



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

PREVENCIÓN DE LA CARIES DENTAL MEDIANTE
PROBIÓTICOS.

T E S I N A

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

C I R U J A N A D E N T I S T A

P R E S E N T A:

EUNICE VILLARREAL BRITO

TUTOR: Mtro. RODRIGO GUZMÁN ÁLVAREZ

ASESOR: Mtro. OCTAVIO GODÍNEZ NERI



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.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Biblioteca Central

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM



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 DIOS

Que ha sido siempre la luz que guía mi camino.

A MIS PAPÁS

Marinela y Gustavo, por todo su amor, apoyo y cariño que siempre me han brindado, por impulsarme a seguir adelante en todo momento y por todas sus enseñanzas.

A MIS HERMANOS

Margie, Maritere, Gustavo y Mariela, gracias por todas esas noches de desvelo en las que me hicieron compañía, por la motivación y apoyo durante la licenciatura; por su cariño y todos los buenos momentos que hemos compartido.

A MIS CUÑADOS Y MI CUÑADA

Wilfrido, Giovanni y Lidia por todo el apoyo, cariño y confianza que me han brindado.

A MI ABUELITA Y MI TÍA

Teté y Reyna por los consejos, apoyo, y todos esos abrazos llenos de amor y cariño que siempre he recibido.

A MIS COMPAÑEROS Y AMIGOS

Sin hacer mención especial, ya que todos fueron importantes en algún momento durante mi estancia en la Facultad, compartiendo buenos y malos momentos, gracias por su tiempo, les deseo lo mejor.

A MI TUTOR Y ASESOR DE TESINA

Mtro. Rodrigo Guzmán Álvarez y Mtro. Octavio Godínez Neri, gracias por sus consejos, colaboración y paciencia.

A LAS DOCTORAS

Luz Del Carmen González García y Gloria Gutiérrez Venegas, gracias por su paciencia, dedicación y apoyo.

A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

A LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Mi casa por estos últimos cinco años, gracias.

ÍNDICE	
INTRODUCCIÓN	5
CAPÍTULO I	
1. ANTECEDENTES	6
1.1 Prevalencia de caries en México	8
CAPÍTULO II	
2. ETIOLOGÍA Y MICROORGANISMOS ASOCIADOS DE LA CARIES DENTAL	11
2.1 La caries	12
2.1.1 Conceptos	12
2.2 La etiología (Triada de Keyes)	12
2.2.1 Paradigma de Ferjeskov	14
2.3 El ecosistema bucal	14
2.3.1 Ecosistemas primarios	15
2.3.2 Determinantes ecológicos	15
2.3.2.1 Factores fisicoquímicos	15
2.4 La microflora bucal	16
2.4.1 Microorganismos asociados a la caries dental	17
2.4.2 Características de los <i>Streptococcus mutans</i>	17
2.4.3 Características de los <i>Lactobacillus</i>	17
2.4.4 Características del <i>Actinomyces</i>	18
2.5 El sustrato	18
2.6 El hospedador	19
2.7 La saliva	19
2.7.1 Composición	20
2.7.2 Funciones	20
CAPÍTULO III	
3. PLACA DENTOBACTERIANA	22
3.1 Formación y desarrollo	23
CAPÍTULO IV	
4. PROBIÓTICOS, PREBIÓTICOS Y SIMBIÓTICOS	27
4.1 Los probióticos	28
4.1.1 Principales microorganismos	29
4.1.2 Características principales	31

4.1.3 Mecanismo a nivel intestinal	32
4.1.4 Efectos terapéuticos reportados en la literatura	33
4.1.5 Recomendaciones para la evaluación de los probióticos	35
4.1.6 Viabilidad y disponibilidad de los probióticos	37
4.1.7 Dosis recomendable	37
4.1.8 Seguridad en el consumo	37
4.2 Los prebióticos	38
4.3 Los simbióticos	38
CAPÍTULO V	
5. FUNCIÓN DE LOS PROBIÓTICOS EN LA CARIES	39
5.1 Mecanismo de acción a nivel bucal	39
5.2 Los probióticos y su resistencia a los mecanismos de defensa bucal ..	42
5.3 Principales microorganismos utilizados en la prevención de la caries ..	43
5.3.1 <i>Lactobacillus rhamnosus Gorbach Goldin</i>	43
5.3.1.1 Efecto del consumo a largo plazo de la bacteria probiótica <i>Lactobacillus rhamnosus GG</i> , contenida en la leche para reducir el riesgo de caries en los niños	44
5.3.1.2 Efecto a corto plazo después del consumo de un queso con probiótico para reducir el riesgo a caries dental	47
5.3.2 <i>Lactobacillus reuteri</i>	49
5.3.2.1 Niveles de <i>Lactobacilos</i> y <i>Streptococos mutans</i> salivales después de la ingestión de <i>Lactobacillus reuteri ATCC 55730</i> mediante tabletas	49
5.3.3 <i>Bifidobacterium animalis</i> y <i>Bifidobacterium lactis</i>	53
5.3.3.1 La reducción de <i>Streptococos mutans</i> salival en los pacientes de ortodoncia durante el consumo diario de yogur que contiene bacterias probióticas	53
5.3.4 <i>Weissella cibaria</i>	55
5.3.5 <i>Streptococos salivarius</i>	56
5.3.6 <i>Lactobacillus paracasei</i>	56
5.3.6.1 El efecto del probiotico <i>Lactobacillus paracasei</i> en una flora bacteriana cariogénica	57
5.3.7 <i>Lactobacillus lactis</i>	60
5.3.7.1 Evaluación del efecto del consumo de probiótico <i>Lactobacillus</i> <i>acidophilus</i> sobre el pH salival y <i>Streptococcus mutans</i>	61
CONCLUSIONES	65
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67



INTRODUCCIÓN

Debido a que la caries dental es considerada actualmente como la enfermedad bucal con mayor prevalencia en México; es importante identificar los factores etiológicos que favorecen al desarrollo de esta enfermedad, para poder aplicar tratamientos preventivos o diagnosticarla en etapas tempranas y evitar un dolor intenso afectando la masticación y la digestión hasta ocasionar la pérdida dental, en etapas muy avanzadas.

La presente tesina es un trabajo de investigación bibliográfica que pretende ampliar el interés en el campo de la investigación dental mediante la bacterioterapia con el uso de probióticos y su relación con las enfermedades propias de la cavidad bucal, entre ellas la caries dental, así mismo tiene como objetivo conocer en términos generales los beneficios de los probióticos en la salud humana. Estas bacterias benéficas llamadas probióticos son microorganismos vivos que consumidos en cantidades adecuadas confieren beneficios para la salud del hospedador, los cuales juegan un papel importante dentro de la Odontología; considerándose una nueva alternativa de tratamiento coadyuvante de los elementos anticariógenos para la prevención de la caries dental.

Por tal motivo se describe la etiología de la caries dental y la formación de la placa dentobacteriana; principal sitio de acción de los probióticos a nivel bucal así como sus mecanismos de acción para comprender de qué manera puede llegar a beneficiar a la cavidad bucal. De igual forma se explica las características de los probióticos y principales microorganismos utilizados en la prevención de la caries de acuerdo a los diferentes estudios *in vitro* e *in vivo* realizados últimamente. Finalmente se describen algunos estudios *in vivo* reportados en la literatura que apoyan la vinculación de los probióticos y la relación existente con la prevención de la caries dental.



CAPÍTULO I

ANTECEDENTES

A principios del siglo XVIII, se creía que la caries dental era el producto de la acción de un gusano que atacaba y destruía los dientes, posteriormente a mediados del siglo XIX, ésta hipótesis fue rechazada debido al avance científico, por lo que se creía que la caries se originaba por los restos alimenticios en descomposición atrapados entre los dientes. A finales del siglo XVIII, se establece que la caries se originaba como la gangrena ósea desde adentro del diente llamada “teoría vital”. Así mismo en los siglos XVII y XVIII, surgió la hipótesis de que los dientes eran destruidos por los ácidos formados en la cavidad bucal.¹

El aporte científico del microscopio de Van Leeuwenoeck en el siglo XIX permitió el nacimiento y posterior desarrollo de la bacteriología y la postulación de la teoría químico-bacteriana, la cual descubre el origen infeccioso de la caries dental. Esta hipótesis está fundamentada por las investigaciones realizadas por Miller entre los años 1880-1890. Donde usó una flora microbiana mezclada con saliva e hidratos de carbono para demostrar la destrucción de los dientes *in vitro* y estableció que la caries era producida por la acción acidogénica de las bacterias existentes en la boca, las que actúan sobre los azúcares de los alimentos, produciendo los ácidos que atacan al esmalte dentario.²

La carencia de técnicas apropiadas para la toma de muestras y determinación específica de las bacterias presentes en el medio bucal no permitieron definir con exactitud las bacterias responsables de la caries, lográndose establecer que el microorganismo predominante en el medio salival como en la propia lesión, era el de *Lactobacillus acidóphilus*.²



Kliger en 1916, señala que “El agente etiológico de la caries debía ser un microorganismo acidogénico (productor de ácido). Además descubre en los cultivos de la placa dental, la presencia de cocos grampositivos a diferencia de los cultivos procedentes de caries dentinarias en los que predominaban microorganismos grampositivos de forma abastónada (*Lactobacillus*)...”

En 1924, J. Kilian Clarke logra identificar entre los microorganismos presentes en las lesiones cariosas incipientes una bacteria de forma esférica, llamada *Streptococcus mutans* por su extraño y novedoso aspecto. En la medida que se desarrollaron nuevas técnicas para el análisis bacteriano cuantitativo pudo conocerse la escasez de los *lactobacillus* en la cavidad bucal y la hipótesis de que este microorganismo como agente etiológico de la caries perdió potencia.²

En 1944, Scott, Wyckoff y Marie Ussing utilizaron el microscopio electrónico, comenzaron a observar la estructura histológica del tejido dentario, lo que dió origen a una segunda hipótesis etiológica de la caries dental cuando Gotlieb y colaboradores expusieron la hipótesis del ataque inicial destructivo sobre el esmalte dentario, era de naturaleza proteolítica y no acidogénica; causando la dislocación de los cristales de hidroxiapatita a través de la acción de una enzima proteolítica producida por las bacterias bucales.

En 1945, Robert Stephan da a conocer la importancia del descenso del potencial de hidrógeno (pH) salival en el inicio de la lesión cariosa, que se debe a la acción de los ácidos ocasionados por la acción metabólica de las bacterias bucales a partir de los azúcares, conocidos como las Curvas del pH de Stephan.²

En 1952 se demuestra que la frecuencia de la ingesta de azúcares aumenta la capacidad cariogénica de la placa bacteriana y también se revela el grado de adhesividad del producto azucarado consumido, parece incrementar su



potencial cariogénico. Señala además que la sacarosa, la glucosa y la fructuosa son cinco veces más cariogénicos que el almidón y que la sacarosa favorece el desarrollo de la caries en superficies lisas.

En 1959, Robert J. Fitzgerald y Paul Keyes culminaron con la identificación del grupo *Streptococos* como responsable de la caries dental mediante una serie de experimentos realizados en animales de laboratorio libres de gérmenes (gnotobióticos), permaneciendo el *Lactobacillus acidófilus* como microorganismo secundario en la iniciación de la lesión.²

1.1 Prevalencia de la caries en México

La caries dental es considerada por la Organización Mundial de la Salud (OMS), como un problema de salud pública por ser una de las enfermedades bucales de mayor prevalencia. La caries dental establece una de las causas principales de pérdida dental, ésta afecta la masticación, la digestión, la fonación y puede producir dolor intenso llevando a una disminución de la capacidad funcional y a la calidad de vida del individuo.

