



Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

**LACTOBACILOS EN ALGUNOS PRODUCTOS
LÁCTEOS Y SU INFLUENCIA EN LA CARIES
DENTAL**

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

CIRUJANA DENTISTA

P R E S E N T A :

GRISSELL VALADEZ LOAIZA

DIRECTORA DE TESIS :

MTRA. MARÍA G. HIROSE LÓPEZ



México D.F.

JUNIO 2002

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

A mis padres
Virginia Loaiza Jiménez
Manuel Valadez García

AGRADEZCO

Infinitamente a **Baltazar Olguín Olivares**, por su gran apoyo y sus valiosos consejos

A mi hermana **Ruth**, por participar con entusiasmo en mis labores escolares

A la **Mtra. María G. Hirose López** porque sin su orientación no hubiera sido posible la realización de este trabajo.

A la **C.D. Rosa Eugenia Vera Serna**, porque gracias a sus valiosas orientaciones encauzó mi vocación.

A **Dr. Mariano García Garibay**, por la aportación de conocimientos brindados

Durante el desarrollo de esta tesina

A **Dulce**, por haberme brindado su amistad y valiosas experiencias durante los 5 años de licenciatura.

A todos los **profesores** que de alguna u otra influyeron en mi desarrollo académico y profesional.

A todas **aquellas personas** que hicieron posible la realización de esta tesina

A **Dios**, porque gracia a él estoy aquí, sin él nada de esto hubiera sido posible.

ÍNDICE

Introducción	1
1 Grupos específicos de la microflora oral	2
1.1 Etiología de la caries dental	3
1.2 Lactobacilos y caries dental	4
1.3 Teorías microbianas en la génesis de la caries dental	6
1.3.1 La leyenda del gusano	6
1.3.2 Teorías Endógenas	6
1.3.3 Teorías Exógenas	6
1.3.4 Teoría Quimioparasitaria	7
1.3.5 Teoría Proteolítica	8
1.3.6 Teoría Proteolisis-Quelación	8
1.4 Dieta y Caries	10
2 Bases Histológicas	13
2.1 Esmalte	13
2.2 Dentina	16
2.3 Cemento	19
2.4 Saliva	21
2.5 Placa dentobacteriana	23
2.6 Aspectos Histológicos de la lesión de caries	24
3 Bacterias del Ácido Láctico (LAB)	28
3.1 Características microbiológicas y clasificación	30
3.2 Rutas de fermentación de la glucosa	34
3.3 Disacáridos consumidos en la dieta	35
3.4 Importancia de los probióticos	36
3.5 Probióticos y la salud dental	37

4 Componentes antimicrobianos de las bacterias de ácido láctico (LAB)	39
4.1 Dióxido de carbono	40
4.2 Bacteriocinas	41
4.3 Adhesividad de los lactobacilos a la mucosa oral	43
4.4 Adhesividad de los lactobacilos a la estructura dental	46
4.5 Propiedades antimicrobianas de Lb. rhamnosus y Lb. reuterin	47
4.6 Bacteriocinas de algunas especies de lactobacilos	50
5 Componentes de los productos lácteos que favorecen la prevención de la caries dental	51
5.1 Algunos otros lactobacilos adicionados a los productos lácteos	52
Conclusiones	55
Bibliografía	57

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, los productos lácteos con lactobacilos adicionados han alcanzado un gran auge, siendo el yoghurt y las leches fermentadas los más consumidos.

A los lactobacilos se les atribuye un sinnúmero de cualidades, entre las que destacan la prevención de enfermedades enterohepáticas así como padecimientos respiratorios debido, entre muchas otras propiedades, a la capacidad que poseen de adherirse a este tipo de mucosas así como el gran potencial de inhibir la proliferación de algunos microorganismos que resultan dañinos para la salud del individuo.

Resulta muy interesante cuestionarnos si estas bacterias productoras de ácido láctico (LAB) tienen los mismos efectos en la cavidad oral si consideramos que tanto la mucosa oral como la intestinal poseen características similares. ¿Pero cuál sería entonces el mecanismo de acción de estas bacterias en la cavidad oral? ¿Resultarían benéficas o patógenas para la salud oral? Para resolver estas preguntas, debemos de tomar en cuenta que la cavidad oral es un medio favorable para la proliferación de cierto tipo de microorganismos y es muy probable que la ingesta de determinado producto fermentado pueda ocasionar la colonización de los lactobacilos en la mucosa oral y así favorecer un incremento en el desarrollo de la caries dental.

El objetivo de esta investigación bibliográfica, es tratar de determinar que tan patógenos pueden llegar a ser los lactobacilos de algunos productos lácteos en la población infantil, así como la relación que existe entre el consumo frecuente de estos productos así como su colonización en la cavidad oral.

1. GRUPOS ESPECÍFICOS DE LA MICROFLORA ORAL

Dentro de la cavidad oral existen numerosos microorganismos que viven en simbiosis creando un equilibrio dentro de la boca, que bajo condiciones normales, en ausencia de cualquier alteración sistémica o local, estos microorganismos no resultan patológicos, mientras que, ante la presencia de alguna de las causas mencionadas, el entorno bucal se encuentra alterado. Será entonces cuando estos microorganismos proliferen en cantidades excesivas, trayendo como consecuencia el surgimiento de enfermedades. Tal es el caso de la caries dental, tornándose así la microflora dental en oportunista.

Debe tomarse en cuenta que, para poder abordar cualquier tipo de alteración en boca, es necesario conocer la flora normal de la cavidad oral bajo condiciones normales y así entender con claridad el proceso patológico.

Dentro del grupo de las bacterias que pertenecen al grupo de homofermentativos, estudios recientes muestran que los principales bacilos esporulados presentes en la saliva de los niños son los *Lactobacillus casei* en un 39%, los *Lactobacillus acidophilus* en un 11%, cerca del 2% se encuentra representado por *Lactobacillus salivarius*, *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus arabinosus*. Con respecto a los heterofermentativos, se encuentran *Lactobacillus fermentum* en un 30%, *Lactobacillus buchneri* en un 5%, *Lactobacillus brevis*, 6% y *Lactobacillus cellobius* en menos de 1%.

De las especies de enterococos que han sido identificadas, se encuentran: además de *Streptococcus mutans*, *Streptococcus mitis* y *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus faecalis*, en un 82%, *Streptococcus licuefaciens* en un 11% y *Streptococcus zymogenes* en un 6.6%.

Estos últimos no se encuentran tan abundantemente en la flora bucal de los niños como en el caso del paciente adulto.

Las levaduras son más abundantes en niños cuyas edades oscilan entre 1 mes y 1 año de edad (46.5%), en tanto que de 1 año a 6 años se encuentran en cantidades ligeramente más bajas (38.5%).

Las especies más destacadas fueron: *Cándida albicans* 93.8%, *Candida tropicalis* (2.1%) *Cándida stellatoidea* (1.4%) *Candida pseudotropicalis* y otras especies (1%), tomándose en cuenta que mientras más bajo sea el pH salival, existirá una mayor proliferación de levaduras.¹

Igualmente podemos encontrar algunas bacterias filamentosas, tales como: *Actinomyces israelii*, *Actinomyces naeslundii*, *Actinomyces odontotoliticus*, hallado en lesiones de caries, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Eikenella corrodens*, *Mycoplasma salivarium*, *Micrococcus lactilyticus*, *Pseudomonas putida* y *Pseudomonas fluorescens* entre otras especies.²

1.1 ETIOLOGÍA DE LA CARIES DENTAL

La caries dental se considera una enfermedad multifactorial, resultado de la intervención de tres factores principales: el huésped (diente y saliva), la microbiota y la dieta. Es necesaria la interacción de estos tres elementos durante un periodo de tiempo suficiente para que se desarrolle el proceso carioso.

El huésped es la persona que padece la enfermedad. El diente es el órgano involucrado en el proceso y puede encontrarse con distinta susceptibilidad o resistencia para desarrollar la patología ante el mismo estímulo. Debe tomarse en cuenta también la saliva, ya que constituye uno de los factores de protección de más impacto frente a la caries.

¹ Nolte William A. Microbiología Odontológica. 4ª. Ed. México: Interamericana, págs. 228-231

² ibid. pág. 233

La microflora cariogénica, localizada en sitios específicos de la boca, constituye los agentes que producen las sustancias químicas (ácidos orgánicos y enzimas proteolíticas) que causan la destrucción de los componentes inorgánicos y orgánicos del diente.

El sustrato local, es decir, la dieta, proporciona los requerimientos nutricionales y por lo tanto energéticos a los microorganismos orales, permitiéndoles así colonizar, crecer y multiplicarse sobre superficies dentarias selectivas.

1.2 LOS LACTOBACILOS Y LA CARIES DENTAL

Los lactobacilos representan una de las bacterias cariogénicas de mayor importancia dentro de la cavidad oral; para poder comprender el mecanismo cariogénico es necesario explicar la forma en la que actúan este tipo de bacterias.

Los lactobacilos son bacterias grampositivas con forma de bastón y pertenecen a uno de los géneros de bacterias orales que producen ácido láctico.

Con frecuencia se encuentran en la saliva y en la placa dental, pero por lo general sólo forman una pequeña porción del total de la población bacteriana.

Una característica significativa de los lactobacilos es que son resistentes a valores bajos de pH (acidúricos), y pueden crecer bajo condiciones que inhiben a las otras bacterias productoras de ácido láctico. Aunque se ha demostrado que los estreptococos son los principales productores de la caries dental, también se han encontrado lactobacilos, y se cree que estos son el resultado de un fenómeno secundario, por lo que podemos decir que el ácido que producen los lactobacilos sirve para extender la lesión.³

³ Williams R.A.D. Bioquímica Dental básica y Aplicada. México: Manual Moderno. 1982. Pág. 290

Resulta interesante la capacidad de las cepas cariogénicas para almacenar polisacáridos intracelulares del tipo de glucógeno. Esta reserva intracelular puede metabolizarse en ácido láctico cuando se agotan los carbohidratos exógenos, ampliándose el periodo durante el cual la cepa puede producir ácido.

En la placa dental humana una cepa que no almacenara glucógeno sería capaz de producir sólo ácido en las cantidades significativas en tanto que los azúcares estén disponibles en boca. En el caso contrario, una cepa capaz de acumular polisacáridos durante la ingestión del alimento puede utilizar la reserva para el metabolismo energético una vez que la boca esté libre de comida. Las bacterias pueden volver a almacenar polisacáridos intracelulares durante los cortos periodos que proporcionan las comidas frecuentes.

