

MAŁGORZATA RADWAN-OCZKO^{1, A-F}, MAGDALENA MENDAK-ZIÓŁKO^{1, B-F},
AGNIESZKA HAŁOŃ^{2, B-F}

Ocena cytomorfologiczna wymazów błony śluzowej jamy ustnej u osób stosujących tabletki do ssania z probiotykiem

Cytomorphological Features of Oral Cytobrush Smears in Individuals Taking Probiotic Lozenges

¹ Zakład Patologii Jamy Ustnej, Katedra Periodontologii, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Wrocław, Polska

² Katedra i Zakład Patomorfologii i Cytologii Onkologicznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu, Wrocław, Polska

A – koncepcja i projekt badania, B – gromadzenie i/lub zestawianie danych, C – analiza i interpretacja danych,
D – napisanie artykułu, E – krytyczne zrecenzowanie artykułu, F – zatwierdzenie ostatecznej wersji artykułu

Streszczenie

Wprowadzenie. Probiotyki są żywymi drobnoustrojami, które podawane w odpowiednich dawkach wywierają korzystny wpływ na zdrowie pacjenta. Tymi nieszkodliwymi organizmami są najczęściej bakterie. Mogą być pomocne w zapobieganiu i leczeniu wielu chorób, wykazują również dobroczynne działanie na zdrowie jamy ustnej. Mogą przyczyniać się do ograniczenia próchnicy, pomagać w leczeniu chorób przyzębia oraz halitozy. Badanie wymazów cytologicznych polega na mikroskopowej ocenie złączonych komórek nabłonka barwionych metodami histologicznymi.

Cel pracy. Ocena cytologiczna zmian morfologicznych komórek nabłonka błony śluzowej jamy ustnej w powiązaniu ze stosowaniem tabletek do ssania zawierających probiotyki.

Materiał i metody. Badania wykonano w grupie 30 studentów (21 kobiet i 9 mężczyzn w wieku 22–26 lat) V roku stomatologii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Wszyscy zakwalifikowani do badań byli ogólnie zdrowi i nie obserwowano u nich zmian patologicznych w jamie ustnej. W czasie pierwszego badania oceniono stan jamy ustnej oraz pobrano szczoteczką do wymazów cytologicznych materiał – wymaz z błony śluzowej policzka. Następnie uczestnicy badań przez 14 dni ssali raz dziennie tabletkę BioGaia® zawierającą szczepę *Lactobacillus reuteri protectis*. W 15. dniu pobrano drugi wymaz cytologiczny. Podczas ewaluacji rozmazów uwzględniono następujące parametry oceny cytomorfologicznej: klasyfikację Papanicolaou, eozynochłonność cytoplazmy, kariopyknozę, obecność komórek dwujądrowych, obecność komórek z halo okołojądrowym, obecność komórek z wakuolizacją cytoplazmy, zmianę kształtu komórek oraz obecność leukocytów. Przeprowadzono również ankietę zawierającą pytania dotyczące nawyków higienicznych i rodzaju diety.

Wyniki. Chociaż u osób ze zdrową jamą ustną nie stwierdzono istotnych różnic w ocenianych parametrach cytologicznych przed zastosowaniem probiotyku i po nim, stan zdrowia komórek błony śluzowej jamy ustnej się poprawił.

Wnioski. Badanie wstępne sugeruje, że wykonanie badania cytologicznego u pacjentów z patologiami błony śluzowej jamy ustnej mogłoby wykazać różnice w morfologii komórek wynikające z działania leczniczego probiotyku (Dent. Med. Probl. 2015, 52, 3, 291–297).

Słowa kluczowe: probiotyki, jama ustna, cytologia.

Abstract

Background. Probiotics are defined as living microorganisms which, when administered in adequate amounts, confer a health benefit on the host. These non-pathogenic organisms are principally bacteria. Bacterial strains seem to be effective both in the prevention and treatment of various diseases. Probiotics can also be beneficial to oral health. They can reduce the risk of caries; can be helpful in the treatment of periodontal diseases and halitosis.

Exfoliative cytology is a diagnostic technique based on a microscopic evaluation of epithelial cells after they have been fixed and stained.

Objectives. The aim of the study was to assess and compare morphological alterations of oral mucosa epithelial cells in relationship with taking probiotic lozenges.