La etiología de la caries dental es de origen multifactorial por lo que resulta difícil su erradicación total, pero se ha tratado de disminuir su incidencia con algunos programas internacionales y nacionales de la aplicación del flúor para la protección del esmalte dental, pero esto no ha sido suficiente por los estilos de vida del hombre, los cambios en la alimentación; el consumo de los productos cada vez más procesados y cariogénicos, asociado a los demás factores de riesgo, podría aumentar la prevalencia, haciendo que este problema de salud pública se agrave más.⁵

La OMS, dentro de sus objetivos que fueron planteados para el año 2000, establecieron que a los seis años de edad, el 50 % de los niños debería estar libre de caries y en los adolescentes hasta los 12 años no deberían



rebasar un índice de dientes cariados, perdidos y obturados (CPOD) de un valor de tres; para la población de 18 años conservar al menos el 85% de la totalidad de sus dientes, y reducir en un 50% a las personas edéntulas a los 35-44 años de edad.^{9,12}

Por lo que la OMS sugirió la utilización de instrumentos clinimétricos para la medición de la caries utilizando el índice CPOD cuyo propósito fundamental es obtener información global del estado de salud bucal de una población específica mediante la suma de dientes cariados, perdidos y obturados.¹²

En 1993, Maupome estudió a una muestra significativa de 2,596 pacientes de zonas marginadas de diferentes estados de la República Mexicana, según su información obtuvo un índice CPOD de 8.3 en mayores de 15 años. De igual modo, en el año 2000; Los resultados de la Encuesta Nacional de Caries y Fluorosis dental 2001 del programa de salud bucal del D.F; Señala una prevalencia de 88.6% con un índice CPOD de 5.3.¹²

En el informe de salud oral del 2003 de la OMS muestra el primer mapa global del año 1969, donde reporta a México como un país con moderada severidad de caries dental en niños de 12 años. Sin embargo los resultados que se presentan, mostraron un índice CPOD de 6.0, según la escala de gravedad corresponde al nivel alto, al igual que los resultados obtenidos en otros estudios recientes.¹²

Durante el año 2006 en la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Autónoma de México se llevó a cabo un estudio transversal en adolescentes, en el cual se observó una prevalencia de pérdida dental de 19% y una proporción de 38% correspondió a problemas de caries dental.¹²

Actualmente en México se ha documentado que la prevalencia de caries dental afecta a un 90% de la población; siendo los individuos entre 1 y 15 años de edad los más susceptibles de contraerla. Aunque son pocos los



estudios que incluyen a estudiantes mayores de 12 años que permiten precisar las necesidades de tratamiento a partir de la descripción epidemiológica de los problemas en la salud bucal.⁴

Con respecto al género, existen estudios recientes que atribuyen mayor prevalencia de caries dental en las mujeres que en los hombres como consecuencia de los cambios hormonales, específicamente los niveles de estrógeno durante ciertas etapas como la pubertad, el embarazo, el periodo de lactancia y la menopausia, esto afecta entre otras cosas el flujo salival, originando mayor desarrollo de caries dental.²

Ante este panorama es necesario realizar estudios en el sistema institucional que permitan establecer la prevalencia de caries dental y de otras patologías bucales, ya que los estudios a nivel mundial se enfocan en la población comprendida entre uno y doce años de edad, lo cual muestra una escasez de datos, así como la carga de la enfermedad y sus complicaciones en individuos de mayor edad.

La prevalencia de caries continúa siendo un problema de salud en la población, que inicia en edades tempranas y se acentúa conforme avanza la edad, debido sobre todo al estilo de vida (dieta e higiene bucal inadecuadas), así como al acceso restringido a los servicios de salud odontológicos, la falta de cultura de la población en cuanto a la salud bucal y los altos costos que la atención odontológica requiere. Los objetivos de salud bucal para el año 2020 recomendados por la Federación Dental Internacional (FDI), la OMS y la Asociación Internacional de Investigación Dental (IADR por sus siglas en inglés), diseñan retos globales para la planeación de programas en salud, en los planos nacional, regional y local; en consecuencia, se ha determinado un máximo de tres dientes cariados para la población escolar y la conservación de todos los dientes en 85% de los adolescentes de 18 años.¹²



CAPÍTULO II

ETIOLOGÍA Y MICROORGANISMOS ASOCIADOS DE LA CARIES DENTAL

Para la presencia y el desarrollo de la caries dental debemos considerar varios factores que intervienen en el proceso de formación; dividiéndolos en: factores biológicos o primarios y factores sociales o secundarios.

Los determinantes biológicos son aquellas variables del individuo asociados con la velocidad y progresión de la pérdida de los minerales, como el acúmulo y maduración de la placa dentobacteriana; la dieta, la saliva, los microorganismos, el hospedador (el diente) y el tiempo; son factores determinantes para el desarrollo de la enfermedad; éstos son dependientes unos de otros.¹³

Los factores de riesgos sociales que influyen en el desarrollo de la caries dental: son el nivel educativo de la persona, nivel socioeconómico, estilos de vida, edad, higiene bucal, entre otros. Es importante considerar las implicaciones y las interrelaciones de los factores sociales con los factores biológicos para definir un perfil individual de riesgo.

Los factores más importantes relacionados con la caries dental son la frecuencia de ingesta de carbohidratos, los factores socioeconómicos, la hiposalivación, el tiempo de permanencia de la placa dentobacteriana sobre la superficie dental para que se forme la caries, debido a una higiene dental deficiente; atravesando el esmalte, dentina hasta llegar a la pulpa dental.¹⁷



2.1 La caries

2.1.1 Conceptos

1. Enfermedad multifactorial que consiste en un proceso dinámico de desmineralización-remineralización e intercambio de iones de calcio y fósforo en la saliva.³
2. La OMS la define como un proceso patológico que se inicia después de la erupción dental y determina un reblandecimiento del tejido duro del diente, evolucionando hacia la formación de una cavidad cariosa.⁵
3. La caries es una enfermedad de los dientes contagiosa, multifactorial, crónica y transmisible, caracterizada por la desintegración progresiva de los tejidos dentales duros, por los ácidos de los depósitos microbianos adheridos a los dientes.¹⁷
4. Miller, describe a la caries dental como: “Un proceso quimioparasitario que consiste en la descalcificación de los tejidos y disolución del residuo reblandecido”.¹⁷

Esta última definición propuesta por Miller a finales del siglo XIX es la base fundamental en la que se apoya el conocimiento y comprensión actual de la etiología de la caries. Lo que realmente se ha venido realizando es completar y mejorar esta hipótesis, aunque adolece en la actualidad de algunos defectos.

2.2 Etiología (Triada de Keyes)

Paul Keyes, en forma teórica y experimental, en 1960, “Estableció que la etiología de la caries se debe a la acción simultánea de tres elementos o factores principales:



1. **El agente:** Presencia de bacterias
2. **El hospedador:** Anatomía del diente
3. **El ambiente:** Carbohidratos.”

La representación esquemática de estos tres factores básicos se conoce como triada de Keyes. (Fig.2.1).¹⁶

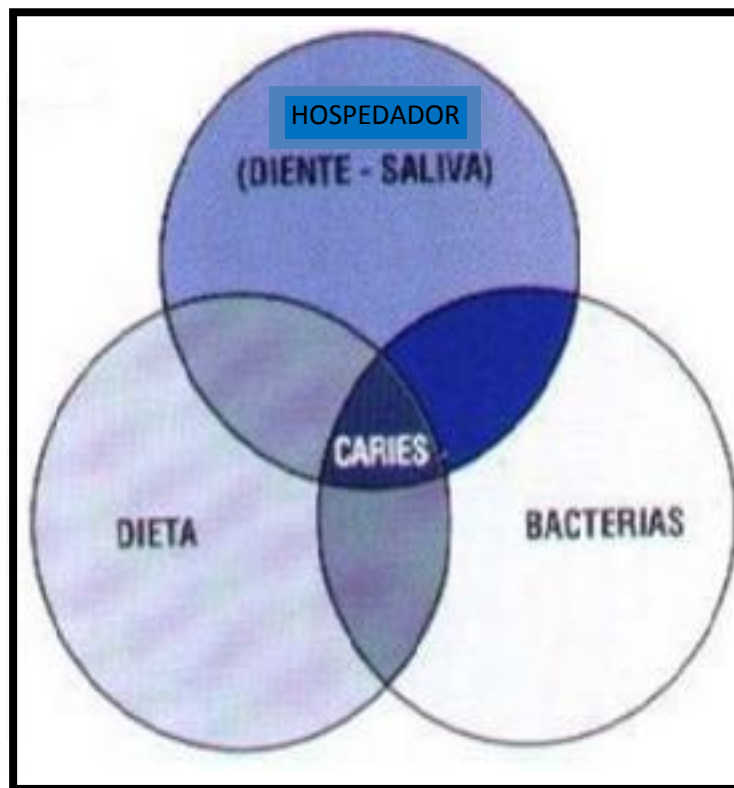


Fig. 2.1 Triada de Keyes.¹⁹

Si estos condicionantes confluyeran durante un periodo muy breve, la caries no se produciría por lo tanto se ha agregado un cuarto factor por Newburn en 1978. El factor tiempo para la interacción de estos, así como diversas variables que inciden como modificadores de este proceso; denominados factores de riesgo.²¹ (Fig.2.2).

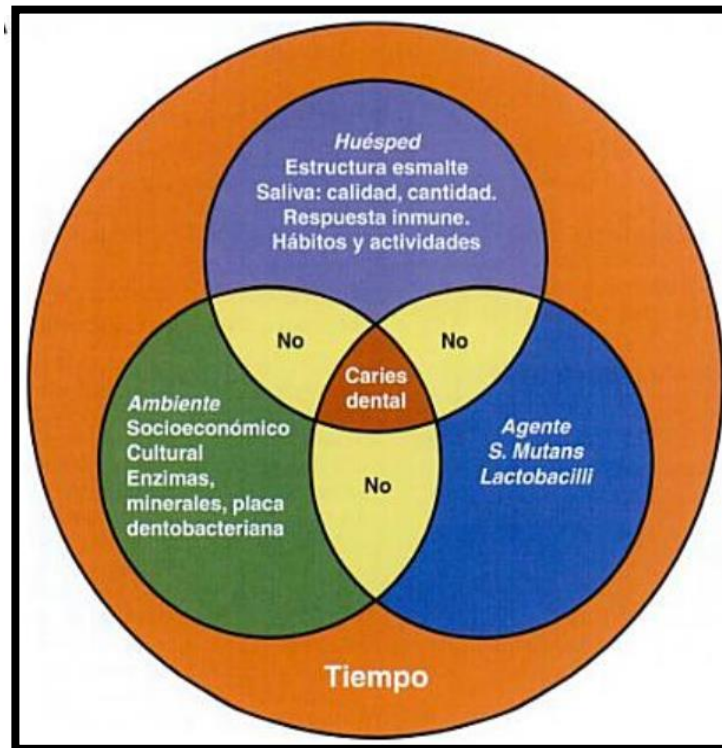


Fig. 2.2 Triada de Keyes modificada.¹⁹

2.2.1 El paradigma de Ferjeskov

Ferjeskov, define a la caries como: “Una enfermedad contagiosa, multifactorial, donde los factores biológicos y sociales interactúan en el desarrollo de los microorganismos cariogénicos, caracterizada por la desmineralización del esmalte, la cual, si no se detiene su avance, provocará una lesión irreversible.”¹⁷

2.3 El ecosistema bucal

El ecosistema bucal es la relación que existe entre los microorganismos y el ambiente, en los que influyen en la composición y actividad de las bacterias. Cuando este sistema se encuentra en equilibrio se denomina eubiosis (salud)



y cuando se encuentran estas relaciones alteradas, se llama disbiosis (enfermedad). Dentro de la cavidad bucal podemos encontrar varios nichos ecológicos o ecosistemas primarios; que se define como la función de los microorganismos en un hábitat particular formando parte de la comunidad; estos nichos ecológicos poseen diferentes características químicas, físicas y nutricionales que permiten el desarrollo de unas o de otras especies microbianas.^{15,20}

2.3.1 Los ecosistemas primarios de la cavidad bucal

1. Las mucosas
2. El dorso de la lengua
3. Las superficies dentales
4. El surco gingival
5. Las restauraciones dentales
6. La saliva
7. La placa dental¹⁹

2.3.2 Determinantes ecológicos

2.3.2.1 Factores fisicoquímicos

1. **La humedad:** Es un factor importante para las bacterias por su alto contenido acuoso, 70% o más; depende del intercambio de nutrientes y desarrollo microbiano.
2. **El pH:** El pH de la cavidad bucal oscila de 6.7 a 7.5 sometido a numerosas variaciones por los carbohidratos que pueden provocar un descenso al metabolizarlos, mientras que el metabolismo de las proteínas eleva el pH.



3. La Temperatura: La temperatura de la cavidad bucal es más baja que la temperatura normal del cuerpo (oscila entre 35° y 36°C), también sufre variaciones dependiendo de los diferentes tipos de alimentos, ejemplo (café caliente y helado); los microorganismos orales deben soportar cambios de temperatura hasta 60°C en cuestión de segundos.

4. Potencial de óxido reducción: La cavidad bucal es rica en oxígeno, sus zonas más aerobias son el dorso de la lengua, la saliva y la mucosa bucal, dependiendo si los microorganismos son aerobios estrictos (necesidad de O₂), anaerobios estrictos (no necesita O₂), facultativos (pueden usar el O₂ o no) y anaerobios aerotolerantes (no es necesario O₂ pero sobreviven en su presencia) ^{15,19}.