Las características de las bacterias cariogénicas son las siguientes:

- 1.- La capacidad para fermentar carbohidratos, y al hacerlo reducir el pH entre 4 y 5. Estos son los valores de pH a los cuales se lleva a cabo la descalcificación del esmalte.
- 2.- La capacidad de producir una reserva de polisacáridos del tipo de glucógeno intracelular a partir de azúcares. Esta reserva se utiliza como un sustrato para la fermentación cuando los carbohidratos exógenos no están disponibles
- 3.- La capacidad de producir polisacáridos extracelulares (diferentes del glucógeno intracelular), los cuales ocasionan que las células se adhieran unas a otras, y quizá a la superficie del diente. Tales polímeros se forman a través de sacarosa.⁴

⁴William. R.A.D Op. Cit. pág. 292

1.3 TEORÍAS MICROBIANAS EN LA GÉNESIS DE LA CARIES DENTAL

Han sido relativamente numerosas las teorías que, a lo largo de la historia, han intentado explicar la etiología de la caries. Sin embargo, las teorías microbianas empiezan a aparecer al final del siglo XIX, coincidiendo lógicamente con el desarrollo inicial de la microbiología.

1.3.1 LA LEYENDA DEL GUSANO

Es la más antigua, y en ella se atribuía a los gusanos la destrucción y el dolor de dientes. Esta teoría fue recogida en una leyenda asiria en el siglo VII a.C. La idea de que la caries la originaba un gusano fue una creencia casi universal, y tuvo vigencia hasta el siglo XIX.

1.3.2 TEORÍAS ENDÓGENAS

Los antiguos griegos achacaron todas las enfermedades, entre ellas la caries, a un desequilibrio entre los humores o líquidos elementales del cuerpo; sangre, flema, bilis amarilla y bilis negra. Fue la denominada teoría humoral.

A finales del siglo XVIII, la teoría vital consideraba que la caries se originaba en el propio diente, de forma análoga a la gangrena de los huesos. Hasta ese momento las teorías sobre la etiología de la caries eran empíricas y carecían de bases científicas.

1.3.3 TEORÍAS EXÓGENAS

A principios del siglo XIX, aparecen las teorías exógenas con un enfoque más científico. La primera de ellas es la teoría química. Parmly sugiere que un agente químico no identificado era el responsable de la caries, y apoyando esta teoría, se realizaron algunas experiencias con ácidos inorgánicos, observando que estos corroían el esmalte y la dentina.⁵ Poco

⁵ Liebana Ureña, J. Microbiología Oral. México: Mc Graw Hill. 450 págs.

tiempo después, algunos científicos descubrieron la presencia de organismos filamentosos (*denticolae*) en la superficie de los dientes y en las cavidades de las lesiones cariosas. Esta teoría parasitaria ó séptica, dedujo que las bacterias causaban la destrucción del diente, pero no explicaba cómo ocurría.

1.3.4 TEORÍA QUIMIOPARASITARIA DE MILLER

A finales del siglo XIX se desarrolla la teoría quimioparasitaria, que puede considerarse como la unificación de las anteriores. En resumen, señala que la causa de la caries son los ácidos producidos por los microorganismos de la boca. La teoría de Miller se debe en parte a la influencia de otros científicos de la época. Pasteur había descubierto que los microorganismos transformaban el azúcar en ácido láctico, y Magitor (1867) demostró que la fermentación de los azúcares causaba la disolución del mineral dental *in vitro*.

Las características esenciales de la teoría quimioparasitaria son las siguiente:

- Los microorganismos de la boca descomponen los hidratos de carbono fermentables para formar ácidos.
- Los hidratos de carbono de la dieta alojados sobre las superficies dentarias son la fuente del ácido que desmineraliza los dientes
- Diferentes bacterias orales invaden la dentina cariada.
- La destrucción final de la dentina se produce por la secreción de enzimas proteolíticas que digieren la parte orgánica de la misma.

Miller resumió de la siguiente manera: "La caries dental es un proceso quimioparasitario que consiste en dos etapas, descalcificación o reblandecimiento de los tejidos y disolución del tejido reblandecido. En el caso del esmalte, sin embargo, la segunda etapa está prácticamente ausente; la descalcificación del esmalte significa su destrucción total".

Esta teoría es la base fundamental en la que se apoya el conocimiento y comprensión actual de la etiología de la caries, aunque no aclara algunos puntos como cuáles son los microorganismos que participan en este proceso, ni tampoco los sitios predilectos de estos para actuar.⁶

1.3.5 TEORÍA PROTEOLÍTICA

Gottlieb, en 1944, sostuvo que el ataque inicial que sufría el esmalte era proteolítico: las bacterias invadían el componente orgánico del esmalte, y por acción proteolítica, iniciaban la caries. Sólo de forma secundaria las sales orgánicas eran disueltas por bacterias acidógenas.

Actualmente esta teoría se encuentra descartada, debido a que es improbable que el fenómeno comience de esta manera.⁷

1.3.6 TEORÍA PROTEOLISIS-QUELACIÓN

Fue descrita por Scharz en 1955. La caries constituía una acción proteolítica bacteria y enzimática sobre el componente orgánico del diente, lo que produciría una lesión inicial que daría lugar a una liberación de agentes quelantes (a.a., ácidos orgánicos, polifosfatos), que serían los causantes de la disolución del diente.

⁶ Liébana Ureña J Op. Cit . págs.451

⁷ idem

Propone que la quelación del Ca^{2+} a pH neutro por aniones de ácido carboxílico o derivados de carbohidratos que producen las bacterias como un mecanismo para eliminar la fracción inorgánica. Aunque la disolución de un componente mineral puede deberse a la quelación, no parece tener un papel importante en la etiología de la caries, debido a que el componente orgánico del esmalte humano es mínimo.⁸

Todo este análisis acerca de las teorías solo nos lleva a pensar, que Miller no se encontraba alejado de la realidad, por lo que podemos resumir de manera general diciendo:

Miller, descubrió que al incubar los dientes con saliva y carbohidratos, se formaba ácido y que algo del fosfato de calcio de los dientes se disolvía. Además encontró que en cuanto los dientes se incubaban con saliva, en ausencia de carbohidratos, no eran atacados. Concluyó que las bacterias salivales formaban ácido a partir de los carbohidratos y ésta era la causa de que la estructura de los dientes influía sobre su resistencia a los ácidos.⁹

La evidencia de esta teoría se ha acumulado en forma continua y, en particular, el descubrimiento de que el pH en la placa después de consumir azúcar puede ser menor que el valor crítico al cual se disuelve el esmalte.

De lo descrito por Miller, podemos decir que no hay duda de que el pH puede disminuir intermitentemente por debajo del valor normal trayendo como consecuencia la desmineralización de los dientes, sobretodo después de abstenerse el cepillado, al igual que en los sitios donde el cepillado se dificulta o en donde es difícil que la saliva llegue. Se sabe que los valores de pH en las cavidades cariosas son más bajos que en los tejidos vecinos.¹⁰

⁸ Liébana Ureña J. Op. Cit. Pág.452

⁹ Neil Jenkins G. Fisiología y Bioquímica Bucal. 1ª Ed. México: Limusa, 1993

¹⁰ibid. pág. 34

Muchos investigadores han encontrado una correlación entre el grado de la caries, el número de *Streptococcus mutans* y *Latobacillus acidophilus* y la producción de ácido por incubación de ácido y glucosa.

1.4 DIETA Y CARIES

La caries dental puede considerarse como una infección que se encuentra íntimamente ligada a la dieta, debido a que existe una íntima relación entre la caries dental y el consumo de hidratos de carbono. El azúcar más cariogénico es la *sacarosa* y sólo a partir de este azúcar pueden determinadas bacterias orales sintetizar polisacáridos extracelulares solubles e insolubles.

Para evaluar el papel cariogénico de la dieta, deberán tenerse en cuenta otros factores además de la cantidad y el tipo de azúcar. La frecuencia del consumo más que la cantidad total de azúcar consumida es de importancia decisiva en el desarrollo de la caries. La consistencia de los alimentos condiciona también su cariogenicidad.

Alimentos retentivos y pegajosos que se adhieren a la superficie del diente, (miel, bombones) son potencialmente más cariogénicos que aquellos que resultan detergentes, como aquellos que estimulan la salivación.¹¹

El momento de la ingesta tiene también importancia, ya que si se consumen alimentos ricos en azúcares durante las comidas, cuando el flujo salival está estimulado, la eliminación es más rápida que cuando el mismo alimento es ingerido entre comidas, o peor aún antes de acostarse cuando el flujo salival es menor y prácticamente nulo durante el sueño.

Cambiar los hábitos dietéticos de los niños depende básicamente de los padres, que estos estén convencidos, que lo apliquen en ellos mismos para que así puedan transmitirlo a sus hijos, labor que resulta un poco complicada.

¹¹ Liébana. Ureña J. Op. Cit. pág. 456

Deberá llevarse a cabo una dieta equilibrada que contenga todos los alimentos capaces de aportar al organismo la energía y los nutrientes necesarios para su correcto funcionamiento.

El uso del azúcar debe racionalizarse fundamentalmente disminuyendo la frecuencia del consumo de productos dulces y pegajosos. En algunos productos, la sacarosa puede ser reemplazada por sustitutos del azúcar menos cariogénicos, también llamados edulcorantes, que pueden definirse como aquellas sustancias naturales o artificiales capaces de transferir un sabor parecido a la sacarosa.¹²

Básicamente, hay dos grupos principales de sustitutos del azúcar: los edulcorantes no calóricos y los calóricos, y dentro de estos últimos se distinguen, a su vez, los azúcares y los polialcoholes.

La sacarosa ha sido sustituida por otros azúcares, entre los que destaca la glucosa, la fructosa, productos obtenidos del maíz: jarabe de maíz con alto contenido de glucosa, y jarabe de maíz con alto contenido de fructosa.¹³ Aunque comparados con la glucosa resultan tener menor grado de cariogenicidad, no son recomendables. Por otro lado la lactosa posee un potencial de cariogenicidad menor a los otros tipos de azúcar. Todas estas fuentes de energía pertenecen al grupo de los edulcorantes calóricos y representan una clave importante en el desarrollo de nuestro trabajo.