Material and Methods. Thirty volunteers (21 women and 9 men aged 22–26 years) were recruited from the 5th year of dental students at the Faculty of Medicine and Dentistry, Wrocław Medical University. All participants were healthy and without any pathologies in the oral cavity. During the first examination the condition of oral cavity was assessed and the first exfoliative cytology was obtained by scraping buccal mucosa with a sampling brush. Then, each individual had to take one BioGaia® lozenge containing *Lactobacillus reuteri protectis* once a day for 14 days. On the 15th day the second smear was taken. The smear cytology assessment took into account the following parameters: papanicolaou classification, cytoplasm eosinophilic index, karyopycnotic index, the presence of binucleated cells, cells with a perinuclear halo, cells with cytoplasmic vacuolization, alterations in cell shape and the presence of leukocytes. In the questionnaire patients were asked about their hygiene habits and diet.

Results. Although there were no statistical differences in the evaluated epithelial cells taken before and after probiotic treatment with regard to health of oral cavity, the condition of the oral mucosal cells has improved.

Conclusions. This preliminary study suggests that the cytological examination carried out in patients with oral mucosa pathologies can detect differences in oral epithelial cell morphology due to the therapeutic effect of probiotics (*Dent. Med. Probl.* 2015, 52, 3, 291–297).

Key words: probiotics, oral cavity, cytology.

Terminem probiotyki określa się żywe drobnoustroje, które jeśli są stosowane w odpowiednich dawkach, wywierają korzystny wpływ na zdrowie człowieka. Definicja probiotyków została przyjęta przez FAO (United Nations Food and Agriculture Organization) oraz przez WHO (World Health Organization) [1]. Najczęściej stosowanymi probiotykami są niepatogenne bakterie oraz drożdżaki *Saccharomyces boulardii*. Bakteriami o korzystnym działaniu zdrowotnym oraz profilaktycznym są drobnoustroje należące głównie do szczepów *Lactobacillus* sp. i *Bifidobacterium* sp. Drobnoustroje te stanowią fizjologiczną florę jelitową i od czasów ich odkrywcę Metchnikoffa są uważane za bezpieczne dla zdrowia. Probiotyczne szczepy izolowane z rodzaju *Lactobacillus* species to: *L. acidophilus*, *L. johnsonii*, *L. casei*, *L. rhamnosus*, *L. gasseri* oraz *L. reuteri*. Podobnie w probiotycznych szczepach *Bifidobacterium* wyróżnia się *B. bifidum*, *B. longum* i *B. infantis* [2, 3].

Spżywcze zastosowanie żywych drobnoustrojów ma długą historię. Probiotyki od lat były stosowane do fermentacji produktów mlecznych, obecnie są dodawane do wielu artykułów spożywczych, takich jak: mleko, sery, napoje mleczne i owocowe, jogurty czy gumy do żucia. Probiotyczne szczepy bakteryjne wykazują skuteczność w zapobieganiu i/lub leczeniu biegunki, grypy żołądkowo-jelitowej, chorób zapalnych przewodu pokarmowego (choroba Crohna, wrzodziejące zapalenie jelit), alergii u dzieci, hiperlipidemii, chorób wątroby, infekcji *Helicobacter pylori* i innych [4]. Mechanizm działania probiotyków można podzielić na trzy główne kategorie: regulacja mikrobioty jelitowej, modulacja odpowiedzi immunologicznej oraz działanie metaboliczne [5]. W ostatnich latach zwrócono również uwagę na ich korzystny wpływ na stan zdrowia jamy ustnej.

Jednym z dostępnych preparatów do stosowania w jamie ustnej jest BioGaia® w postaci tabletek do ssania zawierających *Lactobacillus reuteri* (opatentowane połączenie dwóch szczepów DSM 17938 oraz ATCC PTA 5289). Stwierdzono ich skuteczność w niechirurgicznym leczeniu zapaleń przyzębia istotną w porównaniu z grupą stosującą placebo [6].