2.4 La microflora bucal

La cavidad bucal del feto se encuentra libre de gérmenes, dicha cavidad queda expuesta a la microflora cuando el bebé pasa por el tracto vaginal materno, al momento del nacimiento donde los primeros microorganismos que colonizan la boca del recién nacido son los *Streptococcus* (S) *salivarius*, *estafilococos* y *lactobacilos*; después de las ocho horas del nacimiento, a esa primera comunidad se le denomina comunidad pionera y la microflora que se realiza al completarse la dentición permanente se denomina comunidad clímax. El *S. salivarius* coloniza la mucosa de la boca y la lengua; posteriormente el *S. sanguis* que coloniza la superficie libre de los dientes y el *S. mutans*, coloniza en las fisuras y cavidades; la microflora bucal es demasiado compleja, se puede componer de 200 especies distintas en una misma cavidad oral, siendo la mayoría de los microorganismos transitorios y aproximadamente veinte especies son de carácter residente; encontrando



cocos grampositivos (*S. sanguis*, *mutans*, *salivarius*, *oralis* y *mitis*) cocos gramnegativos (*Neisseria* y *Veillonella*) bacilos grampositivos (*Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y *Actinomyces*) y bacilos gramnegativos (*Prevotella*, *Porphyromonas* y *Fusobacterium*).¹⁹

2.4.1 Los microorganismos asociados a la caries dental

La mayoría de los diversos géneros microbianos dominantes en la placa dental que pueden metabolizar hidratos de carbono a ácidos láctico y acético se incluyen los *Streptococcus*, *Lactobacillus* y *Actinomyces* principalmente pero también *Neisseria* en menor proporción.¹⁹

2.4.2 Las características de los *Streptococcus mutans*

1. Poder acidogénico (productores de ácido).
2. Produce diversas bacteriocinas que participan en el proceso de competencia microbiana como *Streptococcus sobrinus*, *S. mitis* y *S. oralis*.
3. Puede producir un pH crítico de 4.5 para la desmineralización más rápido que cualquier otro microorganismo de la placa, inclusive que el *Streptococcus sanguis* y el *Streptococcus mitis*.
4. Producción de polisacáridos intracelulares y extracelulares de la sacarosa. (Depende de su patogenicidad.)
5. Rápido metabolismo para la producción de ácido láctico.¹⁹

2.4.3 Las características de los *Lactobacillus*

1. Poder acidogénico (productores de ácido láctico principalmente).
2. Producción de polisacáridos intracelulares y extracelulares de la sacarosa.



3. Rápido metabolismo de producción de ácido láctico.
4. Poca afinidad por las superficies dentarias, por lo que no se implica en el comienzo de la caries del esmalte, actúan principalmente como “invasores secundarios” afectando la dentina que aprovechan las condiciones ácidas y la retentividad existente de la caries.¹⁹

2.4.4 Las características de *Actinomyces (A. viscosus)*

1. Poder acidogénico.
2. Posee fimbria implicadas en la adhesión y coagregación.
3. Producción de polisacáridos intracelulares y extracelulares de la sacarosa (más nutricional que adherente).¹⁹

2.5 El sustrato

El sustrato se refiere a los alimentos que contienen principios nutritivos, los cuales proveen energía para mantener las funciones fisiológicas del ser vivo; mientras mayor sea la ingesta de carbohidratos fermentables ingeridos en nuestra dieta diaria, mayor será el riesgo de desarrollar caries dental. Debido a que la sacarosa es un disacárido que se considera la principal fuente energética para el metabolismo bacteriano, (principalmente para los microorganismos acidogénicos), ya que se agrega a la placa dentobacteriana y produce un descenso del pH, por lo que se considera el sustrato más cariogénico. Cuando evaluamos el potencial cariogénico de la dieta debemos tomar en cuenta el balance de los factores causantes de la enfermedad y los factores de defensa, si alguno de los factores causantes prevalece como gran cantidad de microorganismos acidogénicos o si algunos mecanismos de defensa se encuentran afectados como el flujo



salival disminuido; entonces el factor de la dieta tendrá un fuerte impacto en el desarrollo de la enfermedad. Estudios clínicos y epidemiológicos consideran a los alimentos acidogénicos y potencialmente cariogénicos, aquellos alimentos que causen una caída del pH 4.5, por debajo de un nivel crítico. Así mismo se toman en cuenta ciertos factores como: la cantidad, tipo de azúcar, la frecuencia, la consistencia de los alimentos retentivos y pegajosos que se adhieren a la superficie del diente (turrón, miel, bombones) y el momento de la ingesta.²¹

2.6 El hospedador

El hospedador se refiere al sitio donde se desarrolla la caries; el diente, donde se toman en cuenta diversos factores como: la complejidad morfológica, grado de calcificación, tiempo de permanencia en la boca y su posición en la arcada; todo ello favorece a una mayor o menor retención de la placa dental. Por ejemplo, los dientes posteriores (molares y premolares), son más susceptibles a la caries ya que su morfología presenta una cara oclusal donde abundan los surcos, fosas y fisuras; asociado a los defectos estructurales del esmalte, los apiñamientos o las maloclusiones dentarias son factores que dificultan la higiene bucal; favoreciendo a una mayor susceptibilidad a padecer caries. Hay ciertos factores que protegen al hospedador de los microorganismos, se destacan la integridad de las mucosas, la cantidad y calidad de los constituyentes de la saliva, el exudado gingival; bajo la influencia de componentes celulares del sistema inmune.^{3,21}

2.7 La saliva

Es un fluido corporal de secreción compleja, proveniente de las glándulas salivales, (la parótida, la submaxilar, la sublingual y las glándulas salivales menores); distribuidas estratégicamente en la boca; que segregan aproximadamente de 1 a 1.5 litros de saliva diario.²



2.7.1 La composición de la saliva

Se compone 99% agua y 1% de moléculas orgánicas grandes (proteínas, glicoproteínas y lípidos), moléculas orgánicas pequeñas (glucosa, urea), electrolitos (sodio, potasio, calcio, cloro y fosfatos), exudado crevicular, agua, células sanguíneas, células descamadas, restos de comida y de expectoraciones bronquiales. La composición de la saliva depende de factores neurológicos y fisiológicos; grado de estimulación, sitio y mecanismo de recolección; por ejemplo: la glándula parótida es de secreción serosa, acuosa rica en proteínas. Las glándulas submandibulares son de secreción mixta; (serosa y mucosa) con bajo contenido proteínico y mayor viscosidad. Las glándulas salivales menores son de secreción mucosa y producen una saliva viscosa y rica en factores de defensa como inmunoglobulina A. (IgA). La secreción de cada glándula tiene una composición específica; las glándulas submandibulares contienen 50% más calcio que la glándula parótida, lo que favorece a la acumulación de cálculo y la relativa baja frecuencia de caries en los dientes anteriores inferiores ^{1,18}

2.7.2 Las funciones de la saliva

Además de facilitar la lubricación, la masticación, la fonación y la deglución, cumple con otras funciones como:

1. **Mecánica:** La acción de auto limpieza, (Elimina restos alimenticios y bacterias) que no están adheridas a las superficies dentales.
2. **Química:** Producción de glucoproteínas salivales como: lisozima, lactoferrina y lactoperoxidasa; productor de peróxido de hidrógeno.



3. **Remineralizante:** Acción protectora contra la desmineralización.

- ❖ Dilución de los azúcares de la dieta diaria.
- ❖ Neutralización y amortiguación de los ácidos de la placa dental (capacidad buffer).
- ❖ Provisión de iones de calcio y fósforo para el proceso de remineralización.

4. **Acción inmunitaria:** En la saliva, se encuentra en mayor proporción la IgA, y en menor proporción IgM e IgG, estos anticuerpos secretorios interfieren en la adhesión de los microorganismos a las superficies orales.²¹

Los componentes específicos de las glucoproteínas absorbidas como la mucina; aumentan o disminuyen la adhesión de algunas bacterias, estas acciones antibacterianas de ciertas proteínas como la lactoperoxidasa, producen un efecto protector del hospedador, al disminuir los niveles de ácidos, producidos principalmente por *Streptococcus* y *Lactobacillus*, al bloquear sus fuentes energéticas afectando la colonización y metabolismo bacteriano así como el equilibrio iónico de la superficie del diente, evitando la acción desmineralizante sobre el esmalte. Una reducción de la secreción salival, hiposalivación; sobre todo cuando es grave (xerostomía), influenciados por la administración de ciertos medicamentos, radiaciones, enfermedades sistémicas o la presencia de algún síndrome como el de Sjögren; producen cambio en el sistema microbiano, dificultando la masticación, la deglución y la expresión del lenguaje verbal^{15,19,22}



CAPÍTULO III

PLACA DENTOBACTERIANA

La placa bacteriana constituye un factor etiológico fundamental para el desarrollo de la caries; la cual se define como una masa blanda y adherente, compuesta por productos del metabolismo bacteriano, de exudado crevicular, de saliva y partículas de alimentos. Se forma como consecuencia de la organización, crecimiento, colonización y proliferación de las colonias de bacterias, aerobias y anaerobias; que se fijan sobre la superficie de los dientes, la encía y otras superficies bucales (prótesis, material de restauración, etc).

La placa bacteriana por sí sola no es dañina, el poder patógeno o la capacidad de producir una enfermedad no dependen exclusivamente del microorganismo, sino también de las características del hospedador. Una placa con mayor proporción de organismos proteolíticos (que degradan proteínas) y Gram negativos será una placa periodontopatogénica. De esta forma una placa rica en microorganismos Gram positivos y sacarolíticos (fermentadores de sacarosa) será una placa tendiente a producir caries, localizada principalmente a nivel supragingival entre esos microorganismos el más común es *Streptococcus mutans*, el cual coloniza en diferentes grados las superficies dentarias y por su capacidad acidogénica contribuye así al desarrollo de la placa bacteriana y a la formación de la caries dental; seguido de *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mitis*, *Actinomyces sp.* y *Lactobacilos*^{23,25,27}



3.1 La formación de la película adquirida y placa dentobacteriana

En el artículo de “biofilms bacterianos”, el autor menciona que las bacterias que existen en el ecosistema oral se encuentran de dos formas: bacterias planctónicas, aquellas que se encuentran suspendidas libremente en la cavidad bucal, correspondiendo al 1% y el 99% de todas las células bacterianas que son capaces de formar microcolonias; inmediatamente después de cepillar los dientes, a los poco minutos comienzan a depositarse en su superficie, proteínas salivales (estaterinas, mucinas, proteínas ricas en prolina), y componentes bacterianos (fragmentos de pared celular y moléculas de membrana), formándose como resultado una película acelular, delgada ,amorfa, carente de bacterias de 1 a 3 micrómetros de grosor aproximadamente; denominada “biofilm”, “película temprana” o “película adquirida”. Su formación se debe a que algunas glucoproteínas son adsorbidas a la hidroxiapatita, lo que facilita la unión de la proteína a la película y por consiguiente la adherencia de los estreptococos (*S. mutans* y *sanguis*) , que tienen la propiedad de desdoblar la sacarosa a partir de glucosa formando glucanos y fructanos que facilitan la adherencia bacteriana con un alto contenido de grupos carboxilos y sulfatos, que incrementan la carga negativa del esmalte; en este proceso son incorporadas enzimas de origen salival como la lisosima, peroxidasa y amilasa que pueden influenciar la colonización bacteriana sobre la película.^{23,26}

En la hipótesis propuesta por Marsh en 1997, postula que “El poder patógeno depende de la capacidad del microorganismo para colonizar, formar parte de la placa dentobacteriana, multiplicarse, invadir y producir la enfermedad, tomando en cuenta la resistencia del hospedador”.



Después de la formación de la película adquirida ésta comienza a ser colonizada por microorganismos residentes de la cavidad bucal, este proceso se ha dividido en las siguientes etapas:

1. **Deposición:** Fase reversible en la que se produce un acercamiento inicial de las bacterias a la superficie de la película.
2. **Adhesión:** Fase irreversible en la que participan componentes tanto de la bacteria como del hospedador, la presencia de estos componentes determina que se produzcan uniones físicas o químicas entre los constituyentes bacterianos y los del hospedador determinándose así una estrecha unión.