EDULCORANTES CALÓRICOS	
EDULCORANTE	CARIOGENICIDAD
Sacarosa	Muy alta
Glucosa	Alta
Fructosa	Alta
Jarabe de maíz (rico en F)	Alta
Jarabe de maíz (rico en G)	Alta
Lactosa	Moderada

¹² Liébana Ureña Op. Cit Pág. 457

¹³ idem

Dentro de los polialcoholes que son considerados como sustitutos del azúcar destacan: el manitol, el sorbitol y xilitol, y dentro de los endulcorantes no calóricos encontramos: a la sacarina, el aspartame y ciclamato de sodio.¹⁴ Todos ellos tienen poco o nulo potencial de cariogenicidad.

¹⁴ Liébana Ureña J. Op. Cit. pág. 459

2. BASES HISTOLÓGICAS

Para comprender mejor los cambios que produce la caries dental en la estructura histológica del esmalte, la dentina y el cemento, es necesario manejar ciertos conceptos básicos propios de las distintas estructuras de estos tejidos, que son los que se modifican, facilitan u oponen resistencia al proceso de desmineralización o remineralización que conlleva la enfermedad.

2.1 ESMALTE

Es un tejido de origen ectodérmico y por ello no posee colágeno en su estructura. El contenido orgánico, representado por proteínas de alto peso molecular, las enamelinas, representan junto con el agua apenas el 4% en peso de la totalidad del tejido. El esmalte es un tejido altamente mineral donde los cristales de hidroxiapatita representan casi la totalidad del peso restante.¹⁵

Dentro de los minerales presentes en la estructura del esmalte, destacan principalmente: Ca, P, CO₂, (presente como carbonato), Na, Mg, Cl, K, F, Fe, Zn entre otros.

La concentración de algunos compuestos inorgánicos del esmalte varía con la distancia a la superficie del diente, tal es el caso de la concentración de Ca y P, la cual tiende a decrecer de la superficie hacia la unión esmalte-dentina, mientras que la concentración del carbonato aumenta de la superficie hacia la unión amelodentinaria.

Parece ser que la distribución de carbonatos se encuentra fija antes de que erupcionen los dientes, y no se afecta en forma crucial al estar expuestos en la boca.

¹⁵ Seif R. Tomás Cariología Dental Prevención Diagnóstico y Tratamiento contemporáneo. 1ª ed. México: Actualidades Médico Odontológicas, 1997. pág. 64

Existen concentraciones más altas de Na en las regiones internas del esmalte que en la superficie, debido a que el sodio se asocia con el agua en el esmalte, cuya concentración es más alta en el interior. El Mg tiene el mismo patrón de distribución que el carbonato y el Na.

La concentración de Cl declina gradualmente desde la superficie hasta la unión esmalte-dentina, distribución presente desde antes de la erupción dentaria.¹⁶

El F es el elemento inorgánico que muestra una variación en cuanto a su concentración, siendo alta en la zona superficial y va disminuyendo en forma brusca en la unión esmalte-dentina; puede haber en ocasiones un ligero aumento en dicha zona.¹⁷

La estructura básica del esmalte está regida por la presencia de prismas que lo recorren en dirección perpendicular, desde el límite amelodentinario hasta la superficie externa. Tales prismas corresponden al producto de secreción de un ameloblasto. Éste deposita una matriz orgánica en la que se inicia un proceso de mineralización y maduración, que se convierte en una estructura calcificada. El grado de mineralización es menor en la interfase entre un prisma y otro (vainas del prisma), en las estriaciones transversales del prisma y en las líneas de descanso más prolongados durante su aposición (estrías de Retzius).

Cada prisma se encuentra formado por muchos cristales de hidroxiapatita agrupados de manera que deja espacios entre ellos, que son ocupados por proteína y agua.

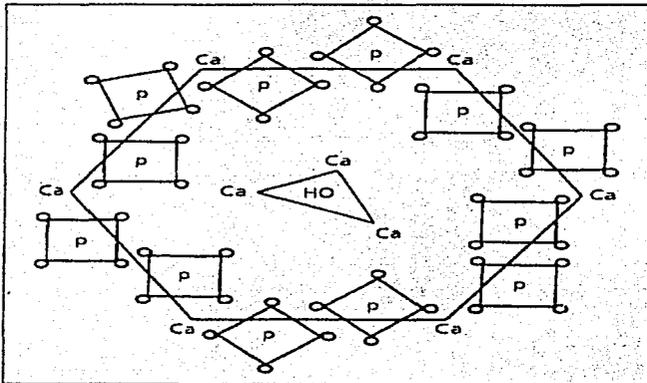
Los cristales de hidroxiapatita forman un sistema hexagonal que resulta de la saturación de iones calcio y fosfato.

¹⁶ Williams R.A.D Op. Cit. págs. 236-237

¹⁷ibid. Pág. 238

Los procesos de Tomes, la porción más apical de los ameloblastos, juegan un papel importante en la organización y disposición de los cristales en el interior de los prismas.

Durante el desarrollo de cada cristal en particular, el proceso comienza con un núcleo inicial de rápida mineralización, seguida por un proceso de maduración, siendo la estructura del cristal de mayor pureza en la periferia y de menor pureza en el eje central del cristal. Tales características tienen gran importancia en el proceso de disolución cristalina mineral por la caries dental.¹⁸



Proyección en una superficie plana de los iones que de forma tridimensional configuran la estructura cristalina de la hidroxiapatita.

¹⁸ SciñR. Tomás Op. Cit. pág. 66-67

2.2 DENTINA

Tejido de origen mesodérmico, su principal proteína es la colágena. Es menos mineralizado que el esmalte. Las principales células de este tejido son los odontoblastos, pertenecientes al ectomesénquima de la papila dentaria, proveniente de la cresta neural. Los odontoblastos, a medida que van formando la dentina, se van retirando hacia el centro de la pulpa y van dejando una prolongación de su cuerpo celular, que son prolongaciones odontoblásticas. A su alrededor se forman los tubulillos dentinarios.

La dentina debe ser entonces concebida como un tejido mineralizado que rodea la pulpa en toda su extensión. Este tejido se forma durante toda la vida, por lo que su espesor, bajo condiciones normales, se va haciendo mayor a expensas de una disminución del tamaño de la pulpa.

Se denomina dentina primaria a aquella formada desde el inicio del desarrollo dentario hasta que el diente hace erupción y se hace funcional al entrar en contacto con el antagonista. La dentina secundaria se forma en condiciones fisiológicas normales desde que se inicia la etapa funcional del diente y a lo largo de toda la vida.

Llamamos dentina terciaria o reparadora a la que se forma en zonas específicas como respuesta a estímulos externos patológicos tales como la caries dental, la abrasión, la atrición y la erosión. Estos tres tipos de dentina presentan diferencias en cuanto a su estructura, primordialmente en el número de canalículos que poseen, siendo mayores en la dentina primaria y en la terciaria. También difieren en cuanto a la velocidad de formación que es mayor en la terciaria.

Dentro de esta estructura, se pueden observar áreas diferentes: la dentina peritubular, que rodea directamente a la prolongación odontoblástica y se encuentra altamente mineralizada, y la dentina intertubular, que es la dentina restante, y se encuentra menos mineralizada; ocupa todo el espacio en donde no existe dentina peritubular y canalículos dentinarios.

La esclerosis suele distinguirse microscópicamente, y se relaciona con un fenómeno defensivo inicial ante estímulos externos leves, tales como desgaste y caries de avance lento, como si sirvieran como una barrera de defensa pulpar.¹⁹

La dentina, como otros tejidos mineralizados, se produce en dos fases; primero un depósito de matriz orgánica rica en fibras colágenas y luego una mineralización. Por lo tanto, la predentina está representada por matriz orgánica y se ve como una capa acidófila entre la dentina mineralizada y la capa de odontoblastos.

La dentina se deposita como líneas de von Eber que representan la actividad de los odontoblastos, y las líneas de Owen, que representan periodos de descanso, es decir zonas, de poca actividad por parte de las células propias de la dentina.

¹⁹ Scif R. Op. Cit. pág. 68-69

COMPONENTES ORGÁNICOS E INORGÁNICOS DE LA DENTINA

CONSTITUYENTE

ORGÁNICO

Colágena
Citrato
Lactato
Lípidos
Sulfato de condroitina
Agua

INORGÁNICO

Ca
P (PO_4^{3-} o HPO_4^{2-})
 CO_2 (como carbonato)
Na
Mg
Cl
K



Túbulos dentinarios vistos con M.E.

2.3 CEMENTO

Es el tejido duro dentario menos mineralizado y que encontramos recubriendo la dentina radicular; posee colágena en su matriz orgánica. Se desarrolla a partir del saco dentario a expensas de los cementoblastos, células que lo depositan desde el límite cemento-dentinario, primero en forma de matriz orgánica, la capa cementoide, que se mineraliza progresivamente a medida que las células se van retirando para quedar en su periferia dentro del ligamento alveolodentario.

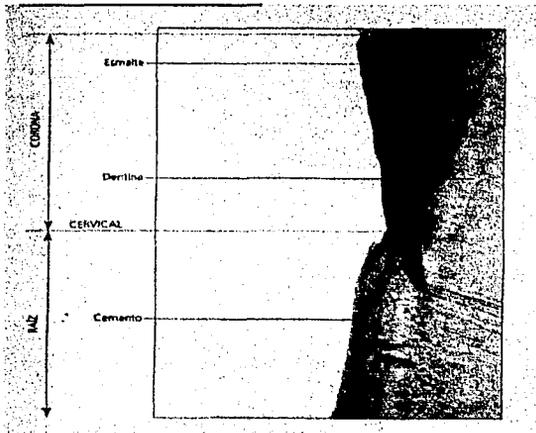
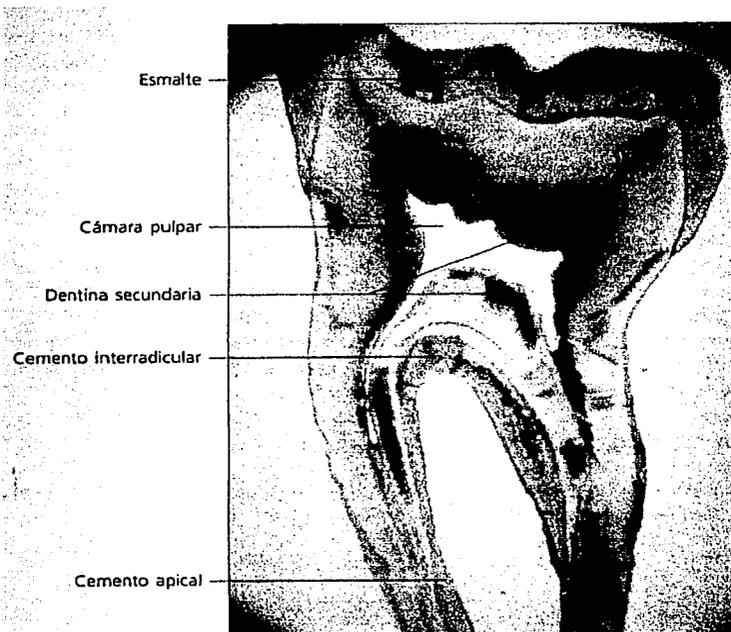


Figura que muestra la distribución del cemento en la raíz de un diente

Dependiendo de la velocidad de aposición, se forman dos tipos de cemento: primero, el cemento acelular, que se puede depositar en toda la superficie radicular y que responde a un mecanismo lento de aposición y mineralización que permite a los cementoblastos irse retirando progresivamente, y segundo, el cemento celular que lo encontramos casi

exclusivamente en el tercio apical, donde fisiológicamente se requiere una mayor velocidad de formación.