Do oceny stanu błony śluzowej jamy ustnej, oprócz podstawowego badania klinicznego, wykorzystuje się wiele badań dodatkowych. Jednym z nich jest badanie cytologiczne. Cytodiagnostyka złuszczeniowa należy do badań małoinwazyjnych. Stosowana od lat 60. XX wieku jest prostą, szybką i nieinwazyjną metodą służącą do wczesnej diagnostyki zmian nowotworowych. Materiał do badania pozyskuje się z samoistnie złuszczonych komórek obecnych np. w ślinie, moczu lub komórki złuszcza się za pomocą specjalnych szczoteczek [7].

W cytodiagnostyce złuszczeniowej nabłonka jamy ustnej materiał pobrany za pomocą szczoteczki utrwała się na szkiełku za pomocą Cytofixu (preparat w aerozolu pokrywający materiał cytologiczny przezroczystą powłoką polimerową służący do utrwalania pobranych na szkiełko mikroskopowych rozmazów biologicznych) i potem barwi najczęściej metodami histochemicznymi, zwykle metodą HE (hematoksylina – eozyjna). Następnie w badaniu mikroskopowym ocenia się parametry cytologiczne, m.in. wg klasyfikacji Papanicolaou, kształt i wygląd komórek nabłonka oraz inne ich cechy morfologiczne. W badaniu cytometrycznym jest natomiast oceniana w sposób ilościowy (pomiar komputerowy) wielkość jądra komórkowego, cytoplazmy komórkowej oraz stosunek wielkości jądra do cytoplazmy [8, 9].

Celem badań było porównanie w badaniu cytologicznym wymazów z błony śluzowej jamy ustnej w stanie zdrowia i po zastosowaniu miejscowym preparatu zawierającego probiotyk (BioGaia).

Materiał i metody

Badania przeprowadzono w Poradni Chorób Przyzębia i Błony Śluzowej Jamy Ustnej Akademickiej Polikliniki Stomatologicznej we Wrocławiu w 2014 roku. Rozpoczęto je w grupie 43 ochotników – studentów V roku stomatologii Uniwersytetu Medycznego we Wrocławiu. Wszyscy zakwalifikowani do badań byli ogólnie zdrowi i nie obserwowano u nich zmian patologicznych w jamie ustnej. W czasie pierwszego badania oceniono stan jamy ustnej z zastosowaniem proksymalnego wskaźnika płytki (API%) oraz wskaźnika krwawienia (SBI%) [10], obecność wypełnień amalgamatowych oraz wykonywano wymaz szczoteczką do badań cytologicznych i pobierano materiał z powierzchni błony śluzowej policzka – błona śluzowa nieskeratynizowana. Następnie uczestnicy badań przez 14 dni ssali raz dziennie tabletkę preparatu BioGaia zgodnie z zaleceniem producenta. Podczas badań uczestnicy nie spożywali alkoholu. W piętnastym dniu wykonano drugi wymaz cytologiczny. W tym badaniu wyeliminowano 13 osób, które w czasie przyjmowania preparatu miały objawy anginy lub grypy i przyjmowały leki przeciwzapalne lub antybiotyki oraz kobiety będące w tym dniu w trakcie menstruacji. Ostatecznie grupa badana liczyła 30 osób.

W ewaluacji rozmazów uwzględniono następujące parametry oceny cytomorfologicznej: (1) klasyfikację Papanicolaou, (2) oezynochłonność cytoplazmy, (3) kariopyknozę, (4) obecność komórek dwujądrowych, (5) obecność komórek z halo okołojądrowym, (6) obecność komórek z wakuolizacją cytoplazmy, (7) zmianę kształtu komórek oraz (8) obecność leukocytów (komórek reakcji zapalnej). Przeprowadzono ankietę zawierającą pytania dotyczące nawyków higienicznych i rodzaju diety.

Obliczenia wykonano, korzystając z testu McNemary, przyjmując za istotny poziom $p \leq 0,05$.

Wyniki

W badanej grupie było 21 kobiet i 9 mężczyzn w wieku 22–26 lat (średnia 23,53). Większość (27 studentów) stosowała dietę zróżnicowaną, a tylko 3 wegetariańską. Ponad połowa badanych szczotkowała zęby więcej niż 2 razy dziennie. Wszyscy podawali stosowanie jednego lub więcej sposobów dodatkowego oczyszczania jamy ustnej:

stosowanie płukanek, używanie nici dentystycznych, żucie gumy. W czasie stosowania preparatu BioGaia nawyki higieniczne uczestników badania się nie zmieniały. Nikt z osób badanych nie palił papierosów. Średnie wartości wskaźników płytki i krwawienia wskazywały na higienę optymalną w całej grupie badanych, aczkolwiek zakres wartości obu wskaźników był szeroki i wynosił dla API od 7 do 58%, a dla SBI od 0 do 32%. Tylko jedna osoba miała wypełnienia z amalgamatu (tab. 1).