Los mecanismos de unión pueden ser:

- ❖ Por medio de ácido teicoico y lipoteicoico (Componentes bacterianos que unen la pared celular con la membrana citoplasmática), penetra en la pared celular del estreptococo con una carga negativa que le permite adherirse al ion calcio y magnesio de la saliva; contienen una doble carga positiva y actúan como puentes electrostáticos; debido a que la superficie bacteriana tanto como la película adquirida del esmalte tienen carga negativa. (Fig.3.1)^{3,27}

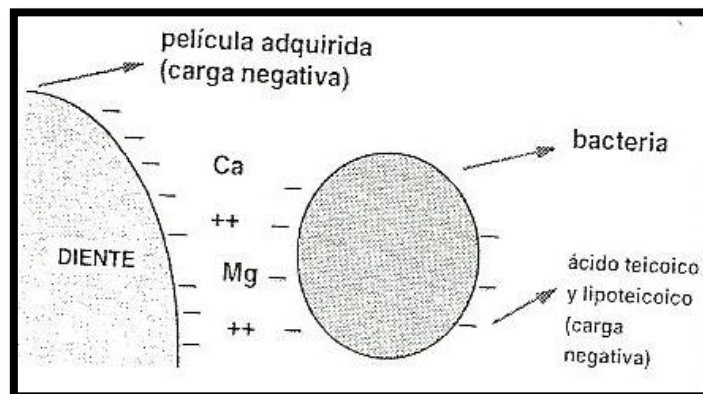


Fig.3.1 Mecanismo de adherencia bacteriana. Unión por medio de Calcio y de Magnesio, ácido teicoico y lipoteicoico.³



- ❖ A través de adhesinas presentes solo en las bacterias Gram positivas (compuestos de las superficies de las bacterias que se encuentran en las fimbrias que forman el glucocálix) que se combina con el receptor del hospedador. Los receptores para las bacterias Gram negativas de encuentran en los carbohidratos del glucocálix. (Fig.3.2)

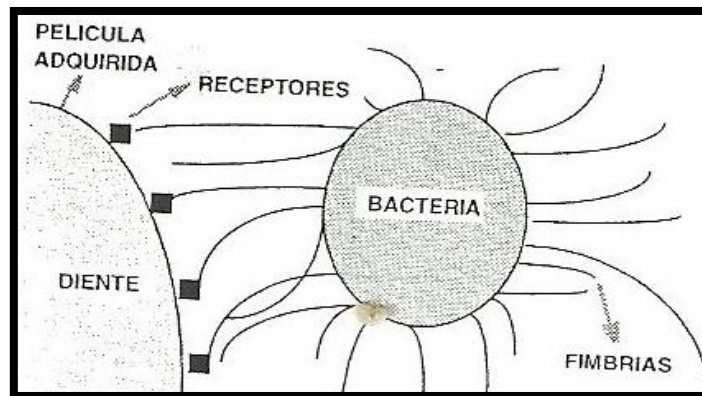


Fig.3.2 Mecanismo de adherencia bacteriana. Unión por medio de adhesinas y fimbrias³

- ❖ Por medio de polisacáridos extracelulares (glucanos, levanos). (Fig.3.3)

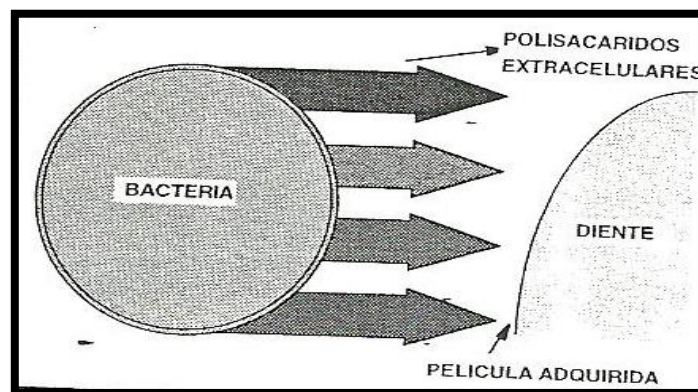


Fig.3.3 Mecanismo de adherencia bacteriana. Unión a través de polisacáridos extracelulares.³

La formación de estos polisacáridos depende de la disponibilidad de los sustratos en la dieta. La formación de esta placa delgada enfatiza la importancia de los carbohidratos en la dieta, en la formación de una placa voluminosa que contenga polisacáridos extracelulares. La sacarosa es el



sustrato de carbohidratos que proporciona la síntesis más prolífica de polisacáridos extracelulares y las especies de estreptococos están entre las bacterias que producen las enzimas para su síntesis.^{3,27}

3. **Crecimiento y reproducción:** Una vez producida la adhesión, después de tres a cinco días de inicio de formación de la película adquirida, continúan los procesos de agregación y coagregación bacteriana, donde las bacterias pueden a su vez adherirse a otras bacterias de la misma o diferente especie por un mecanismo semejante dando lugar a la formación, crecimiento y reproducción de microcolonias en la superficie dental lo que permite conformar una capa confluyente y madura llamada placa dental; se produce por la acumulación de un conjunto de bacterias aerobias y anaerobias que se encuentran distribuidas en una matriz extracelular, la cual contiene iones de calcio y fosfato, glucoproteínas provenientes de la hidroxiapatita del esmalte y de origen salival.^{3,27}(Fig.3.4)

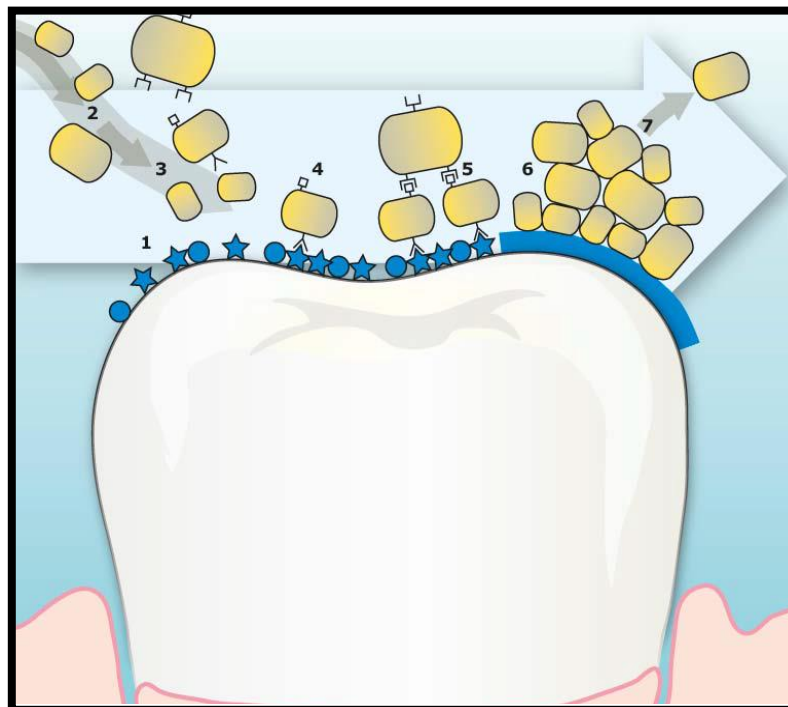


Fig.3.4 Formación de la placa dentobacteriana: 1. Formación de la película. 2. Las bacterias se transportan a la superficie del diente. 3. Deposición 4.Adhesión. 5. Coagregación. 6. Crecimiento y maduración 7.Desunión⁵²



CAPÍTULO IV

PROBIÓTICOS, PREBIÓTICOS Y SIMBIÓTICOS

El interés científico por las bacterias como agentes protectores frente a diferentes enfermedades surge en 1908, cuando el microbiólogo, galardonado con el premio Nobel de Fisiología y Medicina por su trabajo en el Instituto Pasteur, Elie Metchnikoff, propuso que la ingesta de productos con leche fermentada que contenían bacterias lácticas, disminuía el número de bacterias formadoras de toxinas en el intestino y contribuía a la longevidad de los campesinos búlgaros, afirmando que "La dependencia de los microorganismos intestinales contenidos en los alimentos modifica la flora en nuestro organismo y reemplaza los microorganismos dañinos por microorganismos útiles" (Teughels y cols. 2008)^{29,31} (Fig. 4.1)

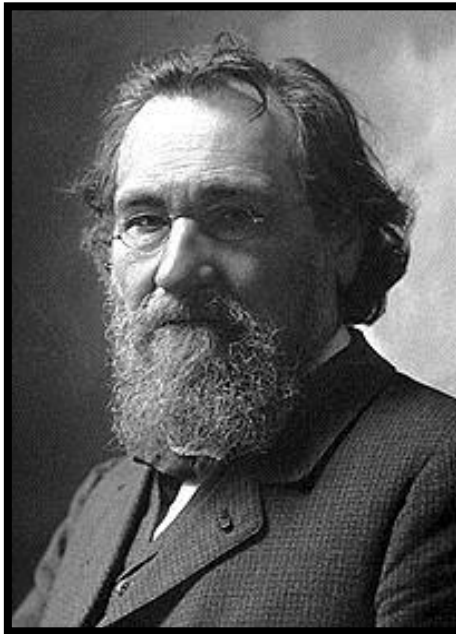


Fig.4.1 Elie Metchnikoff 1845-1916.³³

Tissier en 1906, observó que los niños con diarrea tenían en sus heces un escaso número de bacterias caracterizadas por una morfología peculiar en



forma de “Y”. Estas bacterias bífidas eran, por el contrario, abundantes en los niños sanos, sugirió la posibilidad de administrar estas bacterias a pacientes con diarrea para facilitar el restablecimiento de una flora intestinal sana.⁶⁷ En 1965, Lilly y Stillwell fueron los primeros en citar el término “probiótico” para describir a cualquier sustancia segregada por un microorganismo, que estimula el crecimiento de otro, en contraposición al término “antibiótico” que se define como cualquier compuesto químico utilizado para eliminar o inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos.³⁶ Posteriormente Parker define a los probióticos como organismos y sustancias que contribuyen al equilibrio intestinal; más adelante en 1989, Fuller intentó mejorar la definición hecha por Parker y definió probiótico como: “Aquellos microorganismos vivos principalmente bacterias y levaduras que son agregadas como suplemento en la dieta beneficiando al hospedador mediante la mejora de su equilibrio microbiano intestinal”.³⁶ La definición más completa, siguiendo a Teitelbaum y Walker, sería la preparación de un producto que contiene microorganismos viables, en cantidades suficientes para alterar la microflora en el intestino ejerciendo efectos beneficiosos en el hospedero.³² Caglars y colaboradores; en el 2005, mencionan que la bacterioterapia podría ser una buena opción para combatir las infecciones por medio de bacterias inofensivas y reemplazar a los microorganismos patógenos.³⁵

4.1 Los probióticos

Etimológicamente la palabra probiótico deriva del latín -pro- que significa a favor de, y del griego -bios- que quiere decir vida; que significa a favor de la vida; es un antónimo de antibiótico que significa en contra de la vida. En el año 2002, la Food and Agricultural Organization (FAO) y la OMS definieron la palabra probiótico como “Aquellos microorganismos vivos, que administrados en cantidades adecuadas confieren beneficios para la salud del hospedador”.



Los probióticos se consideran “alimentos funcionales”; sustancias nutritivas que actúan beneficiosamente sobre las funciones del cuerpo, más allá de su efecto nutricional mejorando la salud y reduciendo el riesgo de enfermedad. Un alimento funcional, puede ser un alimento natural o que se le ha añadido, modificado o eliminado un componente por medios biotecnológicos.^{29,38}

4.1.1 Principales microorganismos utilizados como probióticos

Los microorganismos comúnmente empleados como probióticos son bacterias “ácido lácticas”, son cocos o bacilos Gram positivos, anaerobios, acidogénicos pertenecientes a los géneros: *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Enterococcus* y *Streptococcus*; en el primer grupo se encuentran; *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis*, en el segundo grupo encontramos; *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus rhamnosus*; en el tercer grupo tenemos; *Enterococcus faecium* y *Enterococcus faecalis*; en el último grupo encontramos al *Streptococcus thermophilus* y *Streptococcus lactis* (Tabla 4.1).^{36,39}

Tabla 4.1 Microorganismos usados como probióticos con uso terapéutico³⁶

<i>Lactobacillus</i> spp.	<i>Bifidobacterium</i> spp.	<i>Lactococcus</i> spp.	<i>Streptococcus</i> spp.	<i>Enterococcus</i> spp.	<i>Bacillus</i> spp.	Otras especies
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>L. lactis</i>	<i>S. thermophilus</i>	<i>E. faecium</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>Saccharomyces</i>
<i>L. lactis</i>	<i>B. longum</i>	<i>L. cremoris</i>	<i>S. lactis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>B. coagulans</i>	<i>cerevisiae</i>
<i>L. bulgaricus</i>	<i>B. infantis</i>	<i>L. diacetylactis</i>				<i>Saccharomyces</i>
<i>L. rhamnosus</i> GG	<i>B. breve</i>					<i>boulardii</i>
<i>L. casei</i>	<i>B. lactis</i>					<i>Leuconostoc</i> spp.
<i>L. kefir</i>	<i>B. adolescentis</i>					
<i>L. brevis</i>						
<i>L. reuteri</i>						
<i>L. helveticus</i>						
<i>L. plantarum</i>						
<i>L. johnsonii</i>						
<i>L. salivarius</i>						



Los probióticos representan una de las mayores tasas de crecimiento dentro del mercado global de los alimentos funcionales, debido a que nuevos productos con probióticos aumentan cada año, siendo el de los productos lácteos el principal sector asociado en la incorporación de estos microorganismos en algunos productos como el yogurt, queso y mantequilla; el vehículo más común para los probióticos a nivel bucal es el de productos lácteos ya que el queso y yogur tienen altos contenidos naturales de calcio y fosfato mejorando la remineralización del esmalte (Cuadro 4.1) debido a los avances científicos y en la industria de alimentos gran parte de la producción de probióticos se vende en forma de suplementos alimenticios en tabletas o cápsulas, particularmente en Estados Unidos.^{39,41}