El cemento debe cumplir la función de anclar los grupos de fibras colágenas del ligamento alveolodentario al igual que también lo hace el hueso alveolar, siempre encontraremos gruesos haces de fibras colágenas que lo atraviesan en sentido perpendicular, y se conocen con el nombre de fibras de Sharpey.²⁰



Esquema que muestra las estructuras que componen al diente

²⁰ Scif R. Tomás Op cit. pág. 70

TRCIS CON
FALLA DE ORIGEN

2.4 SALIVA

Las glándulas parótidas, sublingual, submandibular, bucal y retromolar, y las glándulas asiladas que se distribuyen a lo largo de la mucosa, secretan la saliva cuya composición varía de acuerdo a la velocidad de secreción y al tipo de glándula. El pH de la mezcla de la saliva oscila entre 6.0 y 7.5.

La saliva se encuentra formada por compuestos orgánicos e inorgánicos.

Las glucoproteínas son los elementos que se encuentran más abundantemente, pero también se encuentran proteínas del plasma, anticuerpos, sustancias de grupos sanguíneos y enzimas. Los anticuerpos que se encuentran en la saliva se derivan de las glándulas salivales y del fluido gingival, e incluyen anticuerpos para cierto tipo de bacterias orales.

La glucoproteína de la saliva posee un esqueleto proteico rico en glicina, serina y treonina. Entre las enzimas predominan la amilasa y la lisozima, aunque también se han encontrado ribonucleasa, fosfatasa, peroxidasa, por mencionar algunas.

Algunos otros componentes orgánicos como las vitaminas, los fosfolípidos, colesterol y esteroides, urea, ácido úrico, creatinina y aminoácidos.

Dentro de los componentes inorgánicos encontramos al calcio, potasio y fosfato, que resultan ser los más abundantes. La concentración de algunos de los compuestos inorgánicos varía muy poco a medida que la velocidad del flujo de la saliva parotídea aumenta siendo el caso del sodio, cloro y bicarbonato, en los cuales la concentración aumenta.

COMPONENTES ORGÁNICOS E INORGÁNICOS DE LA SALIVA

ORGÁNICO

Carbohidrato de glucoproteína

Hexosamina

Acido siálico

Enzimas

Lisozima

Amilasa

Acido cítrico

Acido láctico

Colesterol

Urea

INORGÁNICO

Calcio

Fosfato inorgánico

Magnesio

Sodio

Potasio

Cloro

Bicarbonato

2.5 PLACA DENTOBACTERIANA

La placa dentobacteriana es la capa de células bacterianas y matriz orgánica que se desarrolla en la superficie del esmalte, la cual quizá lleva una capa de película adquirida. A diferencia de la película, la placa dentobacteriana por lo general puede extraerse con un cepillado vigoroso de los dientes.

La matriz de la placa contiene glucoproteínas salivales degradadas similares a la de la película, y productos extracelulares de las bacterias huéspedes de la placa. Estos productos incluyen moléculas pequeñas que son los productores generales de las vías metabólicas; dichos compuestos pueden producirse en grandes cantidades, pero también es cierto que la saliva se encarga de retirarlos constantemente.

Los polímeros bacterianos de la matriz de la placa incluyen todas las enzimas extracelulares que las bacterias son capaces de producir.

Los únicos productos extracelulares no proteínicos que se sabe forman las bacterias de la placa dental son polisacáridos, y estos son de tres tipos: glucanos, levanos y heteropolisacáridos. La formación de estos polisacáridos depende de la disponibilidad de sustratos en la dieta. Si se excluyen los carbohidratos de la dieta durante un periodo de una semana, la matriz de la placa dental se encuentra sin polisacáridos.

La formación de esta placa delgada enfatiza la importancia de los carbohidratos de la dieta en la producción de una placa voluminosa que contenga polisacáridos extracelulares.

La sacarosa es el sustrato de carbohidratos que proporciona la síntesis más prolífica de polisacáridos extracelulares.²¹

²¹ Williams R.A.D. Op. Cit. Pág. 252-254

2.6 ASPECTOS HISTOLÓGICOS DE LA LESIÓN DE CARIES

Una *zona translúcida* es el primer cambio reconocible en el avance de la lesión, aunque algunas veces puede encontrarse ausente o sólo en alguna parte de la lesión. Contiene grandes espacios, que por métodos ópticos se estiman como 0.3% del volumen y 1-2% por medida directa de la densidad. Las diferencias con el esmalte normal son un aumento en la concentración de flúor, una disminución del promedio de 12% del magnesio y una pérdida más variable de carbonato. Los prismas son más propensos a deshidratarse y por lo tanto forman espacios en sus bordes; esto traerá como consecuencia un aumento de la porosidad, la cual se origina de la disolución de una parte del esmalte por ácidos que se difunden a su interior a partir de la placa dental, la cual se adhiere a la superficie dental.

La *zona oscura* tiene espacios que se estiman con métodos ópticos como 2% o 4% de su volúmen y 5 a 7% de su material mineral. Algunos de estos espacios son bastante grandes pero muchos otros son más pequeños que los de la zona traslúcida, lo que nos hace pensar que se ha producido cierto grado de remineralización.

El cuerpo de la lesión ha perdido una proporción mayor de su material mineral, se cree que los espacios ocupan entre 5 y 25% del volumen total. Los cristales de apatita son mayores que los promedio en el esmalte normal, lo que nos hace considerar que los cristales más pequeños se disuelven primero.

En *la zona superficial*, en una lesión temprana presenta poco cambio, y puede permancer intacta hasta después de que el ataque llegue a la dentina.

Puede sugerirse entonces que esta zona superficial puede retener por acumulación en la superficie iones de calcio y fosfato a partir de la subsuperficie, lo que retardada la velocidad de disolución.

Dentro de los cambios ultramicroscópicos, primero observamos la disolución de cristales de hidroxiapatita dentro de la periferia de los prismas, que va acompañado por un aumento de espacios intercrystalinos y de un evidente ensanchamiento de los espacios interprismáticos.²²



ZONAS DE LA CARIES INCIPIENTE

- A. Zona translúcida
- B. Zona oscura
- C. Cuerpo de la lesión
- D. Capa superficial

²² Williams R.A.D. Op.cit. Pág. 287

Todo este proceso continúa hasta que los ácidos en difusión y la porosidad resultante llegan a la unión esmalte-dentina. A partir de esta unión se produce una desmineralización más rápida de la dentina hacia la pulpa y en forma lateral por debajo del esmalte sano bajo la lesión inicial, pudiendo no detectarse durante la exploración dental.

Después de una mayor desmineralización, el esmalte y la dentina se debilitan y la superficie del esmalte se rompe, de manera que las bacterias tienen un acceso directo al esmalte más profundo y en ocasiones hacia la dentina.

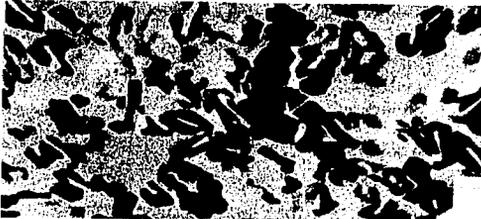
Las bacterias, principalmente los lactobacilos, parecen ser capaces de crecer a lo largo de los conductos dentinales más profundos en áreas que continúan estando muy mineralizadas. La dentina y la pulpa, a diferencia del esmalte, son tejidos celulares vivos, que responden a las lesiones y al ataque de caries.

Las respuestas incluyen: mayor mineralización dentro de los túbulos dentinarios (esclerosis tubular), formación de dentina como reacción en la superficie pulpa-dentina, e inflamación de la pulpa.²³

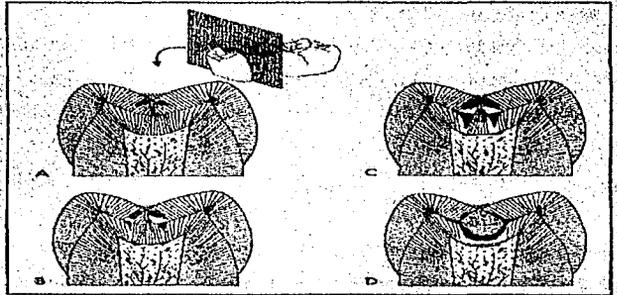
Lo anterior representa las cinco fases presentes en la dentina durante el proceso carioso, y son las siguientes:

- Zona de degeneración grasa
- Zona de esclerosis dentinal
- Zona de desmineralización
- Zona de invasión bacteriana
- Zona de dentina descompuesta

²³ Neil Jenkins G. Op. Cit.



Vista del esmalte durante un proceso carioso. Nótese la desorganización de los prismas



Progresión de la caries en fosetas y fisuras

3. BACTERIAS DEL ÁCIDO LÁCTICO (LAB)

A través de la historia, el hombre ha aprendido diferentes formas de utilizar las bacterias lácticas, tradicionalmente las ha empleado para elaborar algunos productos alimenticios fermentados, heredando por generaciones la tecnología de la fermentación

En 1857 las bacterias lácticas fueron descubiertas por Luis Pasteur, en 1878 Lister reportó el aislamiento de bacterias a partir de leche ácida, en 1889 Henry Tissier descubrió especies de *Bifidobacterium*, y *Lactobacillus acidophilus* fue descubierto por Moro en 1900.

Hacia 1907, el biólogo ruso Ely Metchnikoff, ganador en 1903 del premio Nobel por su teoría de los fagocitos, sugirió que el proceso de envejecimiento es el resultado de la intoxicación putrefacta crónica ocasionada por la flora intestinal, esto basado en los descubrimientos en habitantes de algunas regiones de Bulgaria quienes consumieron yoghurt como parte de una dieta normal y tuvieron una longevidad notoria.