W ocenie cytologicznej błony śluzowej jamy ustnej posłużono się klasyfikacją Papanicolaou (PAP) (tab. 2) analogiczną do pięciostopniowej klasyfikacji cytologicznej rozmazów szyjki macicy.

Zarówno w badaniu wstępnym, jak i po zastosowanym preparacie z probiotykiem w wymazach występowały tylko komórki charakterystyczne dla I i II grupy wg Papanicolaou. W grupie I w rozmazie stwierdzono prawidłowe komórki powierzchniowych warstw nabłonka wielowarstwowego płaskiego oraz pojedyncze komórki zapalne. W grupie II obok komórek stwierdzanych w grupie I były obecne liczne komórki zapalne, komórki nabłonkowe wykazujące zmiany zwyrodnieniowe oraz komórki pochodzące z procesów regeneracyjnych. W badaniu wstępnym 21 wymazów odpowiadało grupie I, a 9 grupie II. Po zastosowanym preparacie do grupy I włączono natomiast 22 wymazy, a w grupie II pozostało 8.

Tabela 1. Charakterystyka badanych cech na podstawie ankiety i badania stomatologicznego

Table 1. Characteristics of obtained parameters based on the questionnaire and dental examination

Parametr Parameter	Liczba osób Number of persons
Mycie zębów 2 razy dziennie Brushing teeth twice a day	13
Mycie zębów więcej niż 2 razy dziennie Brushing teeth more frequently than twice a day	17
Dieta zróżnicowana Varied diet	27
Dieta wegetariańska Vegetarian diet	3
Obecność wypełnień amalgamatowych Amalgam fillings	1
Ocena stanu jamy ustnej The evaluation of oral cavity condition	
Średnia wartość wskaźnika API The mean score of API index	24,8%
Średnia wartość wskaźnika SBI The mean score of SBI index	8,75%

Tabela 2. Charakterystyka parametrów badania cytomorfologicznego wstępnego i po zastosowaniu preparatu z probiotykiem
Table 2. Characteristics of the results of the initial cytomorphological examination and after using probiotics

Parametry morfologiczne wymazów Cytomorphological parameters of smears	Badanie wstępne Initial examination n = 30	Badanie po zastosowaniu preparatu z probiotykiem Examination after using probiotics n = 30
Klasyfikacja PAP: klasa I/klasa II Papanicolaou classification: grade I/grade II	21/9	22/8
Eozynochłonność cytoplazmy: mała/duża Cytoplasm eosinophilic index: low/high	15/15	16/14
Kariopyknoza: brak/obecna Karyopycnosis: not present/present	30/0	29/1
Obecność komórek dwujądrowych: tak/nie The presence of binucleated cells: yes/no	8/22	4/26
Obecność halo okołojądrowego: tak/nie The presence of cells with a perinuclear halo: yes/no	3/27	3/27
Wakuolizacja cytoplazmy: brak/obecna Cells with cytoplasmic vacuolization: not present/present	27/3	30/0
Zmiana kształtu komórek: brak/obecna Alterations in cells shape: not present/present	27/3	29/1
Obecność leukocytów The presence of leukocytes	10 (2 liczne/8 nieliczne) 10 (2 numerous/8 few)	8 – nieliczne 8 – few

Eozynochłonność, czyli kwasochłonność cytoplazmy, stopień barwliwości cytoplazmy, odzwierciedla stopień jej zagęszczenia i intensywności zabarwienia barwnikiem eozyną. W badaniu pierwszym dużą eozynochłonność stwierdzono w 15 wymazach, a w drugim w 16. Kariopyknozy (zagęszczenie i obkurczenie jądra komórkowego) w wymazie wstępnym nie stwierdzono w żadnym z wymazów, w badaniu drugim była natomiast obecna w jednym preparacie. Komórki dwujądrowe charakteryzują się obecnością dwóch jąder i mogą być zmianą regeneracyjną. Po zastosowanym preparacie ich obecność w wymazach zwiększyła się z 22 wymazów do 26.