Cuadro 4.1 Productos lácteos con probióticos comercializadas en México⁶⁷

Denominación / Marca / Contenido neto / País de origen	Información al consumidor	Contenido promedio de		Características	
		Proteína Medida/ Requerida	Grasa	Bacterias lácticas vivas millones de UFC / ml*	Composición
Bebida láctea fermentada con fresa light 0% grasa con bifidocápsulas / Yoplait Yoplus / 250 g / México	Completa	3.0% / 1.6%	0.0%	6200 ¹ 630 ²	Cumple
Alimento lácteo fermentado natural / Activia Danone / 250 g / México	Completa	2.7% / 2.1%	2.7%	120 a 1400 ¹ 47 a 130 ²	Cumple
Alimento lácteo fermentado para beber reducido en grasa con fibra y bifidus con fresa 0% sin grasa y sin azúcar / LALA ViVe / 250 g / México	Completa	2.6% / 1.6%	0.3%	1500 ¹ 1.8 ²	Cumple
Alimento lácteo fermentado sin grasa con fresa / Vitalinea Danone / 250 g / México	Completa	2.5% / 1.6%	0.1%	530 a 600 ¹ 0.3 ²	Cumple
Alimento lácteo fermentado contiene bifido bacterias y fibra soluble / Masau Good Digestion / 250 g / México	Completa	2.3% / 2.1%	2.8%	230 ¹ 27 ²	Cumple
Alimento lácteo fermentado con frutas y vegetales reducido en calorías / Alpura Vivendi Defensas / 250 g / México	Completa	2.7% / 1.6%	1.8%	60 ¹ 18 ²	Cumple
Producto lácteo fermentado / Chamyto Nestlé / 80 g / México	Completa	1.8% / 1.8%	0.0%	0.6 a 20 ⁵	Cumple
Producto lácteo fermentado / Yakul / 80 ml / México	Completa	1.1% / 1.8%	0.0%	140 a 200 ³	Tuvo de 40% a 42% menos proteína de la requerida por norma
Producto lácteo fermentado / Bonacult / 120 ml / México	Completa	1.1% / 1.8%	0.1%	0.7 a 1.3 ⁶	Tuvo de 33% a 43% menos proteína de la requerida por norma

* Unidades Formadoras de Colonia por mililitro

1) Corresponde a la suma de *Lactobacillus* y *Streptococcus* 3) Corresponde al conteo de *Lactobacillus casei shirota* 5) Corresponde al conteo de *Lactobacillus paracasei*
2) Corresponde al conteo de *Bifidobacterium* 4) Corresponde al conteo de *Lactobacillus casei* 6) Corresponde al conteo de *Lactobacillus casei rhamnosus*

<http://www.consumidor.gob.mx/wordpress/wp-content/uploads/2012/04/RC-353-Yogur-y-otros-lacteos.pdf>



Los probióticos han sido utilizados por varias décadas en la Medicina existiendo evidencia de su eficacia en ciertas enfermedades, donde se han publicado estudios para justificar los mecanismos de acción que permita su aplicación y desarrollo en la práctica clínica; estos microorganismos han sido usados principalmente en afecciones del sistema gastrointestinal, siendo este su mayor campo de estudio; dándole un enfoque terapéutico en la cavidad oral debido a que considera la primera parte del tracto gastrointestinal.⁴⁶

4.1.2 Las características principales de los probióticos

Las características para que los microorganismos sean considerados como probióticos de acuerdo a Teitelbaum son:

1. Proceder de cepas humanas.
2. Ser inocuos (No ser patógenos por naturaleza).
3. Ser resistentes a la acidez de las secreciones gástrica y secreciones pancreáticas.
4. Poder adherirse al epitelio intestinal.
5. Ser capaces de colonizar el tracto gastrointestinal.
6. Prevenir la adherencia, establecimiento, replicación y/o la acción de las bacterias patógenas.
7. Producir sustancias antimicrobianas que reduzca la presencia de agentes patógenos.
8. Que modulen las respuestas inmunitarias.
9. Que colaboren en la formación de una flora normal equilibrada.



4.1.3 Los mecanismos de acción de los probióticos a nivel intestinal

Se ha atribuido el efecto de los probióticos a su capacidad de modificar la composición de la microflora intestinal, de potencialmente dañina a beneficiosa para el hospedador, (Fig.4.2) mediante distintos mecanismos como:

1. Competencia de los receptores presentes sobre la superficie del epitelio intestinal (inhibición competitiva).
2. Inhibición de su crecimiento y/o muerte mediante la producción de sustancias antimicrobianas (bacteriocinas o peróxido de hidrogeno).
Las bacteriocinas son sustancias producidas por las bacterias con una acción bactericida o reducción del pH principalmente por ácidos orgánicos como lactato y ácidos grasos de cadena corta como el acetato.
3. Competencia de los nutrientes disponibles por las bacterias patógenas.
4. Mejorar la función de la barrera intestinal.
5. Producción de nutrientes importantes para la función intestinal.
6. Aumentar la secreción de mucina que favorece a la adherencia de las bacterias probióticas a la mucosa intestinal y bloquea la unión de los patógenos a los receptores epiteliales.
7. Estimular al sistema inmune del hospedero, aumenta la actividad fagocítica de los macrófagos, y la producción de inmunoglobulinas secretoras IgA e IgM.^{42,43,44}

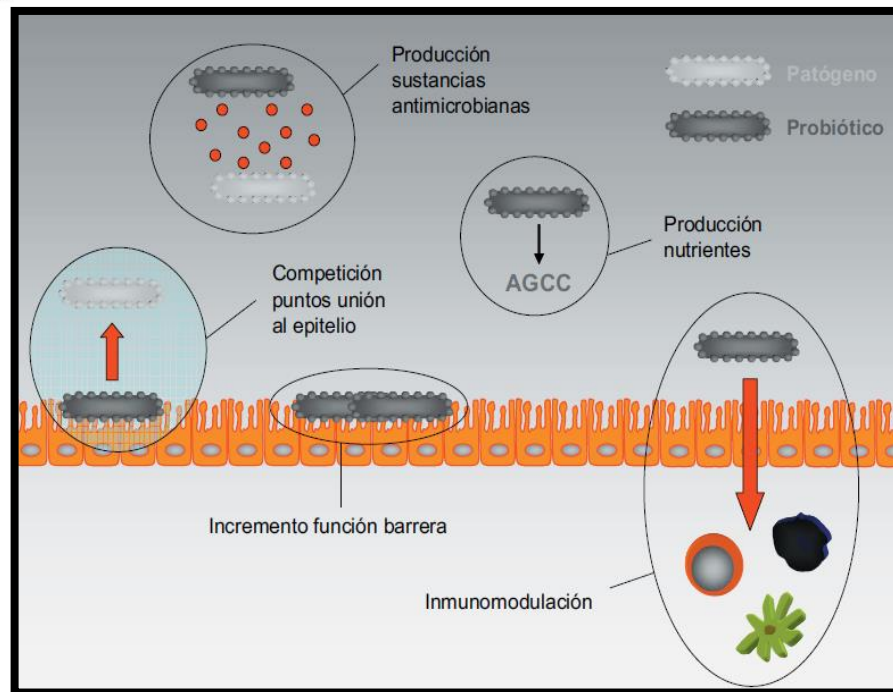


Fig.4.2 Mecanismo de acción de los probióticos ⁴⁶

La FAO y la OMS en mayo 2002 recomendaron que se incorpore en el etiquetado de los probióticos: Género, especie y nombre de la cepa, el número de bacterias viables al final de la vida útil, dosis recomendada para asegurar la funcionalidad y efectos benéficos para la salud que se publicitan, condiciones óptimas para el almacenamiento (grados de refrigeración), y casa comercial en la cual el usuario puede informarse sobre el producto ⁵³

4.1.4 Los efectos terapéuticos de los probióticos reportados en la literatura

Existe una gran cantidad de estudios reportados por diferentes investigadores de la relación benéfica de los probióticos con la salud de los seres humanos (Tabla 4.3), entre los cuales tenemos:



Allen y colaboradores en el 2004, demostraron que los probióticos coadministrados con un tratamiento estándar de rehidratación, producen una disminución del tiempo de duración de la diarrea aguda. La base lógica para usar probióticos en la diarrea asociada a antibióticos radica en el razonamiento según el cual los antibióticos alteran la flora intestinal; varios probióticos han sido evaluados en el tratamiento o prevención de esta diarrea, incluyendo *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. rhamnosus* GG y *Saccharomyces boulardii*. Kotowska y colaboradores, llegaron a la conclusión de que *S. boulardii* reduce el riesgo de la diarrea asociada a antibióticos. McFarland, 2007 mostró un efecto profiláctico beneficioso de *L. rhamnosus* GG previniendo la diarrea del viajero.^{48,38}

Hoveyda y colaboradores. 2009 mencionan que tras un tratamiento largo con probióticos (de cuatro a ocho semanas), éstos alivian algunos síntomas del síndrome del intestino irritable como la flatulencia, el dolor y la distensión abdominal; las cepas probióticas que mejores resultados consiguieron, fueron *Bifidobacterium infantis*, *L. rhamnosus*, *L. plantarum* y *Bifidobacterium animalis* (componente activo del yogur Activia®), recientemente en un grupo de voluntarios sanos se les dio una leche fermentada adicionada con *L. acidophilus* y *B. bifidum* observando tras su ingesta después de seis semanas, el mecanismo de fagocitosis se activa e incrementa la producción de varias citocinas y permite una mejor respuesta inmunitaria. Reddy demostró que la administración de *Bifidobacterium longum*, inhibía el desarrollo de cáncer mamario y de colon, este efecto antiproliferativo puede ser útil en la prevención y tratamiento de tumores graves.³⁶



Tabla 4.3 Beneficios en la salud atribuidos a probióticos ⁴⁸

A: Para combatir:	Desarrollo de microflora nativa en el intestino.
	Control de infecciones en el intestino por patógenos entéricos.
	Control de infecciones en el tracto urogenital.
	Intolerancia a la lactosa.
B: Para reducir:	Incidencia de diarreas.
	Tumores de cáncer en colon (y otros órganos).
	Colesterol sérico y enfermedades cardíacas.
C: Para estimular:	Sistema inmune.
	Movimiento intestinal.

4.1.5 Las recomendaciones para la evaluación de los probióticos

Con frecuencia desconocemos todos los pasos de investigación y desarrollo que deben cumplir los productos con probióticos; debido al elevado costo de los ensayos clínicos realizados en humanos, ninguna empresa del sector asume este tipo de investigación hasta estar seguros de disponer de un microorganismo que tenga determinadas propiedades funcionales *in vitro* y sea viable en el alimento en el que se va a añadir. Para llevar a cabo este tipo de experimentación clínica se recomienda seguir los lineamientos de la guía para la evaluación sistemática de probióticos en alimentos publicadas en mayo del 2002 por el grupo de científicos de la FAO/OMS; dicha guía incluye los siguientes aspectos:

- 1. Definición de género, especie y cepa:** La nomenclatura de los probióticos debe seguir las indicaciones actuales de taxonomía del International Journal of Systematic of Evolutionary Microbiology.



2. **Pruebas *in vitro*:** Se examina la resistencia a la acidez gástrica, a los ácidos biliares, adherencia a las células epiteliales, actividad antimicrobiana frente a otros organismos y la habilidad para reducir la adhesión de microorganismos patógenos; estas no son definitivas y deben ser corroboradas mediante estudios *in vivo* en ensayos clínicos.
3. **Consideraciones de bioseguridad:** Deben cumplir con las condiciones básicas mínimas como la ausencia de factores de virulencia y efectos secundarios en estudios en humanos.
4. **Estudios *in vivo* (en animales y humanos):** Se recomienda los métodos estándar para la evaluación de productos; Fase I seguridad, Fase II estudios aleatorizados de doble ciego y con placebo y Fase III estudia la efectividad comparada con una terapia estándar. Finalmente hay que escoger el alimento a la que se le va añadir el probiótico.
5. **Recomendaciones de comercialización:** Se hace referencia a toda la información del etiquetado del probiótico; desde una perspectiva científica, una descripción adecuada de un producto probiótico debería incluir la siguiente información:
 - ❖ Identificación de género, especie y cepa con nomenclatura que concuerde con los nombres reconocidos científicamente actualmente; ejemplo *Lactobacillus casei* DN-114 001.
 - ❖ Conteo de organismos viables de cada cepa.
 - ❖ Condiciones de almacenamiento recomendadas.
 - ❖ Seguridad bajo las condiciones de uso recomendadas.



- ❖ Dosis recomendada, que se debería basar en la inducción del efecto fisiológico declarado.
- ❖ Información de contactos para la vigilancia post comercialización.^{55,54}

4.1.6 La viabilidad de los probióticos

Se entiende por viabilidad al número suficiente de bacterias que sean activas en el momento del consumo; por lo que deberían examinarse factores como:

1. pH (derivado de la fermentación).
2. Composición química del medio de cultivo.
3. Tipo de envasado y dimensiones del envase
4. Condiciones de almacenamiento (temperatura, humedad, etc.)