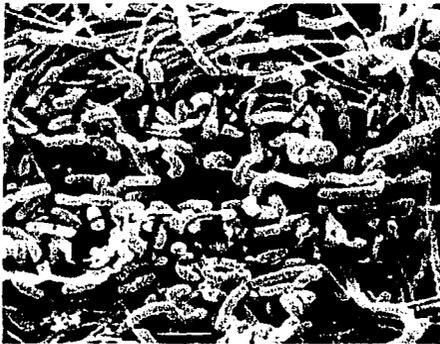
Metchnikoff propuso que la vida se prolongaba como consecuencia del consumo de las bacterias lácticas del yoghurt (*Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*), surgiendo así la teoría de que las bacterias nocivas en el intestino pueden ser eliminadas por la acción de estas bacterias. Esta teoría llamó la atención en aquellos días y popularizó el consumo diario de yoghurt entre los europeos de esa época.

Sin embargo, estudios posteriores demostraron que el *Lactobacillus bulgaricus*, que era benéfico, moría al contacto con el jugo gástrico y no era capaz de sobrevivir en el intestino. Aunque esta teoría se desechó, hubo investigaciones exhaustivas sobre la flora intestinal.

En 1921, Rettger y sus colaboradores demostraron que las bacterias lácticas del yoghurt - en las cuales Metchnikoff basó su hipótesis - no son capaces de sobrevivir en el aparato digestivo.²⁴

Años después, en 1930 el Doctor Minoru Shirota aisló lactobacilos a partir del intestino humano, y tras varias investigaciones y selecciones logró fortalecerlos, haciéndolos resistentes a los jugos gástrico y biliar.

Así, a sugerencia de su maestro el Doctor Kenzi Kiyono, los nombró *Lactobacillus casei Shirota* en honor a su nombre, siendo éste un lactobacilo que puede sobrevivir en el tracto digestivo e inhibir el crecimiento de bacterias nocivas. Posteriormente el Doctor Minoru Shirota se dedicó a desarrollar una bebida rica a la que pudiera adicionar el *L. casei Shirota*; así, en 1935 surge la bebida lácteo fermentada Yakult. El Doctor Shirota se dedicó a difundir su consumo entre el pueblo japonés, continuando sus investigaciones del *L. casei Shirota*.



Lb. casei Shirota

²⁴ Salminen, Seppo Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Functional Aspects 2^a. Ed New York: Marsel Decker, 1998. Pág 2

3.1 CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS Y CLASIFICACIÓN

Las bacterias del ácido láctico (LAB) comprenden un amplio género, incluyendo un número considerable de especies. Dentro de los géneros más importantes de LAB, encontramos: *Lactobacilos*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Weisella*, *Carnobacterium*, *Tetragenococcus* y *Bifidobacterium*, todas ellas consideradas dentro de este grupo debido a su similitud en cuanto a sus propiedades fisiológicas y bioquímicas, y además comparten algunos nichos ecológicos, tales como el tracto gastro-intestinal.

Las bacterias de ácido láctico (LAB), son gram positivas, las cuales crecen bajo condiciones anaeróbicas, y son de tipo no esporulado, cuyo producto principal es la producción de ácido láctico por medio de la fermentación de carbohidratos. Algunas de sus características fisiológicas resultan interesantes debido a su función como probióticos (en *pro* de la vida), tal es el caso de *Lactobacillus*, *Enterococcus* y *Bifidobacterium*, y por lo tanto son resistentes al medio estomacal, dada su resistencia al pH bajo, y a su capacidad de crecer en varios rangos de temperatura.

Para fines taxonómicos resulta importante considerar los patrones de fermentación de los carbohidratos, resistencia a las concentraciones de NaCl, su capacidad de crecimiento en diferentes medios nutricionales, su crecimiento a diferentes temperaturas así como su resistencia contra antibióticos.²⁵

²⁵ Klein Günter Pack Alexander. Taxonomy and physiology of probiotic lactic acid bacteria. Int. J. Microbiol. 41 (1998) 103-104

La taxonomía de los lactobacilos, se encuentra dada de acuerdo al patrón de fermentación de hexosas que presentan; siendo homofermentativos aquellos que convierten la glucosa casi en su totalidad en ácido láctico, y heterofermentativos, que fermentan glucosa en etanol, ácido láctico, acético y CO₂.

Los lactobacilos entonces han sido clasificados de acuerdo a sus propiedades fenotípicas por muchas décadas y son divididos en tres subgéneros: *Thermobacterium*, *Streptobacterium* *Betabacterium*, entrando en esta clasificación el grupo de *Lb. acidophilus*, el grupo *Lb. casei*, y el grupo *Lb. reuteri/fermentum*, respectivamente.

CLASIFICACIÓN DE ACUERDO A LA RUTA METABÓLICA DE LOS LACTOBACILOS

LACTOBACILO	HOMOFERMENTATIVO OBLIGADO	HETEROFERMENTATIVO FACULTATIVO	HETEROFERMENTATIVO OBLIGADO
Grupo <i>Lb. acidophilus</i>	★		
Grupo <i>Lb. casei</i>		★	
<i>Lb. reuteri</i>			★
<i>Lb. fermentum</i>			★
<i>Lb. delbrückii (bulgaricus)</i>	★		

Los lactobacilos, además de encontrarse abundantemente dentro de la microflora humana (y muy especialmente en boca), se encuentran también implicados en la industria alimentaria. Tal es el caso del *Lb. Casei Shirota*, presente en el Yakult, el *Lb. acidophilus* y *Lb. delbrückii (bulgaricus)*, presente en el yoghurt.²⁶ Dentro de los grupos de lactobacilos, existen otras

²⁶ Salminen Seppo.. Op. Cit. pág. 14-15

especies que también constituyen parte de la flora presente en algunos productos lácteos; dentro de estas especies destacan:

1.- Grupo *Lb. acidophilus*: *Lb. gasseri* y *Lb. johnsonii*, descubiertos recientemente entre 1980 y 1992, así como *Lb. crispatus* y *Lb. acidophilus*.

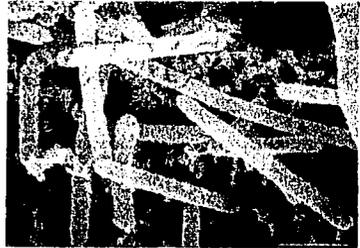
2.- Grupo *Lb. casei*: la clasificación de este grupo ha sido modificada numerosas ocasiones y recientemente se han encontrado especies nuevas. En 1996 fue descubierto el *Lb. rhamnosus*, el cual posee en su pared celular rhamnosa y es el único en su especie capaz de fermentar rhamnosa, por lo que resultó sencilla su identificación. Las otras dos especies que abarca esta clasificación son el *Lb. casei* y *Lb. paracasei*, siendo autorizada esta nueva clasificación en 1989.

3.- Grupo *Lb. reuteri/fermentum*: un biotipo específico del *Lb. Fermentum* fue descrito por primera vez en 1962 por Lerche y Reuter, pero no fue reconocido sino hasta 1980 por Kandler y colaboradores nombrándolo *Lb. reuteri*, una nueva especie de lactobacilo heterofermentativo, de acuerdo con la homología de DNA-DNA y a experimentos realizados de acuerdo con su descripción fenotípica.²⁷

Es necesario recalcar que, para poder agrupar a las especies en cada uno de los grupos mencionados anteriormente, es necesario realizar estudios en términos del genoma de cada uno de los microorganismos y así, al encontrar semejanza en cuanto a su estructura de ácidos nucleicos, poder agruparlos dentro del grupo correspondiente.

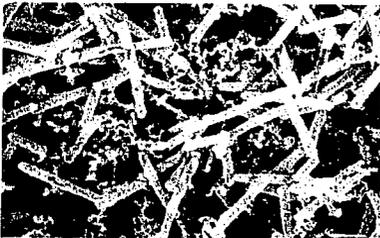
²⁷ Klein Günter Op. Cit. pág. 105

Lb. casei casei



Lb. acidophilus

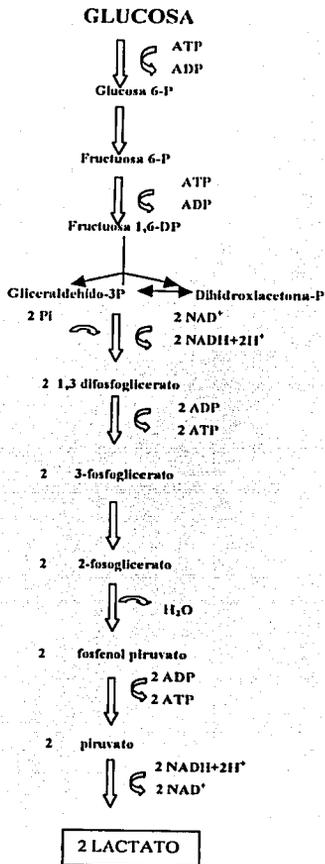
Lb. acidophilus



3.2 RUTAS DE FERMENTACIÓN DE LA GLUCOSA²⁸

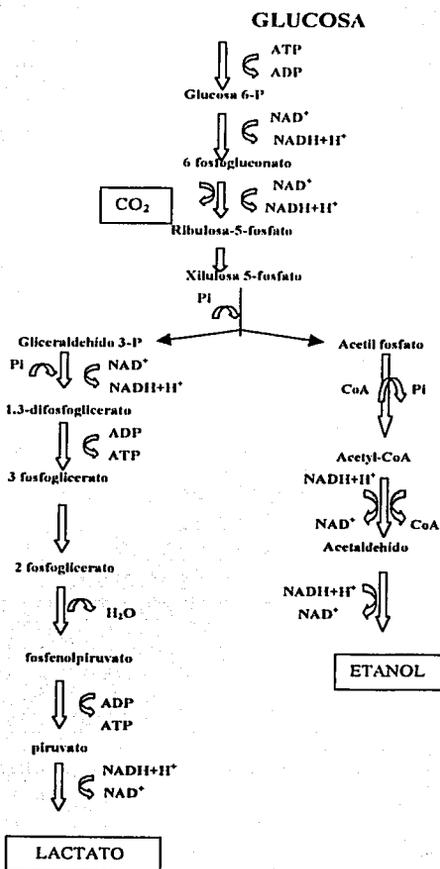
HOMOFERMENTATIVOS

(Embden-Meyerhof)



HETEROFERMENTATIVOS

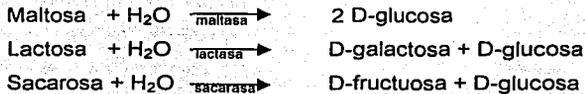
(6-fosfogluconasa)



²⁸ Seppo Salminen. Op cit. pag 24

3.3 DISACÁRIDOS CONSUMIDOS EN LA DIETA

Los disacáridos que son consumidos en la dieta, no pueden entrar directamente en la ruta glucolítica; para poder entrar en las células bacterianas es necesario que previamente hayan sido hidrolizados a monosacáridos extracelularmente. Así, mediante un conjunto de complejas enzimas, son hidrolizados a azúcares más sencillas, y de esta forma poder ser fermentados por la vía glucolítica normal.²⁹



Los monosacáridos así formados son transportados al interior de la célula.

