S, Twetman S. Effect of probiotic lozenges on inflammatory reactions and oral biofilm during experimental gingivitis. *Acta Odontol Scand*. 2013;71:828–33.
 203. Dhingra K. Methodological issues in randomized trials assessing probiotics for periodontal treatment. *J Periodontal Res*. 2012;47(1):15–26.
 204. Koll-Klais P, Mandar R, Leibur E, Marcotte H, Hammarstrom L, Mikelsaar M. Oral lactobacilli in chronic periodontitis and periodontal health: species composition and antimicrobial activity. *Oral Microbiol Immunol*. 2005;20(6):354–61.

10.- ANEXOS

ANEXO 1. Carta de aprobación del CEIC



CEIC APROVAL STUDY

Study Code: PER-ECL-2014-01

Study version: 1.1

Version date: 05/11/2014

Title: "Clinical and microbiological evaluation of the effect of probiotics agents in the prevention and treatment of peri-implantitis. Triple-blind study".

Sant Cugat del Vallès, 5th november 2014

Dra. Violant / Dra.Vicario

Ref: "Clinical and microbiological evaluation of the effect of probiotics agents in the prevention and treatment of peri-implantitis. Triple-blind study".

Dear Doctors,

The members of the CEIC of the Clínica Universitària d'Odontologia, appreciate your contribution in the field of research and the presentation to this Committee of the referred study for its evaluation.

After having rated the new contributions to the study, requested by our Ethic Committee, on the 5th November 2014, the decision was to APPROVE it.

We remind, that according to Real Decret 223/2004 art.27, you should present a monthly preliminary report during the study and a final report when the study finishes, through the Academic Commission, to the Clinical Research Ethics Committee of the CUO.

Sincerely,

Dr. Magí Brufau
President of the CEIC-CUO



5 NOV. 2014

Núm. de registre

S-00007

ANEXO 2. Carta de aceptación del proyecto de la Tesis Doctoral

Barcelona, 26 de febrer de 2014

Dra. Deborah Violant
Universitat Internacional de Catalunya
Facultat d'Odontologia
C/ Josep Trueta s/n
08195 Sant Cugat del Vallés

Benvolguda Dra. Violant,

Amb la present, li comunico que la Comissió Acadèmica del Doctorat en Ciències de la Salut, en la seva sessió del passat 11 de febrer, i una vegada estudiada la seva sol·licitud va acordar aprovar el projecte de tesi amb títol "Clinical and microbiological evaluation of the Effect of Probiotics agents in the Preventions and Treatment of Peri-implantitis" presentat per Marta Galofré Mercadé i que sigui admès al període d'investigació del Doctorat de Recerca en Salut.

Se l'informa que, tot i que a efectes acadèmics tenen el mateix valor, en la tramitació dels expedients constarà com a director aquell investigador que compleixi els requisits establerts pel comitè de Direcció de l'Escola de Doctorat per a dirigir tesis en solitari.

Així el projecte de tesi serà dirigit per la Dra. Deborah Violant com a Directora i la Dra. Mònica Vicario com a Codirectora de la Tesi.

Per altre banda li fem saber que la normativa de la UIC estableix que s'ha d'obtenir una avaluació favorable del Comitè d'Ètica en la Recerca, abans del inici de la investigació. Haurà d'aportar aquest informe en quan l'obtingui.

Finalment el volem informar que per poder tramitar la matrícula es poden posar en contacte amb el Sr. Jaime Oliver.

Per qualsevol qüestió que vulguin comentar no dubtin en posar-se en contacte amb nosaltres.

Atentament,



Empar Lorda
Secretaria Comissió Acadèmica Ciències de la Salut
Escola de Doctorat
Universitat Internacional de Catalunya

ANEXO 3. Documento de información para el paciente



6. DOCUMENTO DE INFORMACIÓN AL PACIENTE PARTICIPANTE EN EL ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

Código del estudio: PER-ECL-2014-01.