4.1.7 La dosis recomendable de los probióticos

La dosis necesaria de probióticos varía mucho dependiendo de la persona que lo ingiere, la cepa, el producto y el tratamiento; Normalmente se menciona que una dosis de 1×10^{10} UFC/dosis (10 mil millones de unidades formadoras de colonias) por dosis, diversos estudios han demostrado ser eficaces a niveles inferiores, mientras que otros requieren muchísimas más.^{55,54}

4.1.8 La seguridad en el consumo de los probióticos

Los probióticos no parecen ser un riesgo para la salud, estos se consideran seguros ya que no se han encontrado propiedades patógenas en las bacterias ácido lácticas; dado por su carácter de colonizadores normales del cuerpo humano, y el bajo nivel de infección que se les atribuye; pero hay que



tener en cuenta la posibilidad de efectos secundarios, como la inducción de resistencias a los antibióticos, las enfermedades sistémicas o que ellos mismos se comporten como agentes patógenos. Mackay y colaboradores, 1999 mencionan la precaución con el uso de probióticos en pacientes con enfermedades graves, por las posibles complicaciones con fungemias y bacteriemias. Saavedra y colaboradores, 2004 realizaron un estudio de consumo a largo plazo de una fórmula adicionada con *Bifidobacterium lactis* y *S. thermophilus* en niños menores de dos años de edad donde se mostró que el producto no causó efectos secundarios.^{29,36,38}

4.2 Los prebióticos

Gibson y Robertfroid, introdujeron el término “prebiótico” para referirse a los ingredientes no digeribles de los alimentos que afectan de manera positiva al hospedero, estimulando el crecimiento y/o la actividad metabólica de un número limitado de las bacterias intestinales en nuestro organismo, estos compuestos se caracterizan por ser moléculas de gran tamaño que no pueden ser digeridas por las enzimas del tracto gastrointestinal alcanzando al intestino grueso donde son degradados por la microflora bacteriana, principalmente por las *Bifidobacterias* y *Lactobacilos*. Las sustancias mejor estudiadas por su efecto prebiótico son los fructo y galacto oligosacáridos encontrados en el trigo, cebollas, ajo, plátanos y miel.⁴⁴

4.3 Los simbióticos

Es la combinación de probióticos y prebióticos que mejoran la supervivencia e implantación de las bacterias con el fin de mejorar la flora intestinal y su metabolismo; de esta manera los prebióticos constituyen el sustrato fundamental de las bacterias probióticas.³⁴



CAPÍTULO V

FUNCIÓN DE LOS PROBIÓTICOS EN LA CARIES

Para poder entender la utilización terapéutica de los probióticos en la prevención de la caries tenemos que recordar la hipótesis propuesta por Marsh, que postula que la caries es el resultado de la pérdida de la homeostasis de la microflora que reside en la placa dentobacteriana como consecuencia a las condiciones repetidas de un pH bajo en la placa dentobacteriana luego del consumo frecuente de carbohidratos y una disminución del flujo salival; donde los microorganismos potencialmente patógenos colonizan ciertos lugares específicos de la cavidad bucal y favorecen al desarrollo de la caries. En vista de todo ello, las investigaciones que se han realizado en los últimos años se enfocan sobre el control de los microorganismos patógenos a través de la bacterioterapia con el uso de probióticos. Los resultados de estudios recientes han demostrado que ciertas especies bacterianas usadas como probióticos, pueden ejercer efectos benéficos en ciertas enfermedades que afectan la cavidad bucal como la enfermedad periodontal, la halitosis y la candidiasis, haciendo mayor énfasis sobre la prevención de la caries dental mediante el control de los microorganismos cariogénicos de la microflora bucal.^{34,43}

5.1 Los mecanismos de acción de los probióticos a nivel bucal

Haujioka 2010 y Meruman 2005, mencionan que los mecanismos de acción de los probióticos en la cavidad bucal son análogos en el intestino y la colonización del medio de estas bacterias se considera esencial para ejercer efectos en la cavidad bucal.³⁴



En el 2005, Caglar y colaboradores mencionan que para que los probióticos tengan un efecto beneficioso en cuanto a prevención o limitación de caries en la cavidad bucal, deben ser capaces de adherirse a las superficies dentales y formar parte de la película adquirida¹⁶ actuando como una capa protectora para los tejidos; manteniendo a las bacterias patógenas fuera de los tejidos duros y blandos del diente, ocupando el espacio que los patógenos invadirían en ausencia del mismo; además de que tienen que antagonizar con las bacterias patógenas, mediante una exclusión competitiva la cual declara que dos especies en competencia biológica por los mismos recursos (sitios de unión y sustratos), no pueden coexistir de forma estable, si los demás factores ecológicos permanecen constantes; uno de los competidores tendrá una ligera ventaja sobre el otro llevándolo a una extinción o modificación del comportamiento de la bacteria; previniendo de esta forma su proliferación; y en la medida de lo posible fomentan la remineralización del esmalte. Los mecanismos de acción de los probióticos en la cavidad bucal se describen como interacciones directas sobre la placa dental y se consideran similares a los descritos para el intestino.^{43,33} (Tabla 5.1).

Tabla 5.1 Mecanismos hipotéticos de acción de los probióticos en la salud bucal ⁴³ fuente propia

Producción de sustancias antimicrobianas Ácidos orgánicos Peróxido de hidrógeno <u>Bacteriocinas</u>
Adherencia en la placa <u>dentobacteriana</u> Competencia de los patógenos por los sitios de unión Competencia por los sustratos disponibles
Modificaciones del ecosistema oral Modificación del pH Modificación del potencial de óxido reducción



El efecto de los probióticos cuando interactúan con otras bacterias en la placa dental inhiben el crecimiento de las bacterias patógenas a través de la producción de peróxido de hidrógeno, bacteriocinas y ácidos orgánicos lo que modifica el pH, y promueve el crecimiento y colonización de las bacterias ácido lácticas, modificando de esta forma la composición bacteriana potencialmente patógena a una composición bacteriana benéfica (Fig. 5.1) Goldin y Gorbach en el 2008, menciona; “Es importante tener en cuenta que los efectos de una bacteria probiótica no debe ser generalizada debido a que las diferentes cepas ejercen diferentes efectos”.⁵⁴ Devine y Marsh en el 2009 mencionan; “El consumo de probioticos altera la microbiota asociada a la caries antes de que se establezca firmemente las bacterias patógenas”.⁵¹

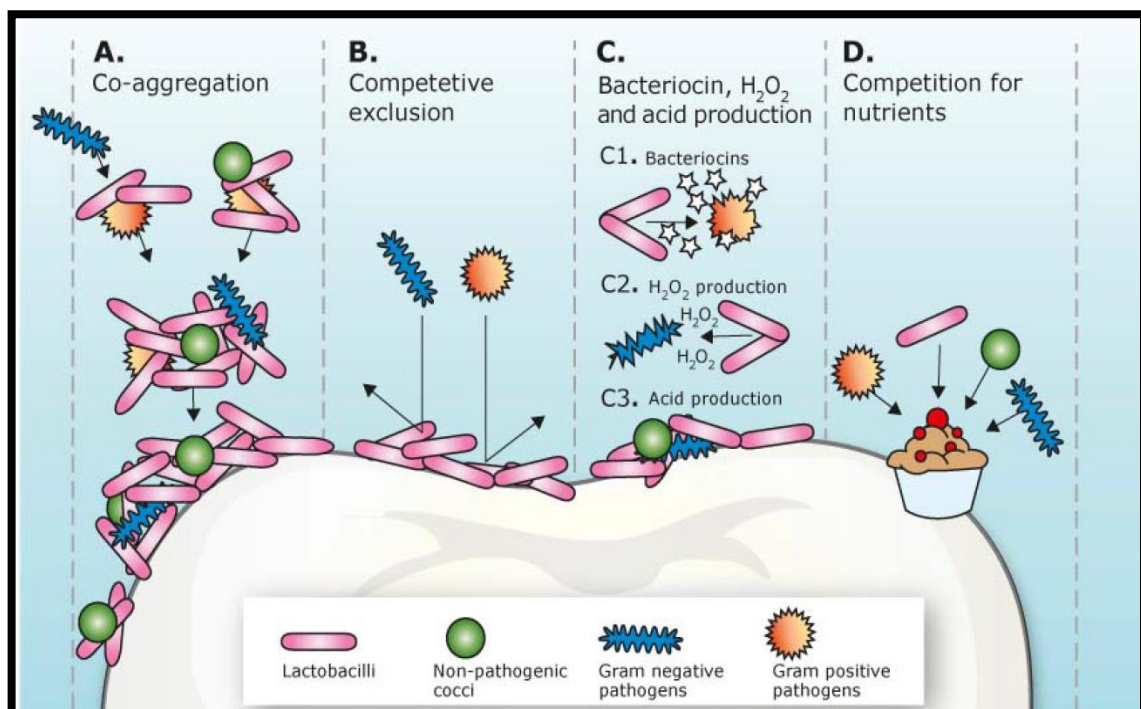


Figura 5.1 Mecanismo de acción de los probióticos en la salud bucal⁵¹



Meurman en el 2005; Yli - Knuuttila y colaboradores en el 2006 postulan “Las bacterias probióticas no colonizan permanentemente la cavidad bucal, o los intestinos, y se deben tomar en cantidades suficientes a diario”.²² Caglar y colaboradores en el 2005 mencionan que los estudios clínicos con las cepas probióticas tales como *Lactobacillus rhamnosus GG*, *Lactobacillus reuteri*, *Bifidobacterium DN-173* o una mezcla de lactobacilos han demostrado consistentemente una reducción en la prevalencia de caries asociados *Streptococcus mutans* en la saliva. Haukioja y colaboradores, 2006; realizaron un estudio *in vitro* demostrando que las *bifidobacterias* podrían sobrevivir en la saliva desplazando al *S. mutans*, modificando el nicho ecológico; haciéndolo menos perjudicial para el desarrollo de caries.⁶²

5.2 Los probióticos y su resistencia a los mecanismos de defensa bucal

linmediatamente después de ingerir los probióticos estos son expuestos a la saliva, durante esta primera etapa de contacto, la supervivencia y resistencia a los factores ambientales orales son muy importantes, por lo que algunas proteínas salivales tales como lisozima, lactoferrina y peroxidasa salival aumentan su adhesión al diente; la adherencia a los tejidos blandos de la cavidad bucal es otro aspecto que promueve el efecto benéfico de las bacterias probióticas al hospedero. Stamatova y Meurman en el 2009 mencionan; “El revestimiento epitelial de la cavidad bucal a pesar de su función como una barrera física, estimula una respuesta inflamatoria; por ejemplo los lactobacilos y otras bacterias Gram positivas expresan ligandos para los receptores tipo toll (TLRs) para que las células epiteliales, inicien las respuestas inmunes una vez que detectan a los microorganismos patógenos, para estimular la reparación y protección de las células epiteliales de la mucosa oral cuando ha sido colonizada por bacterias patógenas y para tratar de conservar la homeostasis”.⁶⁶



5.3 Principales microorganismos utilizados en la prevención de la caries

Las principales especies con actividad probiótica que han demostrado acciones alentadoras en la prevención de la caries dental son: *Lactobacillus rhamnossus* Gorbach Goldin, *Lactobacillus reuteri*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus lactis*, *Bifidobacterium animalis* y *Bifidobacterium lactis*, *Weissella cibaria* y *Streptococcus salivarius* (cepa K12).

5.3.1 *Lactobacillus rhamnossus* Gorbach Goldin

Está bacteria nombrada así por el nombre de sus descubridores Sherwood Gorbach y Barry Goldin, los cuales descubrieron que producía una sustancia inhibidora frente a diferentes especies bacterianas incluyendo a las especies de *Streptococcus*. Kullen plantea que la bacteria *Lactobacilos rhamnosus* es una de las bacterias probióticas más importante en la aplicación para la salud bucal en humanos; debido a que se ha demostrado en estudios clínicos que puede competir por los sitios de adherencia en la cavidad bucal y producir sustancias antibacterianas, además de que no fermenta la sacarosa o lactosa y su capacidad buffer contrarresta la acidez de la placa dentobacteriana inhibiendo la adhesión y crecimiento de microorganismos patógenos, protegiendo las superficies dentales e incrementando enormemente su potencial como alimento probiótico particularmente si se combina con antígenos de IgG reemplaza los estreptococos cariogénicos como el *Streptococcus mutans* o *Streptococcus sobrinus* de los dientes.²¹

Näse y colaboradores en el 2001, fueron los primeros en comprobar que la cepa de *Lactobacillus rhamnossus* Gorbach Goldin era capaz de inhibir la caries *in vivo*.⁷³



5.3.1.1 Efecto del consumo a largo plazo de la bacteria probiótica *Lactobacillus rhamnosus* GG, contenida en la leche para reducir el riesgo de caries en los niños.

Objetivo

Evaluar el efecto probiótico de *Lactobacillus rhamnosus* GG para reducir el riesgo de caries en los niños.