Algunos tipos de bacterias lácticas (LAB) solamente metabolizan la glucosa obtenida de la lactosa, mientras que la galactosa es excretada al medio, como sucede en el caso de *Lb. Delbrücheri* subsp. *Bulgaricus* (en yoghurt).³⁰

²⁹ Lehninger Albert. Principios de Bioquímica. 2ª. Ed. México: Omega, 1995. Pág: 424

³⁰ Salminen Seppo Op. Cit. pág. 27

3.4 IMPORTANCIA DE LOS PROBIÓTICOS

Desde la antigüedad, gracias al descubrimiento de ciertas bacterias productoras de ácido, la fermentación ha sido utilizada para la elaboración de productos que seguimos consumiendo en la actualidad tales como la leche, los quesos, el yoghurt e incluso la mantequilla.

Desde los tiempos del científico ruso Metchnikoff, se ha asociado a las bacterias del ácido láctico (LAB) con ciertos efectos benéficos en la salud. Hoy en día se ha incrementado el número de productos alimenticios que aseguran poseer altas propiedades benéficas para la salud en general, utilizando cultivos de bacterias productoras de ácido láctico.

Aunque estas bacterias aún no han sido estudiadas en su totalidad, los protocolos clínicos muestran sus efectos. Sin embargo, no hay claridad en cuanto a su funcionamiento y efectos. Es importante señalar que LAB han sido utilizadas como probióticos para el manejo de ciertos desórdenes intestinales dentro de los que destacan la intolerancia a lactosa, gastroenteritis, rotavirus y algunas otras enfermedades entéricas, debido a su capacidad de resistir la acidez estomacal. Se adhieren con facilidad a las células epiteliales del intestino, y lo colonizan al menos temporalmente, lo que los convierte en excelentes candidatos en el tratamiento de este tipo de enfermedades.

3.5 PROBIÓTICOS Y LA SALUD DENTAL

Se llama probiótico a cualquier sustancia que contenga microorganismos vivos, la cual posee efectos benéficos (en pro de la vida) en la salud del hospedero, equilibrando el medio al cual vaya dirigido, mejorando así su funcionamiento.

Para que un probiótico pueda ser considerado como tal, es necesario que reúna ciertas características, tales como seguridad en su consumo, supervivencia, adherencia, colonización, producción de factores antimicrobianos, estimulación inmunológica, actividad antígeno tóxica y la prevención de la proliferación de agentes patógenos.

Se ha sugerido que las bacterias de ácido láctico (LAB) y los productos fermentados son perjudiciales para la salud dental por la fermentación de azúcares y el pH bajo al cual se desarrollan. No obstante, cuando son consumidos en productos de la leche, la excelente capacidad amortiguadora de la leche influye en la acidez, y la presencia de calcio puede llegar a proteger las superficies dentales.

En algunos casos, las bacterias de ácido láctico, (LAB) pueden resultar benéficas para la microflora oral, previniendo el crecimiento de ciertas bacterias dañinas como el *Streptococcus mutans*.

Existen pocos estudios disponibles acerca de las bacterias de ácido láctico (LAB) de los productos fermentados y sus efectos sobre las estructuras dentales. Sin embargo, sí existen algunas evidencias acerca de que las leches fermentadas previenen la erosión dental, por lo que se considera que tienen un efecto protector en la estructura dental. Recientemente se ha descubierto que existen grupos específicos de lactobacilos que al parecer colonizan temporalmente la mucosa oral, previniendo así la proliferación de agentes patógenos.³¹

³¹ Salminen Seppo Op.cit. pág: 239

En algunos otros estudios se analizaron cultivos en un medio con sucrosa, y se encontró que este disacárido previene la caída del pH, y por consiguiente, disminuye el crecimiento de *Streptococcus sorbinus* y *Streptococcus mutans*.³² Estaremos entonces hablando de una capacidad de estas bacterias de producir un antagonismo contra bacterias cariogénicas y patógenas.

³² Idem.

4. COMPONENTES ANTIMICOBIANOS DE LAS BACTERIAS DEL ÁCIDO LÁCTICO (LAB)

La fermentación reduce la cantidad de carbohidratos disponibles en cualquier medio, y trae como consecuencia la producción de pequeñas masas orgánicas moleculares que exhiben una actividad antimicrobiana importante.

Los más comunes son el ácido láctico, el ácido acético, ácido propiónico, dióxido de carbono y etanol. Además de estos metabolitos, las bacterias de ácido láctico son capaces también de formar algunas otras sustancias con propiedades antimicrobianas.

La importancia biológica de este tipo de metabolismo radica en ganar ventaja sobre alguna otra especie bacteriana compitiendo por el sitio de colonización, mediante el cambio del ambiente, por ejemplo, la acidificación, o por medio de la producción de toxinas contra dichos competidores.

Se ha observado por mucho tiempo que los ácidos débiles tienen una actividad antimicrobial más poderosa a pH bajo que a pH neutro.

El ácido acético es el inhibidor más fuerte y tiene un rango de actividad antimicrobiana, inhibe el crecimiento de levaduras, hongos y bacterias. Esto se puede explicar más claramente por el alto pK_a del ácido acético comparado con el ácido láctico (4.75 y 3.08 respectivamente). Por ejemplo, a un pH 4, sólo el 11% del ácido láctico no se ha disociado, mientras que el 85% del ácido acético no se ha disociado.

Se asume frecuentemente que la molécula no disociada es la forma tóxica del ácido débil, aunque en los ácidos disociados se inhibe el crecimiento microbiano. También se asume que la forma no disociada del ácido orgánico se difunde a través de la membrana celular por ser liposoluble.

Después de que entra a la célula, el ácido se disocia alrededor del pH del citoplasma que suele ser neutro.³³

Muchos científicos han sugerido que la liberación de protones en el citoplasma dirige la acidificación y disipación del gradiente del pH sobre la membrana, causando la inhibición del crecimiento. Algunos otros científicos sugieren que esta hipótesis ha de ser revisada.

Se sugirió que no es la traslocación de los protones sino la acumulación de los aniones la mayor causa observada en la inhibición del crecimiento. Se propone que el anión reduce la velocidad de las macromoléculas y afecta el transporte sobre la membrana celular.

4.1 DIÓXIDO DE CARBONO

El dióxido de carbono (CO_2) es uno de los principales productos formados en la fermentación heterofermentativa (hexosas) pero también puede ser producto de muchas otras rutas metabólicas. Este producto (CO_2) posee una doble acción provocando un ambiente anaeróbico y al mismo tiempo una acción antimicrobiana. No se conoce con precisión la acción de este mecanismo pero se ha sugerido que las descarboxilaciones enzimáticas son inhibidas, y que la acumulación del CO_2 la bicapa lipídica causa disfunción en la permeabilidad de la célula. Concentraciones bajas de CO_2 pueden estimular el crecimiento de algunos microorganismos, mientras que altas concentraciones previenen su proliferación.

Existen algunas otras sustancias de bajo peso molecular, las cuales parece ser que poseen propiedades antivirales y antimicrobianas. Tal es el caso de Reuterin, que es secretada por el Lb. Reuterin, que resulta de la mezcla de la glucosa con glicerol en un medio anaerobio. No se conoce con exactitud la estructura de esta molécula ni tampoco su mecanismo de acción,

³³ Salminen Seppo Op. Cit Pág: 140

pero se cree que actúa en el sitio de acción de la subunidad de la reductasa ribonucleasa, interfiriendo así en la síntesis de DNA.

El ácido piroglutámico ó PCA es producido por *Lb. Casei ssp. Casei*, y parece ser tener cierto efecto inhibitorio en el crecimiento de microorganismos.³⁴

4.2 BACTERIOCINAS

El término bacteriocinas fue introducido por Jacob y colaboradores en 1953 y son definidas como proteínas antibióticas con relativo alto peso molecular que actúan sobre el mismo tipo de especies o similares.

Pueden ser adicionadas como conservadores (en el caso de la nisina, que es la única en su especie utilizada para dicho fin), o puede ser producida *in situ*, como es el caso de cultivos de probióticos. Algunas bacteriocinas parecen formarse en ciertos productos, pero *in vivo* aún resulta cuestionable.

In situ, la producción de sustancias antimicrobianas en el intestino puede esta aumentada por el incremento de la adhesión de cultivos probióticos en la mucosa intestinal.³⁵

Lo anterior nos hace pensar que los lactobacilos del yakult y del yoghurt actúan de la misma manera en la cavidad oral, por lo que entonces resultaría dudosa su capacidad cariogénica aún cuando estos bacilos han sido encontrados en lesiones cariosas.

La capacidad de adhesividad de los lactobacilos de estos productos lácteos a las estructuras dentarias resulta de gran interés, ya que podríamos pensar que esta propiedad les daría la capacidad de colonizar por determinado tiempo la cavidad bucal y poder alcanzar así un determinado índice de reproducción, y entonces sus componentes antimicrobianos

³⁴ Salminen Seppo Op. Cit. pág: 142- 144

³⁵ibid.. Pág: 144

actuarían (con los mecanismos explicados anteriormente) sobre los microorganismos de la cavidad oral, como el *Streptococcus mutans*.

Pero aún resulta dudosa la manera en que esta colonización se llevaría a cabo, y tal vez no sólo pudiera darse en las estructuras dentarias sino también en la mucosa oral, tal como sucede en la mucosa del intestino humano.

4.3 ADHESIVIDAD DE LOS LACTOBACILOS A LA MUCOSA ORAL

La adhesión a sustratos sólidos es una característica propia de microorganismos patógenos y también de las bacterias del ácido láctico (LAB). Por medio de la adhesión, los microorganismos evitan ser desplazados y eliminados por los fluidos normales del cuerpo humano, considerando que los fluidos actúan como medio de defensa en el huésped. La adhesión es considerada como primer paso indispensable en la colonización de las superficies mucosas del hospedero.