Versión del protocolo: 1.1

Fecha de presentación del protocolo: 05/11/2014

Título: Clinical and microbiological evaluation of the Effect of Probiotics agents in the Prevention and Treatment of Peri-implantitis. **Triple-blind study.**

Investigador/a principal: Dra. Deborah Violant/Dra. Mònica Vicario

Investigador/a secundario/a (alumno/a): Marta Galofré / Diana Palao

Tutor/a / monitor/a: Dra. Deborah Violant/Dra. Mònica Vicario

Departamento: Periodoncia. Universitat Internacional de Catalunya

Línea de investigación (registrada en la UIC): Prevención y Tratamiento de la Periimplantitis Oral. SGR 2014-812

Título de la investigación: Clinical and microbiological evaluation of the effect of probiotics agents in the prevention and treatment of peri-implantitis. **Triple-blind study.**

Se ha solicitado su participación en un estudio de investigación. Antes de decidir si aceptan participar, es importante que comprendan los motivos por los que se lleva a cabo la investigación: cómo se va a utilizar su información, en qué consistirá el estudio y los posibles beneficios, riesgos y molestias que pueda conllevar.

En el caso de que participen en algún otro estudio, lo deben de comunicar al responsable para valorar si pueden participar en éste.



¿CUÁLES SON LOS ANTECEDENTES Y EL OBJETIVO DE ESTE ESTUDIO?

En la actualidad, la opción ideal de tratamiento para reponer dientes ausentes, es la colocación de implantes dentales. Sin embargo, y aunque la tasa de éxito de los implantes es muy elevada, estos pueden, al cabo de un tiempo, infectarse con bacterias que residen en la boca dando lugar a pérdida de hueso alrededor de los mismos y, en última instancia, a la pérdida completa del/los implantes. Este proceso infeccioso se conoce como periimplantitis. La mucositis periimplantaria, supone un paso previo en el cual, las bacterias producen una inflamación de la encía que rodea al implante sin que se haya producido aún la pérdida de hueso. Se han propuesto distintas terapias para tratar la mucositis y la periimplantitis. Además, recientemente se ha introducido el uso de probióticos, bacterias beneficiosas para el ser humano, en el manejo de infecciones orales debido a que podrían colonizar las superficies de dientes/implantes evitando que lo hagan otras bacterias perjudiciales de tal forma que los tejidos orales se mantendrían en salud. Los probióticos se han incorporado en muchos alimentos que consumimos actualmente como los yogures (Activia®, Actimel®...) o la leche para favorecer el buen funcionamiento del sistema digestivo, por ejemplo.

Con el objetivo de, por un lado, evitar el desarrollo de la mucositis y la periimplantitis y, por el otro, tratar dichas enfermedades periimplantarias una vez establecidas, el objetivo de este estudio consiste en evaluar el efecto preventivo y terapéutico del probiótico *Lactobacillus reuteri Prodentis*, tanto a nivel clínico como microbiológico, en salud periimplantaria, mucositis o periimplantitis.



¿TENGO OBLIGACIÓN DE PARTICIPAR?

La decisión sobre participar o no en la investigación le corresponde a Usted. En el caso de no querer participar o bien querer abandonar, la calidad de la asistencia que recibirán, no quedará afectada. Si decide Usted participar, se les entregará el formulario de consentimiento informado para que lo firmen.

¿CÚALES SON MIS OBLIGACIONES?

Si se compromete a formar parte del estudio, está obligado a comprometerse a acudir a todas las visitas: 3 durante el tratamiento y 2 de revisión. Se administrará de manera aleatoria tratamiento con probióticos o placebo durante 30 días con la siguiente posología: 1 cápsula/día/noche después del cepillado dental. En caso contrario, deberá comunicárselo al investigador responsable del estudio.

¿CUÁLES SON LOS POSIBLES EFECTOS SECUNDARIOS, RIESGOS Y MOLESTIAS ASOCIADOS A LA PARTICIPACIÓN?

El uso de probióticos en pacientes sanos es seguro aunque, es posible que note ligeras molestias gastrointestinales o flatulencia durante su administración. ***Si hay alguna complicación durante el período de estudio, se suspenderá la administración de probióticos. En el caso de mucositis o peri-implantitis, se administrará colutorio de clorhexidina al 0'12% 2 veces al día (30 segundos) durante 15 días.***



¿CUÁLES SON LOS POSIBLES BENEFICIOS DE PARTICIPAR?