Material y método

El estudio fue un ensayo aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo de 18 guarderías municipales situadas en áreas de la misma condición socioeconómica en la ciudad de Helsinki, Finlandia; el estudio se conformó de 594 niños (296 grupo prueba y 298 grupo control) entre uno y seis años de edad, donde se examinó los efectos a largo plazo del consumo de *L. rhamnosus* GG ATCC 53103; durante cinco días a la semana por siete meses. El vehículo de administración del probiótico fue la leche con 5×10^5 UFC/ml.

Criterio de exclusión

La aplicación de fluoruro y el consumo de productos con *Lactobacillus* u otras bacterias del género ácido láctico estaban prohibidas cuatro semanas antes y durante el estudio.

Protocolo de estudio

Los dentistas del centro de salud de Helsinki, examinaron la salud dental de los niños de acuerdo a los criterios de la OMS, se anotaron las caries presentes por la cara oclusal, labial e interproximal.; se realizaron cuestionarios llenados por los padres para recabar información de antecedentes sociales, higiene bucal y cuidados dentales de los niños antes y después del estudio. Las muestras de saliva y de la placa dental se



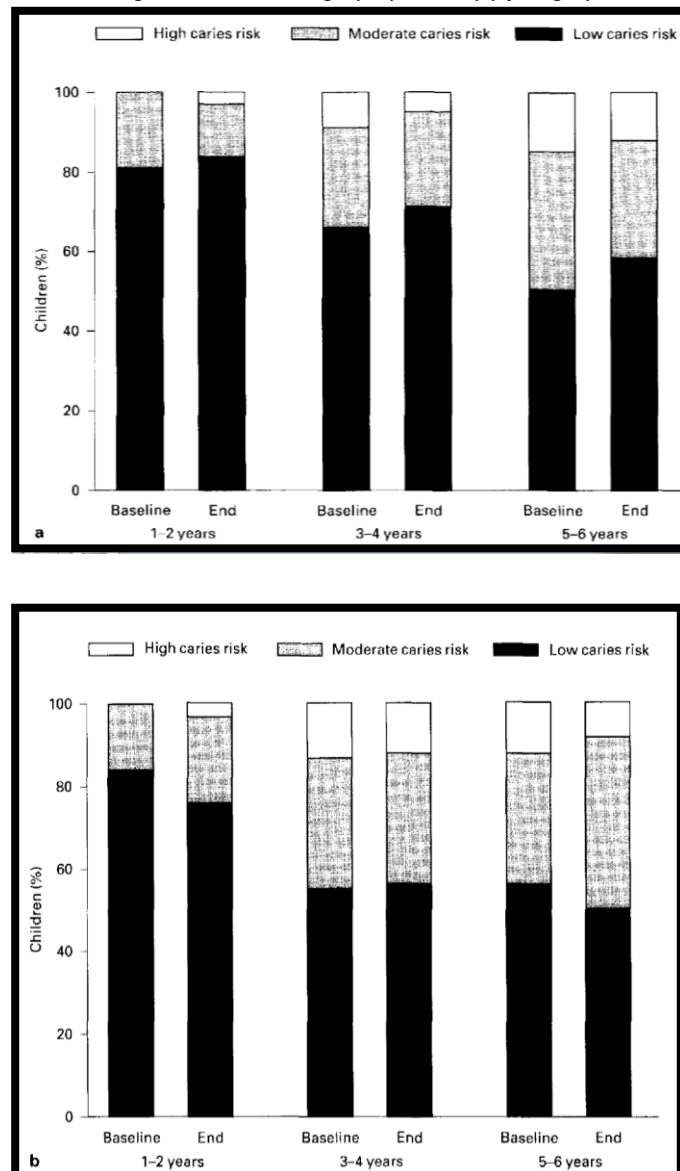
recogieron con una torunda de algodón estéril de las superficies labiales de los incisivos superiores y de los molares temporales del lado izquierdo para finalizar con el dorso de la lengua; siempre en ese orden. Las muestras se tomaron una hora después del desayuno; al inicio, mitad y final del estudio. Las muestras de la placa dental fueron esparcidas con una torunda de algodón sobre tiras Dentocult SM Strip mutans® y se cultivaron de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Las muestras de saliva se colocaron en pipetas, se enfriaron, centrifugaron y se almacenaron a -70°C para analizar las proteínas salivales. El riesgo a caries fue determinado de acuerdo a los datos clínicos y microbiológicos, conteniendo niveles de *S. mutans* de la placa dental y la saliva. El riesgo fue clasificado como alto si el niño tenía un conteo inicial de caries >0 y un conteo de *S. mutans* mayor o igual a 10^5 UFC/ml, el riesgo bajo se determinó si no se detectaban caries y el conteo de *S. Mutans* fuera menor a 10^5 UFC/ml.

Resultados

Para la cuantificación de *S. Mutans* durante el estudio, los niños se dividieron en tres grupos: Grupo I (1-2 años) Grupo II (3-4 años) Grupo III (5-6 años) En el grupo de 3 a 4 años, la leche con probiótico parece haber protegido contra las caries, especialmente en superficies oclusales. En el grupo prueba, el riesgo de caries calculado decreció de 40 a 34% y en el grupo control se observó un incremento de 39 a 43%.; basados en los resultados estadísticos, la intervención del *L. rhamnosus* GG redujo el riesgo de caries significativamente cuando ambos grupos (control y prueba) tomaron la leche. Gedalia 1991 y Moynihan 1999 “Los productos lácteos como la leche y el queso han mostrado ser anticariogénicos en los humanos al incrementar el contenido de calcio en la placa dental”. (Grafica 5.1)



Graficas 5.1 Riesgo a caries en el grupo prueba (a) y el grupo control (b) ⁷⁹



La leche probiótica mostró una tendencia moderada a reducir los niveles de *Streptococcus mutans*, y al desarrollo de menos caries en el grupo II. Según los autores del artículo, esto podría reflejar una “ventana para la infección” del *L. rhamnosus* GG, este lactobacilo tendría más facilidad para colonizar a los niños de tres a cuatro años que a los niños menores o mayores de esa edad.⁷⁸



5.3.1.2 Efecto a corto plazo después del consumo de un queso con probiótico para reducir el riesgo a caries dental.

Objetivo

Evaluar el consumo a corto plazo de un queso que contiene *Lactobacillus Gorbach Goldin* y *Lactobacillus rhamnosus LC 705* para reducir la caries dental.

Material y método

El estudio se conformó de ochenta y ocho personas aparentemente sanas entre 18 y 35 años de edad.

Criterios de exclusión

Las personas fumadoras, embarazadas, los que estaban tomando antibióticos, píldoras anticonceptivas, productos que contenían xilitol (polialcohol sustituto del azúcar en la dieta humana) estaban prohibidas cuatro semanas antes de iniciar el estudio. Quince personas abandonaron antes de la asignación al azar, por lo tanto, 74 sujetos fueron incluidos en el análisis final.

Protocolo de estudio

El estudio fue un ensayo aleatorizado, doble ciego, los sujetos fueron asignados al azar para el grupo control y el grupo prueba. El vehículo de administración fue el queso que contenía 1.9×10^7 UFC / g de *Lactobacillus rhamnosus GG*, ATCC 53103 y 1.2×10^7 UFC / g de *Lactobacillus rhamnosus LC 705*. El estudio consistió en 3 semanas: inicio, la ingesta de probiótico y post-tratamiento. La dosis diaria fue de 15 gramos cinco veces al día, después de las comidas. Las personas podían cepillarse dos veces los dientes con pasta dental, una hora después de comer el queso. Un dentista examinó bucalmente a los sujetos antes y después del estudio. El examen clínico se



realizó utilizando los criterios de la OMS, se registró el CPOD, el índice periodontal comunitario IPC; posteriormente se midió el número de *S. mutans* y lactobacilos en la saliva antes y tres semanas después del estudio, al igual que el pH de la saliva estimulada con un pedazo de parafina.

Resultados

Durante el estudio los niveles de *S. mutans* disminuyeron 21% del grupo muestra y 19% del grupo control, los cambios no fueron significativamente importantes durante el consumo de probióticos sino en el periodo post-tratamiento hubo una disminución en la cuantificación de *S. mutans* y lactobacilos aún más pronunciada en el grupo muestra en comparación con las muestras tomadas al inicio. El 16 % del grupo muestra no tenía lactobacilos en su saliva; la tendencia fue diferente en el grupo control durante el período de post-tratamiento ya que las personas con un alto número de lactobacilos no disminuyeron sus niveles, además que no se encontraron cambios significativos en el pH del grupo de muestra en comparación con el grupo control durante el post-tratamiento. En este estudio los investigadores encontraron que el *Lactobacillus GG* ejerce actividad inhibidora contra *Streptococcus sobrinus* además que no fermenta la sacarosa y por lo tanto, no parece promover la caries, aunque la influencia de diferentes probióticos en los factores de riesgo de la caries también queda por establecerse.⁸⁰ Stamatova y colaboradores en su estudio que se realizó en el 2007 indicó que *L. rhamnosus* y *Lactobacillus bulgaricus* producen efectos inhibitorios contra *P.gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* y otras especies de streptococos.⁶⁶ Strahnic y colaboradores, 2007 llevó a cabo un estudio utilizando cepas probióticas *L. salivarius* y *L. fermentum* y ambas cepas mostraron actividad antagonista sobre el crecimiento de *S. mutans* y *S. neumoniae*.⁷³



5.3.2 *Lactobacillus reuteri*

Nikawa y colaboradores en el 2004, examinaron los efectos de un yogur que contenía *Lactobacillus reuteri*; el tomar yogur con *L. reuteri*; diariamente durante dos semanas reducía significativamente en un 80% los niveles de *S. mutans* en la saliva⁵². Igualmente, los niveles reducidos de *S. mutans* se mantenían cuando el yogur placebo era consumido después del consumo de yogur probiótico. Estos resultados sugieren que *L. reuteri* en yogur reduce los niveles de *S. mutans* en la saliva durante al menos dos semanas después de interrumpir su consumo.^{60,71} Caglar y colaboradores en el 2007- 2008 en su investigación descubrieron “el efecto de la bacteria probiótica, *L. reuteri*, sobre los niveles de *S. mutans* salival en los niños y jóvenes cuando los ingerían mediante sistemas de liberación diferentes (polvo disuelto en un líquido, tabletas). Los estudios tuvieron una duración entre dos y seis semanas, los cuales se observó una reducción estadísticamente significativa de los niveles de *Streptococcus mutans* después de la ingestión de la bacteria probiótica mediante cualquier vehículo de administración utilizado en esos estudios²⁹; el probiótico con *Lactobacillus reuteri*, combate la placa dental, la gingivitis y las bacterias cariogénicas.⁵⁹

5.3.2.1 Niveles de lactobacilos y *Streptococcus mutans* salivales después de la ingestión de *Lactobacillus reuteri* ATCC 55730 mediante tabletas.

Objetivo

Examinar el consumo a corto plazo del probiótico especialmente preparado mediante tabletas y popotes prefabricados.



Material y método

El grupo de estudio estaba compuesto por 120 adultos jóvenes sanos (71 hombres y 49 mujeres) de 21 a 24 años de edad que voluntariamente aceptaron participar después de recibir la información verbal y escrita.

Criterios de exclusión

Personas que estuvieran tomando algún antibiótico, tratamientos de fluoruro sistémico o tópico, consumieran un producto con probióticos o xilitol, cuatro semanas antes del estudio, que tuvieran caries activas o no tratadas, gingivitis o enfermedad periodontal.

Protocolo de estudio

El protocolo fue aprobado por el Colegio de Comité de Ética de Odontología de la Universidad de Yeditepe, Estambul, Turquía. El estudio fue aleatorizado y controlado con un placebo en un período de 3 semanas. Los participantes fueron asignados aleatoriamente en cuatro grupos de 30 personas cada uno: Grupo A bebieron 200 ml de agua a través de un popote preparado con bacterias probióticas una vez al día, el grupo B bebieron 200 ml de agua a través de un popote placebo, una vez al día; el grupo C ingirió una tableta con probióticos una vez al día y el grupo D ingirió una tableta placebo una vez al día. Durante el período experimental, los sujetos se cepillaron los dientes dos veces al día. El popote con probiótico consistía en una membrana de polipropileno con una gotita de aceite que contenía *L. reuteri* ATCC 55730 (108 UFC / popote) en su parte interior del popote; mientras que el popote placebo fue idéntico en tamaño y color, pero sin probiótico. La tableta contenía *L. reuteri* ATCC 55730 (108 UFC / tab). Las tabletas placebo eran idénticas en tamaño, la forma y el sabor, pero sin bacterias vivas. En el grupo A bebieron 200 ml de agua lentamente desde tazas estándar una vez al día a la hora del almuerzo. En el grupo C la tableta



se disolvió lentamente en la boca alrededor del mediodía, no se les permitió cepillarse los dientes por lo menos 1 hora después de la ingestión de los probióticos. Las muestras de saliva se realizaron antes y después de la ingestión de probióticos, se enjuagaron la boca con agua y se recolectó la saliva en un tubo de ensayo graduado de 5 ml. Los recuentos de *Streptococcus mutans* se evaluaron con tiras Dentocult SM (Mutans Strip) Se cultivaron a 37°C durante 48 y 96 hrs.