Obecność halo okołojądrowego (przejaśnienia cytoplazmy wokół jądra) jest wyrazem wakuolizacji cytoplazmy okołojądrowej i występuje jako cecha degeneracyjna, charakterystyczna dla zakażenia HPV, ale również w przebiegu zapalenia czy zwyrodnienia nabłonka. W obu pobieranych wymazach ta cecha była obecna w 3 przypadkach, z czego w dwóch od tych samych osób.

Wakuolizacja cytoplazmy to zmiana zwyrodnieniowa cytoplazmy w jej innej części niż okołojądrowa; cytoplazma jest niejednorodna – niehomogenna. W badaniu wstępnym cecha ta była obecna w 3 wymazach, w kolejnym nie stwierdzono komórek z niehomogenną cytoplazmą.

Biorąc pod uwagę zmianę kształtu komórek, oceniano liczbę komórek charakteryzujących się rozdęciem balonowatym i zaokrągleniem kształtu sugerującymi utratę połączeń międzykomórko-

wych. Parametr ten zaobserwowano w 3 wymazach wstępnym i tylko w 1 po zastosowanym preparacie.

Obecność leukocytów świadczących o stanie zapalnym stwierdzono w badaniu wstępnym w 10 wymazach, w tym w 2 były one liczne i w 8 nieliczne, a w wymazie drugim były obecne w 8 próbkach i opisane wyłącznie jako zaledwie nieliczne.

U dwóch badanych osób stwierdzono w wymazie pierwszym kilka współistniejących nieprawidłowości komórkowych. W preparacie od osoby o inicjałach D.B. wykazano 2 grupę wg klasyfikacji PAP, dużą kwasochłonność komórek, obecność komórek dwujądrowych, z obecnością halo okołojądrowego oraz obecnością wakuolizacji cytoplazmy i z licznymi leukocytami. W drugim natomiast (osoba o inicjałach S.S.) zaobserwowano te same parametry, ale bez cech wakuolizacji cytoplazmy. Po zastosowaniu probiotyku w wymazie pobranym od osoby o inicjałach D.B. stwierdzono tylko wysoką kwasochłonność komórkową i obecność halo okołojądrowego. Pozostałe cechy zostały wyeliminowane. W drugim wymazie pobranym od osoby o inicjałach S.S. nie zaobserwowano tylko kariopyknozy, wszystkie zaś poprzednie nieprawidłowości komórkowe były nadal obecne.

Nie stwierdzono różnic statystycznych między badaniami wstępnym i po zastosowaniu preparatu z probiotykiem w następujących ocenianych parametrach: klasyfikacji PAP, stopniu eozynochłonności cytoplazmy, obecności komórek dwujądrowo-

wych, zmiany kształtu komórek oraz obecności leukocytów (tab. 3)

Ocena statystyczna dla obecności kariopyknozy, obecności halo okołojądrowego oraz wakuolizacji cytoplazmy nie była natomiast możliwa ze względu na brak zmian.

Omówienie

W ocenie wpływu probiotyków na stan jamy ustnej wykonano wiele badań. Zbadano wpływ probiotyków na ekosystem, jakim jest jama ustna, na stan przyzębia, działanie przeciwpróchnicowe oraz obecność objawów ubocznych wynikających z ich stosowania [4, 5, 11].

W środowisku jamy ustnej bakterie probiotyczne tworzą biofilm stanowiący barierę ochronną dla błony śluzowej, ograniczając obecność stanu zapalnego i uszkodzeń błony śluzowej [5]. Zaobserwowano działanie profilaktyczne probiotyków w odniesieniu do choroby próchnicowej zębów przez hamowanie kolonizacji bakterii próchnicotwórczych, choć wyniki nie były zawsze jednoznaczne [4, 12–14].

Opisano korzystne ich działanie w leczeniu chorób przyzębia. Wykazano skuteczność *Lactobacillus reuteri* w ograniczaniu stanu zapalnego oraz płytki nazębnej u pacjentów z zapaleniem dziąseł [15].