El beneficio de participar en el estudio, es prevenir o tratar la mucositis o periimplantitis presente en uno/varios implantes de tu boca. Si se demuestra que el resultado del uso de probióticos es beneficioso, se podrán curar lesiones de este tipo de forma más efectiva en el futuro evitando así el desarrollo de periimplantitis y la consiguiente pérdida de implantes dentales.

Al participar en este estudio, Usted está contribuyendo además al desarrollo de nuevas modalidades de tratamiento de estas enfermedades infecciosas.

PARTICIPACIÓN VOLUNTARIA

La participación en un ensayo es una decisión voluntaria y personal. En el caso de no querer participar o bien de querer abandonar el estudio, la calidad de la asistencia que recibirá no se verá afectada y se seguirán los protocolos habituales. Si decide participar, se le entregará la Hoja de información al paciente y el Consentimiento informado para que firme todas las hojas de ambos documentos.

Si el Investigador Principal considera que el estudio puede perjudicar a su salud, le invitará a abandonarlo, y le dará las explicaciones pertinentes.

Finalmente, una vez haya concluido su participación, deberá seguir los procedimientos indicados por el/la doctor/a para garantizar su seguridad.

El beneficio inmediato de participar en el estudio, es su contribución al conocimiento y desarrollo científico, sin que pueda garantizársele un beneficio inmediato para usted.



¿CÓMO SE VAN A UTILIZAR MIS DATOS DEL ESTUDIO?

Según el artículo 3.6 del RD 223/2004, de 6 de febrero, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos, el tratamiento, la comunicación y la cesión de los datos de carácter personal de los sujetos participantes en el ensayo, éste se ajustará a lo dispuesto en la Ley orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de protección de datos de carácter personal.

El/la doctor/a del estudio podrá utilizar sus datos personales para la difusión de resultados dentro de la comunidad científica y garantizará la protección de estos datos a fin de no desvelar su identidad.

Únicamente el/la doctor/a del estudio y su equipo investigador, tendrán acceso a la clave del código que permite asociar los datos del estudio con su identidad.

La empresa patrocinadora, Sunstar Suisse S.A., Switzerland, podrá utilizar los datos del estudio para la investigación y desarrollo. Cualquier uso continuado de los datos del estudio por parte del/de la doctor/a del estudio o de la empresa patrocinadora, Sunstar Suisse S.A., Switzerland, tendrá los fines que se describen en este formulario. Si retira el consentimiento de utilizar sus datos del estudio, no podrá seguir participando en la investigación. Debe tener en cuenta que los resultados del estudio podrán aparecer publicados en la bibliografía médica, si bien su identidad no será revelada. En caso de que deban tomarse fotografías de la cara y/o cuerpo completo, se garantizará la protección de su identidad. La empresa patrocinadora, Sunstar Suisse S.A., Switzerland, es responsable de su propio procesamiento de los datos del estudio.



¿CÓMO PUEDO ESTABLECER CONTACTO SI NECESITO OBTENER MÁS INFORMACIÓN O AYUDA?

Mediante la firma de este formulario, usted asiente que ha estado informado de las características del estudio, ha entendido la información y el/la doctor/a ha clarificado todas sus dudas.

En caso de sufrir un daño relacionado con el estudio o para obtener respuesta a cualquier pregunta que pueda surgir durante la investigación, póngase en contacto con:

Nombre del IP: Dra. Deborah Violant/Dra. Monica Vicario

Nombre del IS: Marta Galofré / Diana Palao

Clínica Universitaria de Odontología

Universitat Internacional de Catalunya

Dirección: C/ Josep Trueta, s/n-08195, Sant Cugat del Vallés

Num. de teléfono: 93 504 20 30

Mail: ceic.cuo.ceic@uic.es

ANEXO 4. Consentimiento informado



7a. CONSENTIMIENTO INFORMADO

Número del estudio: PER-ECL-2014-01.
 Versión del protocolo: 1.1
 Fecha de la versión: 05/11/2014
 Fecha de presentación: 05/11/2014
 Título: Clinical and microbiological evaluation of the Effect of Probiotics agents in the Prevention and Treatment of Peri-implantitis. **Triple-blind study.**