La unión de microorganismos a células epiteliales de la mucosa es el resultado de un proceso específico que involucra superficies adhesivas en la bacteria y receptores mucosos en la membrana celular. Se ha encontrado que los mecanismos de adhesión no son iguales para todos los lactobacilos, por el contrario, algunas especies de lactobacilos han demostrado tener afinidad por tipos específicos de colágena, mientras que algunas otras especies muestran afinidad por proteínas como la fibronectina, fibrinógeno y lactoferrina. Además, se cree que para que las bacterias puedan iniciar su proceso de colonización, es necesario degradar los nutrientes endógenos existentes del hospedero para poder mantener un nivel de población aceptable. Se piensa que la microbiocinesis de los lactobacilos excluye a los microorganismos patógenos o potencialmente patógenos compitiendo por los sitios de recepción en las células epiteliales o agotando todos los nutrientes en el medio.³⁶

La cavidad oral reúne algunas características adecuadas que resultan viables para la adhesión, implantación y proliferación de las bacterias del ácido láctico. El epitelio de la membrana mucosa de la boca es de tipo plano estratificado que no se encuentra queratinizado en su totalidad. Constituye parte de las estructuras del sistema digestivo.

³⁶ Salminen Seppo Op. Cit. Pág 317-318

Posee una capa interna llamada membrana mucosa, constituida por una cubierta epitelial y un estrato de tejido conectivo, una lámina propia que a su vez está compuesta por fibras delgadas de tejido conectivo entrelazadas; también presenta fibroblastos y macrófagos.

Presenta fibras colágenas bastante gruesas que generalmente se interdigitan, entre las cuales hay fibras elásticas y reticulares. La submucosa une a la mucosa con las estructuras firmes subyacentes, pero permite gran movilidad.

En las zonas en donde no hay submucosa, la mucosa se inserta directamente a las estructuras firmes subyacentes, como sucede en el caso de la encía, y su epitelio es ligeramente queratinizado, encontrándose más marcado en las zonas que están más expuestas a la abrasión por la masticación o el cepillado, es decir, en el borde libre de la encía. Sus fibras colágenas se unen íntimamente con el periostio de los procesos alveolares.

El epitelio del paladar duro es muy semejante al de las encías. Presenta una capa queratinizada en la cual las células son duras y en forma de escamas; generalmente tiene un estrato granuloso. Existe una submucosa, excepto en el área adyacente a las encías y en la línea media. Sus fibras son gruesas y corren principalmente en dirección vertical, así unen a la lámina propia del periostio con el paladar.

El paladar duro y la úvula están tapizados por un epitelio plano estratificado no queratinizado.

La submucosa es laxa y presenta muchas glándulas: mucosas y mixtas.

El piso de la boca está tapizado por un epitelio no queratinizado. La submucosa es laxa y contiene glándulas sublinguales.³⁷

³⁷ Geneser. Finn Histología. 3ª. Ed México: Médica Panamericana. 1999. Pág: 465 - 467

Es evidente que la mucosa oral posee componentes, como tejido conectivo, (fibras colágenas) que favorecen la adhesión de las bacterias del ácido láctico (LAB), lo que nos hace pensar en una posible implantación de dichos microorganismos así como su supervivencia en el medio por un tiempo determinado. Resulta interesante comparar la mucosa oral, la intestinal y la vaginal, ya que poseen características similares. Si las bacterias del ácido láctico (LAB) de los probióticos son capaces de implantarse con facilidad en dichas mucosas, podríamos pensar que tal vez el mecanismo de implantación es el mismo, pero sólo difiere en el tiempo en que estos colonizan las diferentes mucosas.

4.4 ADHESIVIDAD A LA ESTRUCTURA DENTAL Y COLONIZACIÓN

Estudios *in vitro* han tratado de demostrar si especies de lactobacilos presentes en los probióticos (bio-yoghurt), son capaces de adherirse a la estructura dental, para poder así comprobar si existe o no colonización y determinar si son agentes potencialmente cariogénicos.

Aunque sabemos que los lactobacilos no se adhieren fácilmente a la estructura dental, se han encontrado estos microorganismos en sitios de gran retención en la cavidad oral (fosetas y fisuras, espacios interproximales). Los lactobacilos analizados fueron *Lb. acidophilus MV-1* y *Lb. Casei MV-2*.

Se encontró que los lactobacilos presentan potencial de adhesividad a la estructura dental, predominando el *Lb. acidophilus*, debido a que estos cultivos son generalmente más hidrofóbicos en comparación con el cultivo *Lb. casei*.

Por lo tanto, si estos microorganismos son capaces de adherirse a la estructura dental, entonces la ingesta diaria de este producto lácteo podría favorecer la colonización del microorganismo en la cavidad bucal.

En los estudios *in vivo* resultó muy claro que, en las muestras obtenidas para la detección de las cepas, no se encontró evidencia alguna de la instalación de estas bacterias en sitios retentivos de la cavidad oral.

El consumo del producto por un tiempo determinado no posee relevancia alguna para la implantación y por consiguiente la proliferación de este tipo de lactobacilos en la estructura dental.³⁸

³⁸ Busscher H.J. A.F.J.M. Mulder A.F.J.M. In vitro Adhesion to Enamel and in vivo Colonization of Tooth Surfaces by Lactobacilli from a Bio-Yoghurt. Caries Res. 1999; 33: 403-404

4.5 PROPIEDADES ANTIMICROBIANAS DE *LB. RHAMNOSUS* Y *LB. REUTERIN*

En recientes estudios, el *Lb. rhamnosus* GG, ATCC 53103 (LGG) aislado de humanos sanos, ha mostrado la capacidad de producir sustancias con una potente actividad inhibitoria contra un amplio rango de especies bacterianas, incluyendo *Streptococcus spp.*

LGG ha manifestado colonizar temporalmente la cavidad oral e incluso inhibe *in vitro* la proliferación de *Streptococcus sobrinus*, pero es incapaz de colonizar las superficies dentales. En general los efectos benéficos de LGG en el cuerpo humano se encuentran bien documentados, particularmente en el tracto gastrointestinal, estabilizando la microflora.

Investigaciones realizadas en Helsinki, Finlandia, han comprobado que los componentes orgánicos e inorgánicos de la leche tienen la capacidad de proteger el esmalte. El calcio y el fósforo poseen importantes propiedades anticariogénicas. Por lo tanto, se estima que la leche es el vehículo ideal para administrar agentes protectores del esmalte en niños.

Se han analizado los efectos del consumo de leche probiótica (Valio Ltd., GEFILUS®), en la salud de los niños, especialmente en aquellos que padecen infecciones gastrointestinales y respiratorias. Näse y colaboradores llevaron a cabo un estudio administrando leche con *Lb. Rhamnosus* GG, ATCC 53103 vivos, en una proporción de $5-10 \times 10^5$ CFU/ml, suministrando 5 veces a la semana durante 7 meses. Para el análisis se utilizaron grupos control a los cuales se le proporcionó leche sin ningún otro lactobacilo adicional. Además de analizar los resultados en vías respiratorias y tracto gastrointestinal, también fueron estudiados los efectos de dicho lactobacilo en la cavidad oral.³⁹

³⁹Näse L, Hatakka K, Savilahti E. Effect of Long-Term Consumption of a Probiotic Bacterium, *Lactobacillus rhamnosus* GG, in Milk on Dental Caries and Caries Risk in children. *Caries Res* 2001;35:412-420

El *Lb. rhamnosus GG* en la leche muestra tener un efecto anticariogénico, especialmente en niños de 3 a 4 años de edad. Los lactobacilos se caracterizan por colonizar ambientes ácidos tales como fisuras y espacios interdentes y producen ácidos de los azúcares fermentables. El *Streptococcus mutans* y los lactobacilos son frecuentemente encontrados en lesiones cariosas, pero se encontró en estas investigaciones que la proporción de estos microorganismos no se incrementó en superficies oclusales y superficies interproximales, aún cuando los lactobacilos fueron adicionados en la dieta (leche) de estos pacientes, lo que nos hace pensar en el efecto inhibitorio de LGG sobre *Streptococcus mutans* y otros lactobacilos.

Al parecer LGG posee la capacidad de competir con otros microorganismos orales, produciendo sustancias antimicrobianas como el ácido piroglutámico. Además existen ciertas evidencias de su capacidad para aumentar la inmunidad humoral y anticuerpos que han sido detectados en la saliva de animales experimentales.⁴⁰

La leche que contiene LGG mostró tener un gran efecto benéfico en la salud dental de niños especialmente de 3 a 4 años de edad, por lo que podemos considerar a la leche como un vehículo más para el mejoramiento de la salud dental en el cuidado diario en la población infantil.

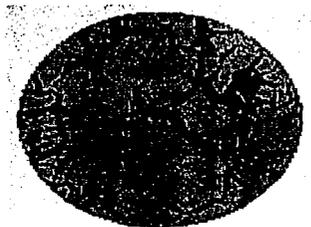
El *Lb. reuteri* también ha sido introducido recientemente a la leche, principalmente en los Estados Unidos de América y se caracteriza por colonizar el intestino humano favoreciendo la salud en general. Se piensa que esta bacteria provee un alto espectro de protección contra diversas enfermedades, incluyendo aquellas causadas por virus, bacterias, hongos y protozoarios, reforzando los sistemas de defensa de la mucosa.

Como mencionamos con anterioridad, el *Lb. reuteri* produce el metabolito reuterin, el cual se cree que posee un potente espectro de actividad

⁴⁰ Idem.

antimicrobiana, inhibiendo el crecimiento de varios microorganismos enteropatogénicos.

Desafortunadamente aún no existen investigaciones que demuestren los efectos antimicrobianos de este lactobacilo en cavidad oral, pero como la mucosa intestinal y la oral son semejantes, también podríamos pensar en que su colonización es similar. Por lo que en un futuro, este lactobacilo podría ser frecuente que se encontrara adicionado en productos como la leche y el yoghurt.



Lactobacillus GG



Valio. Principal compañía finlandesa productora de productos lácteos con lactobacilos adicionados

4.6 BACTERIOCINAS DE ALGUNAS ESPECIES DE LACTOBACILOS

Existen diversos tipos de bacteriocinas que son específicas de cada una de los diferentes tipos de lactobacilos, y aunque desafortunadamente no se conocen con exactitud, se tienen registros de algunas de ellas. Tal es el caso del *Lb. acidophilus*, el cual ha demostrado ser productor de la bacteriocina *lactacin B*, la cual, actuando en conjunto con los otros productos de la fermentación posee ciertos efectos bactericidas contra algunas especies como el *Streptococcus faecalis*, pero no se ha encontrado ningún efecto en la caries dental.⁴¹ Es importante destacar que especies homólogas de este tipo de lactobacilo también producen este tipo de bacteriocina, pero no son citadas debido a que no se encuentran presentes en los productos lácteos citados en este trabajo.