Çaglar et al. [16] zasugerowali, że probiotyki mogą być pomocne w utrzymywaniu żywotności

Tabela 3. Porównanie ocenianych parametrów w badaniu wstępnym i po zastosowaniu probiotyku

Table 3. The comparison of evaluated parameters of the initial probiotics cytomorphological examination and after using probiotics

Klasyfikacja Papanicolaou Papanicolaou classification		Po zastosowaniu probiotyku After using probiotics	
		2	1
Badanie wstępne The initial examination	1	2	19
	2	6	3
$\chi^2 = 0,00$ test McNemary $p = 1,00$			
Eozynochłonność cytoplazmy Cytoplasm eosynophilic index		po zastosowaniu probiotyku after using probiotics	
		2	1
Badanie wstępne The initial examination	1	4	11
	2	10	5
$\chi^2 = 0,00$ test McNemary $p = 1,00$			
Obecność komórek dwujądrowych The presence of binucleated cells		po zastosowaniu probiotyku after using probiotics	
		1	0
Badanie wstępne The initial examination	0	1	21
	1	3	5
$\chi^2 = 1,50$ test McNemary $p = 0,22$			
Zmiana kształtu komórek Alterations in cells shape		po zastosowaniu probiotyku after using probiotics	
		1	0
Badanie wstępne The initial examination	0	1	26
	1	0	3
$\chi^2 = 0,25$ test McNemary $p = 0,61$			
Obecność leukocytów The presence of leukocytes		po zastosowaniu probiotyku after using probiotics	
		1	0
Badanie wstępne The initial examination	0	2	18
	1 + 2	6	4
$\chi^2 = 0,17$ test McNemary $p = 0,68$			

komórek przyczepu nabłonkowego. W badaniach wykazano, że szczepki probiotyczne mają wpływ na miejscową i ogólną odpowiedź immunologiczną przez zwiększenie produkcji immunoglobuliny A (IgA) oraz defensyn, a także przez hamowanie działania kolagenazy i produkcji cytokin prozapalnych [2, 5]. Probiotyki były również stosowane profilaktycznie oraz leczniczo w halitozie [17]. Opisano skuteczność probiotyków w leczeniu zakażeń *Candida*. Badanie wykonano w grupie osób starszych spożywających przez 16 tygodni probiotyki zawarte w serze. Po tym czasie wykazano zmniejszenie liczby patogenów, lecz bez wyraźnej poprawy stanu klinicznego błony śluzowej jamy ustnej [18].

W badaniach własnych wymazy cytologiczne pobierano ze zdrowej błony śluzowej w klinicznie zdrowej jamie ustnej przed dwutygodniowym stosowaniem preparatu z probiotykiem oraz po nim. Wyeliminowano wszystkie czynniki miejscowe i ogólne, które mogłyby mieć wpływ na stan komó-

rek nabłonka błony śluzowej jamy ustnej. Zauważono nieistotną statystycznie poprawę w ocenie stanu zdrowia jamy ustnej związaną z obecnością mniejszej liczby leukocytów, a jeden preparat zmienił klasyfikację z II na I klasę wg Papanicolaou. Po stosowaniu probiotyku stwierdzono ponadto zmniejszenie się o 4 liczby wymazów z komórkami dwujądrowymi i o 3 liczby wymazów z wakuolizacją cytoplazmy. Ponadto w drugim badaniu pozostał tylko 1 wymaz z obecnością komórek o zmienionym kształcie. Natomiast liczba wymazów z komórkami mającymi halo okołojądrowe się nie zmieniła.

Stosowanie preparatu BioGaia może mieć wpływ na jakość komórek nabłonka błony śluzowej, a pośrednio na stan zdrowia jamy ustnej. Zwraća uwagę tendencja do eliminacji komórek nacieku zapalnego (leukocytów) pod wpływem stosowania probiotyku. Z uwagi jednak na niewielką liczebność preparatów wykazujących morfologiczne cechy zapalenia nie można jednoznacznie uznać tego parametru za pewny indyktor regresji zapalenia.