Investigador/a principal: Dra. Deborah Violant / Dra. Mònica Vicario
 Investigador/a secundario/a (alumno/a): Marta Galofré / Diana Palao
 Tutor/a / Monitor/a: Dra. Deborah Violant / Dra. Mònica Vicario
 Departamento: Periodoncia
 Línea de investigación: Prevención y Tratamiento de la Peri-implantitis Oral. SGR 2014-812
 Título de la investigación: Clinical and microbiological evaluation of the effect of probiotics agents in the prevention and treatment of peri-implantitis. **Triple-blind study.**

Yo, Sr./Sra.:

- He recibido información verbal acerca del estudio y he leído la información escrita que se adjunta, de la que he recibido una copia.
- He comprendido lo que se me ha explicado.
- He podido comentar el estudio y realizar preguntas al profesional responsable.
- Doy mi consentimiento para tomar parte en el estudio y asumo que mi participación es totalmente voluntaria.
- Entiendo que podré retirarme en cualquier momento sin que ello afecte a mi futura asistencia médica.

Mediante la firma de este formulario de consentimiento informado, doy mi consentimiento para que mis datos personales se puedan utilizar como se ha descrito en este formulario de consentimiento, que se ajusta a lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal.

Entiendo que recibiré una copia de este formulario de consentimiento informado.

 Firma del paciente o la paciente
 N.º de DNI

 Fecha de la firma

Página 1 de 2



DECLARACIÓN DEL INVESTIGADOR O LA INVESTIGADORA

El paciente o la paciente que firma esta hoja de consentimiento ha recibido, por parte del profesional, información detallada de forma oral y escrita del proceso y naturaleza de este estudio de investigación, y ha tenido la oportunidad de preguntar cualquier duda en cuanto a la naturaleza, los riesgos y las ventajas de su participación en este estudio.

Firma del investigador o investigadora
Nombre:

Fecha de la firma

RESUMEN

RESUMEN

Los implantes dentales son una alternativa terapéutica importante para reemplazar los dientes perdidos. Aunque presentan una alta tasa de éxito y supervivencia, la prevalencia de mucositis y periimplantitis es elevada. El tratamiento mecánico no quirúrgico es eficaz en mucositis y la terapia no quirúrgica y quirúrgica tienen una eficacia limitada e impredecible en periimplantitis. Puesto que no hay consenso sobre si el uso adjunto de antisépticos locales o antibióticos locales o sistémicos mejoran los resultados de la terapia no quirúrgica en mucositis y periimplantitis y el objetivo principal del tratamiento de ambas entidades patológicas es reducir la carga bacteriana de la superficie de los implantes y prevenir su posterior recolonización, surge la necesidad de investigar nuevas alternativas de tratamiento que ayuden en la prevención y el tratamiento de la patología periimplantaria.

Los objetivos principales de este ensayo clínico aleatorizado y triple ciego fueron evaluar el efecto del probiótico oral *L. reuteri* Prodentis, como coadyuvante al tratamiento mecánico, en los parámetros clínicos y microbiológicos de implantes con mucositis o periimplantitis en pacientes no fumadores con antecedentes de enfermedad periodontal. Además, como objetivos secundarios evaluamos si los pacientes cumplieron con la dosificación del probiótico y si sufrieron algún efecto adverso.

Los resultados obtenidos indican que el probiótico *Lactobacillus reuteri* Prodentis, como coadyuvante al tratamiento mecánico, produce una mejoría adicional versus la terapia mecánica sola, tanto en los parámetros clínicos generales (índice de placa y sangrado al sondaje) como a nivel de los implantes con mucositis o periimplantitis (índice de placa, profundidad de sondaje y sangrado al sondaje) de pacientes con antecedentes de enfermedad periodontal. Sin embargo, tiene un efecto muy limitado a nivel de la composición de la microbiota periimplantaria, puesto que sólo disminuye significativamente la carga bacteriana de *P. gingivalis* en implantes con mucositis. Asimismo, la administración de un comprimido diario de *Lactobacillus reuteri* Prodentis durante un mes es de fácil cumplimiento por parte de los pacientes y no causó ningún efecto adverso.

RESUMEN

Es necesario realizar estudios prospectivos a largo plazo estandarizando las variables para evaluar el efecto del probiótico *L. reuteri* en la prevención y tratamiento de la enfermedad periodontal y periimplantaria.