La *bacteriocina F* es producida por el *Lb. Johnsonii*. Está formada por una cadena péptida hidrofóbica con dos cisteínas en sus 56 residuos de aminoácidos. Esta bacteriocina induce a la permeabilidad de potasio, disipando así el potencial de membrana, causando la movilidad de protones en la célula, lo que puede traer como consecuencia la inhibición de la síntesis de DNA y RNA de la célula sobre la cual actuará.⁴² Cabe señalar, que no se conoce con exactitud el mecanismo de acción de estas bacteriocinas, por lo que resulta importante señalar la importancia de realizar diversas investigaciones al respecto.

⁴¹ Barefoot Susan F. and. Klaenhammer Tood R. Detection and Activity of Lactacin B, a Bacteriocin Produced by *Lactobacillus acidophilus*. Applied and Environmental Microbiology, June 1983, pág. 1808-1815

⁴² Bruno María E.C. and Montville Thomas J. Common Mechanistic Action of Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria. Applied and Environmental Microbiology, Sept. 1993, Pág 3003-3010

5. COMPONENTES DE LOS PRODUCTOS LÁCTEOS QUE FAVORECEN LA PREVENCIÓN DE LA CARIES DENTAL

La presencia de fosfatos en el ambiente oral previene la pérdida de fósforo del esmalte dental, debido a que, junto con el calcio, contribuye a la remineralización de las áreas incipientes de desmineralización del esmalte. Al parecer los fosfatos mejoran la estructura natural del esmalte haciéndola más dura y suave, y gracias a sus propiedades detergentes, probablemente interfiere con la adherencia de la placa bacteriana a la superficie dental

Se piensa que también pueden interferir en el crecimiento bacteriano. Es importante destacar la importancia que tiene el calcio al proveer rigidez y fortaleza a los huesos y dientes; sus sales constantemente se están depositando y reabsorbiendo en tejidos dinámicos, como sucede en el caso del trabeculado del hueso, y éste es removido de esas regiones para responder a las demandas del cuerpo humano como el crecimiento activo, el embarazo o la lactancia.

La lactosa es encontrada en la leche que consumimos parece tener ciertos efectos en la absorción del calcio.⁴³

Otro componente con un posible efecto fisiológico en la caries dental, presentes en la leche, son el glicomacropéptido, así como la lactoferrina y la lactopepsidasa.⁴⁴

⁴³ Nizel. Athena Abraham E. Papas S. Nutrition in Clinical Dentistry. 3ª. United States: Library of Congress Cataloging, 1989. Pág: 144

⁴⁴ Chandan R.C. Enhancing Market Value of Milk by Adding Cultures. J. Dairy Sci. 1999. 82:2245-2256.

5.1 ALGUNOS OTROS LACTOBACILOS ADICIONADOS A LOS PRODUCTOS LÁCTEOS

Actualmente se la ha dado un gran auge a la adición de ciertos lactobacilos a diferentes productos lácteos debido a sus excelentes propiedades antimicrobianas. Los lactobacilos más utilizados para dicho fin son: *Lb. acidophilus*, *Lb. reuteri*, *Lb. casei*, *Lb. casei ssp. rhamnosus*, *cepa GG*, *Lb. johnsoni* y *Lb. delbrueckii ssp. bulgaricus*.

Es importante mencionar que algunos de estos lactobacilos aún no son utilizados en México. Tal es el caso del *Lb. Reuteri* el cual recientemente ha sido adicionado al yoghurt junto con otros cultivos activos vivos, constituyendo así un yoghurt con 6 diferentes cultivos: *Lb. reuteri*, *Lb. casei*, *Streptococcus thermophilus*, *Lb. bulgaricus* y *Lb. acidophilus*, producto lácteo utilizado sólo en Estados Unidos de América.

El *Lb. rhamnosus GG* sólo se encuentra disponible en algunos países de Europa, como Finlandia, en donde continúan realizándose investigaciones al respecto.⁴⁵

Los lactobacilos que podemos encontrar disponibles en México son: *Lb. johnsonii (LC¹)*, *Lb. acidophilus*, *Lb. casei shirota*, *Lb. delbrueckii*, *Lb. casei defensis* (actimel). De estos últimos no se tiene información precisa de su influencia en la caries dental.

Resulta de especial importancia recalcar que los cultivos de lactobacilos utilizados en estos probióticos no se encuentran alterados genéticamente, es decir, las cepas empleadas son cultivos salvajes. Lo anterior indica que son utilizados tal y como son encontrados en el cuerpo

⁴⁵ Klein Günter, Pack Alexander. Op. Cit. pág:103-125

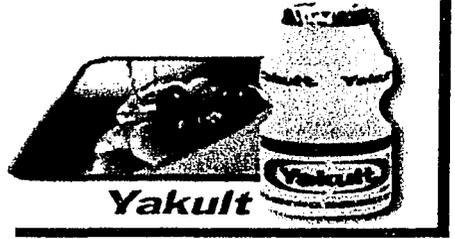
humano debido a que aún no se encuentra autorizada su alteración genética.⁴⁶

PRINCIPALES EMPRESAS PRODUCTORAS DE PRODUCTOS LÁCTEOS CON LACTOBACILOS ADICIONADOS

Lb. casei Shirota	Yakult
Lb. rhamnosus	Valio Ltd. GEFILUS® *
Lb. reuteri	Toni Lait AG. *
Lb. johnsonii (LC ¹)	Nestlé
Lb. casei defensis (actimel)	Danone
Lb. acidophilus	Nestlé D.

* Utilizados en países europeos

⁴⁶ García Garibay Mariano. Jefe del Departamento de Biotecnología UAM Iztapalapa. Comunicación personal



Principales productos lácteos con lactobacilos adicionados

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

CONCLUSIONES

Actualmente el uso de probióticos ha tenido un gran impulso debido a las propiedades benéficas que presentan, incluyendo todas aquellas relacionadas con el tracto gastrointestinal (GI).

Resulta de especial interés el hecho de que ciertas sustancias producidas por las bacterias de ácido láctico (LAB) sean capaces de inhibir la proliferación de ciertos microorganismos patógenos, y que algunas de estas bacterias que son adicionadas a productos lácteos también se encuentren colonizando la cavidad oral.

Podríamos pensar que las bacterias probióticas pueden tener la capacidad de inhibir el crecimiento de bacterias causantes de la caries dental, como el *Streptococcus mutans* y el *Streptococcus sobrinus*, ya sea colonizando la estructura dental o la mucosa oral tal y como colonizan las paredes del intestino.

Aunque algunos lactobacilos parecen tener esta capacidad, desafortunadamente su uso se encuentra actualmente restringido sólo a países europeos. Con respecto a los utilizados en México, aún no han sido estudiados con profundidad.

Así mismo es importante mencionar que los lactobacilos presentes en los probióticos actúan en conjunto con los demás componentes del producto, para facilitar así la remineralización de la estructura dental; tal es el caso del calcio y el fósforo.

La leche y el yoghurt resultan ser los medios más efectivos para adicionar cultivos de lactobacilos vivos y activos, si tomamos en cuenta que son los productos que más consumen los pacientes pediátricos.

Se requiere de numerosas y extensas investigaciones para poder ampliar nuestros conocimientos acerca de todas y cada una de las propiedades de las bacterias del ácido láctico (LAB) y poder así determinar si presentan o no algún efecto anticariogénico o si por el contrario si resultan dañinas para salud dental.

Aunque la presente investigación bibliográfica ha pretendido documentar todas y cada una de las características de LAB conocidas hasta el momento, aún se requieren más investigaciones para comprender el mecanismo que utilizan estas bacterias para colonizar la mucosa oral, así como para inhibir la proliferación de microorganismos patógenos, ya que aún no han sido estudiadas algunas LAB que han sido adicionadas a los productos lácteos.

BIBLIOGRAFÍA

Barefoot Susan F. and Klaenhammer Tood R. Detection and Activity of Lactin B, a Bacteriocin produced by Lactobacillus acidophilus. Applied and Environmental Microbiology, June 1983, pág. 1808-1815

Bruno Maria E. C. and Montville Tomás J. Common Mechanistic Acton of Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria. Applied and Environmental Microbiology, Sept. 1993, pág. 3003-3010

Brusscher H.J., Mulder A.FJ.M. In vitro Adhesion to Enamel and in vivo Colonization of Tooth Surfaces by Lactobacilli from Bio-Yoghurt. Caries Res. 1999; 33:403-404

Chandan R.C. Enhancing Market Value of Milk by Adding Cultures. J. Dairy Sci. 1999. 82:2245-2256

Genesser Finn. Histología. 3ª. Ed. México: Médica Panamericana. 1999. Pág. 465-467

Klein Günter Pack Alexander. Taxonomy and physiology or probiotic lactic acid bacteria. Int. J Microbiol. 41 (1998) 103-104

Lehninger Albert. Principios de bioquímica. 2ª Ed. México: Omega, 1995 Pág. 424

Liébana Ureña J. Microbiología Oral. México: Mc Graw Hill. 1997 Pág 450

Näse L. Hatakka K. Savilahti E. Effect of Long-Term Consumption of a Probiotic Bacterium Lactobacillus rhamnosus GG, in Milk on Dental Caries and Caries Risk in children. Caries Res 2001; 35:412-420

Neil Jenkins G. Fisiología y Bioquímica Bucal. 1ª Ed. México: Limusa, 1993

Nizel Abraham E. Papas Athena S. Nutrition in Clinical Dentistry. 3ª. United State: Library of Congress Cataloging. 1989 Pág 144

Nolte A. William Microbiología Odontológica. 4ª. Ed. México: Interamericana.1985 Pág. 228-231

Salminen Seppo. Lactic Acid Bacteria: Microbiology and Funtional Aspects 2ª Ed. New York: Marsel Decker, 1998. Pág. 2

Seif R. Tomás. Cariología Dental Prevención Diagnóstico y tratamiento contemporáneo. 1ª ed. México: Actualidades Médico Odontológicas. 1997 Pág 64

Williams R.A.D Bioquímica Dental básica y aplicada. México: Manual Moderno. 1982 pág. 290.