Piśmiennictwo

- [1] Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food. London Ontario, Canada, April 30 and May 1, 2002.
- [2] GUPTA G.: Probiotics and periodontal health. *J. Med. Life* 2011, 4, 387–394.
- [3] SZAJEWSKA H.: Probiotics in Poland – when, which and why? *Gastroenterol. Klin.* 2010, 2, 1–9 [in Polish].
- [4] FLICHY-FERNANDEZ A.J., ALEGRE-DOMINGO T., PENARROCHA-OLTRA D., PENARROCHA-DIAGO M.: Probiotic treatment in the oral cavity: an update. *Med. Oral Patol. Oral Cir. Bucal.* 2010, 15, 677–688.
- [5] HAUKIOJA A.: Probiotics and oral health. *Eur. J. Dent.* 2010, 4, 348–355.
- [6] VIVEKANANDA M.R., VANDANA K.L., BHAT K.G.: Effect of the probiotic *Lactobacilli reuteri* (Prodentis) in the management of periodontal disease: a preliminary randomized clinical trial. *J. Oral Microbiol.* 2010, 2, 2–11
- [7] DINIZ-FREITAS M., GARCÍA-GARCÍA A., CRESPO-ABELLEIRA A., MARTINS-CARNEIRO J.L., GÁNDARA-REY J.M.: Applications of exfoliative cytology in the diagnosis of oral cancer. *Med. Oral.* 2004, 9, 355–361.
- [8] MEHROTRA R.: The role of cytology in oral lesions: a review of recent improvements. *Diag. Cytopathol.* 2012, 40, 73–83.
- [9] MEHROTRA R., HULLMANN M., SMEETS R., REICHERT T.E., DRIEMEL O.: Oral cytology revisited. *J. Oral Pathol. Med.* 2009, 38, 161–166.
- [10] ZAWADA Ł., KONOPKA T.: New periodontal indices. *Dent. Med. Probl.* 2011, 48, 243–250 [in Polish].
- [11] HEMPEL S., NEWBERRY S., RUELAZ A., WANG Z., MILES J.N., SUTTORP M.J., JOHNSEN B., SHANMAN R., SLUSSER W., FU N., SMITH A., ROTH B., POLAK J., MOTALA A., PERRY T., SHEKELLE P.G.: Safety of probiotics used to reduce risk and prevent or treat disease. *Evid. Rep. Technol. Assess* 2011, 200, 1–645.
- [12] TWETMAN S., KELLER M.K.: Probiotics for caries prevention and control. *Adv. Dent. Res.* 2012, 24, 98–102.
- [13] CAGETTI M.G., MASTROBERARDINO S., MILIA E., COCCO F., LINGSTRÖM P., CAMPUS G.: The use of probiotic strains in caries prevention: a systematic review. *Nutrients*, 2013, 7, 2530–2550.
- [14] ÇAGLAR E., CILDIR SK., ERGENELI S., SADALLI N., TWETMAN S.: Salivary mutans *streptococci* and *lactobacilli* levels after ingestion of the probiotic bacterium *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 by straws or tablets. *Acta Odont. Scand.* 2006, 64, 314–318.
- [15] 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 55–60.
- [16] ÇAGLAR E., SANDALLI N., KUSCU O.O., DURHAN M.A., PISIRICILER R., AK CALISKAN E., KARGUL B.: Viability of fibroblasts in a novel probiotic storage media. *Dent. Traumatol.* 2010, 26, 383–387.
- [17] KELLER M.K., BARDOW A., JENS DOTIR T., LYKKEAA J., TWETMAN S.: Effect of chewing gums containing the probiotic bacterium *Lactobacillus reuteri* on oral malodour. *Acta Odontol. Scand.* 2012, 70, 246–250.
- [18] HATAKKA K., AHOLA A.J., YLI-KNUUTILA H., RICHARDSON M., POUSSA T., MEURMAN J.H., KORPELA R.: Probiotics reduce the prevalence of oral *candida* in the elderly – a randomized controlled trial. *J. Dent. Res.* 2007, 86, 125–130.

Adres do korespondencji:

Magdalena Mendak-Ziółko
Zakład Patologii Jamy Ustnej
Katedra Periodontologii
Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu
ul. Krakowska 26
50-425 Wrocław
tel.: 71 784 03 83
e-mail: m-mendak@wp.pl

Konflikt interesów: nie występuje

Praca wpłynęła do Redakcji: 13.12.2014 r.

Po recenzji: 29.01.2015 r.

Zaakceptowano do druku: 08.03.2015 r.

Received: 13.12.2014

Revised: 29.01.2015

Accepted: 08.03.2015