Resultados

Todos los participantes tenían una tasa de secreción de saliva estimulada de (1.0 a 2.5 ml / min). Entre el popote probiótico y placebo, no hubo diferencias entre el grupo A y grupo B al inicio del estudio relativo a los niveles de reducción de bacterias. La reducción estadísticamente significativa de *Streptococcus mutans* en la saliva se registró después de la tercera semana de toma de agua a través del popote con probiótico. En el grupo A: dieciocho personas mostraron una disminución de *Streptococcus mutans*, diez personas tenían niveles sin cambios y dos personas mostraron un aumento. Los valores correspondientes en el grupo B fueron: seis personas mostraron una disminución, veinte personas tenían niveles sin cambio y cuatro personas mostraron un aumento. En el grupo A después de las tres semanas hubo una disminución de lactobacilos, pero la diferencia no fue estadísticamente significativa y en el grupo B no mostraron ninguna diferencia. No hubo diferencias en *Streptococcus mutans* en los niveles de la saliva al inicio en los grupos C y D, pero se observó una ligera diferencia respecto a los lactobacilos. Se observó una reducción estadísticamente significativa después de tres semanas en el grupo C en comparación con los datos iniciales pero esto no fue el caso en el grupo D. En el grupo C: catorce sujetos mostraron una disminución, quince personas no mostraron cambios y una persona mostro un aumento .Los valores correspondientes para el



grupo D: seis personas mostraron una disminución, veintidós personas no mostraron cambios y cinco personas mostraron un aumento. Los niveles de lactobacilos post- experimentales no hubo cambios en ambos grupos. (Tabla 5.2)

Tabla 5.2 Niveles de *Streptococcus mutans* antes y después de las tres semanas del consumo del probiótico⁸¹

Administration/time	n	Mutans streptococci score (cfu)				p
		0 No growth	1 ≤10 ⁴	2 10 ⁵	3 ≥10 ⁶	
Group A <i>Probiotic straw</i>						
Baseline	30	6	4	5	15	<0.05
End	30	9	6	14	1	
Group B <i>Placebo straw</i>						
Baseline	30	6	9	9	6	NS
End	30	8	7	8	7	
Group C <i>Probiotic tablet</i>						
Baseline	30	9	5	5	11	<0.01
End	30	17	2	8	3	
Group D <i>Placebo tablet</i>						
Baseline	30	13	5	5	7	NS
End	30	12	6	6	6	

cfu = colony forming units; NS =not significant.

Basado en los datos anteriores, se pensó que las tabletas permitirían contacto más directo con la mucosa oral y la biopelícula en comparación con la ingesta a través del popote. Los participantes tenían que mover la tableta por toda la boca hasta disolverla en contraste con el popote, las personas tenían de tragar inmediatamente. Este estudio fue el primero en examinar los efectos orales de *L. reuteri* a través de dos vehículos no lácteos; se observó una disminución de *Streptococcus mutans* en la saliva por ambos. A partir de la bibliografía existente, es cuestionable si las bacterias probióticas pueden colonizar de forma permanente la cavidad bucal y si tienen o no algún efecto residual después de la interrupción de la ingesta por lo que las



presentes observaciones merecen más estudios para evaluar los posibles efectos de los probióticos en la ecología oral.⁸¹

5.3.3 *Bifidobacterium animalis* y *Bifidobacterium lactis*.

Caglar y colaboradores en el 2008 observaron “el efecto de los probióticos derivados de *bifidobacterias* sobre la microbiología bucal. Para ello evaluaron el consumo a corto plazo de un yogur con *Bifidobacterium animalis* (Activia®) y un helado probiótico con *Bifidobacterium lactis*; los resultados mostraron que estas bifidobacterias producían una disminución significativa en las cantidades de *S. mutans* salival, pero no se advertían cambios en la cantidad de lactobacilos orales”.³⁰

5.3.3.1 La reducción de *Streptococos mutans* salival en los pacientes de ortodoncia durante el consumo diario de yogur que contiene bacterias probióticas.

Objetivo

Examinar el consumo a corto plazo de yogur de fruta que contiene bifidobacterias para la disminución de *Streptococos mutans* y lactobacilos en la saliva en pacientes con ortodoncia

Material y método

El grupo de estudio se conformó de 26 personas (18 mujeres y 8 varones) de 12 a 16 años de edad con tratamiento bimaxilar de ortodoncia durante aproximadamente tres meses.



Criterios de exclusión

Consumidores habituales de xilitol, tratamientos con antibióticos y la utilización de fluoruro dentro de las cuatro semanas no se incluyeron con presencia de caries activas o no tratadas.

Protocolo de estudio

El protocolo fue aprobado por el Comité Ético de la Facultad de Odontología de la Universidad de Yeditepe, Estambul, Turquía. El estudio fue doble ciego, aleatorizado cruzado y consistió en cuatro períodos de tiempo consecutivos. El grupo de muestra: Recibió el yogurt con *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* DN-173 010, en una concentración de 2×10^8 UFC / g. La ingesta diaria fue de 200 gramos en la cena, cepillándose los dientes una hora después del consumo de yogurt. La toma de muestras de saliva estimulada se llevó a cabo inmediatamente antes y después de la segunda y cuarta semana; después de enjuagarse la boca con agua, se les pidió a los participantes que masticaran un trozo de parafina durante 5 minutos, se recogió la saliva directamente en un tubo de ensayo graduado y se inoculó en agar selectivo para *Streptococcus mutans* y lactobacilos, se cultivaron inmediatamente a 37 ° C durante 48 horas.

Todas las personas mostraron niveles detectables de *Streptococcus mutans* y lactobacilos en la saliva al inicio del estudio y más del 60 por ciento tenía niveles $\geq 10^5$ UFC. No hubo diferencia significativa entre los valores obtenidos en el inicio de la segunda y cuarta semana, se mostró una reducción estadísticamente significativa ($p < 0,05$) de *Streptococcus mutans* salivales después del consumo del yogurt con probiótico, después de dos semanas mientras que no se encontraron alteraciones en el grupo de control. (Tabla 5.6), el yogurt con probiótico, disminuyó el recuento de *S. mutans* de 63 a 21%; Diecisiete sujetos mostraron reducción de *S. mutans*, seis personas no



mostraron cambios y solo una persona obtuvo más streptococos y en el grupo control, cinco sujetos mostraron una disminución de *S. mutans*, mientras que diecinueve no modificaron sus niveles. En cuanto a los lactobacilos, no se observaron cambios estadísticamente significativos en ambos grupos.

Tabla 5.6 Niveles de *Streptococcus mutans* después de las dos semanas del consumo del yogurt con probiótico en ambos grupos⁶³

Time	<i>Mutans streptococci</i> score, CFU/ml			
	<10 ³	10 ³ < 10 ⁵	10 ⁵ -10 ⁶	>10 ⁶
Probiotic fruit yogurt				
Baseline (pre-consumption)	0	9	10	5
2 weeks (post-consumption)*	12	7	4	1
Control fruit yogurt				
Baseline (pre-consumption)	0	10	12	2
2 weeks (post-consumption)	1	11	12	0

Los resultados mostraron que el consumo diario de yogurt probiótico durante dos semanas redujo los recuentos de *Streptococcus mutans* en la saliva y se refuerzan los hallazgos previos postulados por Caglar y colaboradores 2008. De acuerdo con estudios anteriores, no se observaron efectos sobre los niveles de lactobacilos en la saliva.⁶³

5.3.4 *Weissella cibaria*

Es una bacteria ácido láctica, Gram-positiva, anaerobia facultativa que se ha aislado de los seres humanos, presente en los alimentos fermentados la cual se considera un agente probiótico muy potente por interferir con el crecimiento de las bacterias patógenas en estudios *in vivo* e *in vitro*, la *W. cibaria* segrega una significativa cantidad de peróxido de hidrógeno y



bacteriocinas que actúan contra las bacterias patógenas. Esta especie bacteriana tiene la capacidad de coagregarse con *Fusobacterium nucleatum* y adherirse a las células epiteliales de la cavidad bucal, favoreciendo un menor desarrollo de caries ^{48,69,70}

5.3.5 *Streptococos salivarius*

Su hábitat primario de esta bacteria es el dorso de la lengua. La cepa de *Streptococos salivarius* K12, aislada en un individuo sano produce altos niveles de salivaricin A y salivaricin B, péptidos antimicrobianos y bactericidas que actúan contra los gérmenes gram-positivos, como el *Streptococcus pyogenes* y *S. mutans*; principal agente bacteriano implicado en el desarrollo de la caries dental, además de actuar directamente en la placa dental y prevenir la halitosis. ^{42,76}

5.3.6 *Lactobacillus paracasei*

El *L. paracasei* ha sido una de las especies de lactobacilos con la máxima interferencia de actividad contra *S. mutans in vitro*.³² Montalto investigó si la administración oral de lactobacilos podría cambiar los recuentos salivales de estas bacterias; se encontró que la administración oral de los probióticos aumentaron significativamente los recuentos de lactobacilos salivares. En estudios *in vitro* se demostró que otros lactobacilos, tales como *Lactobacillus fermentum* y *L. salivarius*, tienen un efecto inhibidor sobre el crecimiento de *S. mutans* y *P. gingivalis*. La capacidad de los *Lactobacillus* para inhibir el crecimiento de patógenos potenciales es evidente, por lo que los resultados del estudio *in vivo* realizado. Li Chuan Chuang en el 2009, indican que a la segunda semana de la ingesta de *L. paracasei*, se puede observar una acción



probiótica detectando su efecto inhibidor contra *S. mutans* después de la toma del probiótico.⁵⁴

5.3.6.1 El efecto del probiótico *Lactobacillus paracasei* en una flora bacteriana cariogénica.

Objetivo

Evaluar la eficacia del probiótico *L. paracasei* GMNL - 33 para la prevención de la caries.

Materiales y métodos

Participantes: Ochenta personas de 20 a 40 años de edad, aparentemente sanos, 42 personas para el grupo muestra y 38 para el grupo control.

Criterios de exclusión

Personas fumadoras, con alguna enfermedad sistémica, que tomara antibióticos o estuviera en tratamiento de ortodoncia, periodontal, endodóntico o protésico. Estaba prohibido el uso de otros productos con fluoruro, productos probióticos similares y enjuague.

Protocolo de estudio

El estudio fue un ensayo aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo. Las tabletas orales para el grupo prueba y el grupo de control fueron asignados al azar, las tabletas con probióticos contenían 11 % de xilitol y el 4% de *L. paracasei* GMNL - 33 con 3×10^8 UFC / tableta (1 g). Las tabletas de control contenían 11 % de xilitol y sin cepa probiótica; las tabletas se disolvían en el boca lentamente después de las comidas tres veces al día durante dos semanas, el estudio duró un mes; período de intervención (primera y segunda semana) y dos semanas después del tratamiento (segunda y



tercera semana). Se cuantificaron los niveles de *S. mutans*, y lactobacilos en la saliva, y el pH salival. Las personas podían cepillarse los dientes dos veces, usar pasta dental con fluoruro e hilo dental durante el período de estudio. Se les realizó el CPOD antes de realizar el estudio, las muestras de saliva se recogieron tres veces en la semana cada dos días de 11:00 am- 1:00 pm, se les pidió a los participantes, que no comieran ni bebieran algo dos horas antes de la toma de la muestra de saliva. Los conteos de *S. mutans* se determinaron mediante tiras Dentocult SM Strip mutans®. Los participantes masticaron un pedazo de parafina durante un minuto para estimular la salivación, la tira con saliva se colocó en el caldo de cultivo a 37 ° C durante 48 hrs. después de la incubación la presencia de *S. mutans* se evidenció en las tiras, por el azul oscuro a azul claro, la densidad de *S. mutans* y se obtuvo mediante la comparación de la densidad de las colonias en la tira reactiva modelo: Puntuación = 0 (menos de o igual a 10^4 CFU/ml) puntuación = 1(entre 10^4 y 10^5 UFC/ml) puntuación = 2 (entre 10^5 y 10^6 CFU/ml) puntuación = 3 (densidad mayor que 10^6 CFU/ml) Los conteos salivales de lactobacilos fueron determinados por el método Dentocult LB Dip Slide. Se recogió la saliva estimulada por dos minutos se incubó a 37 ° C durante 4 días, los resultados fueron: Puntuación = 0 (10^3 CFU /ml) puntuación = 1 (10^4 CFU/ml) puntuación = 2 (igual 10^5 UFC/ml) y puntuación = 3 (10^6 CFU/ml).El pH salival se determinó mediante el uso de la Dentobuff® método de Gaza. La saliva estimulada se colocó en una pipeta con una tira reactiva, el color de esta tira reactiva de prueba se comparó con una carta de colores estándar después de 5 min para estimar el pH final: bajo (pH $\leq$ 4), intermedio (pH 4.5 a 5.5) o alto (pH $\geq$ 6).

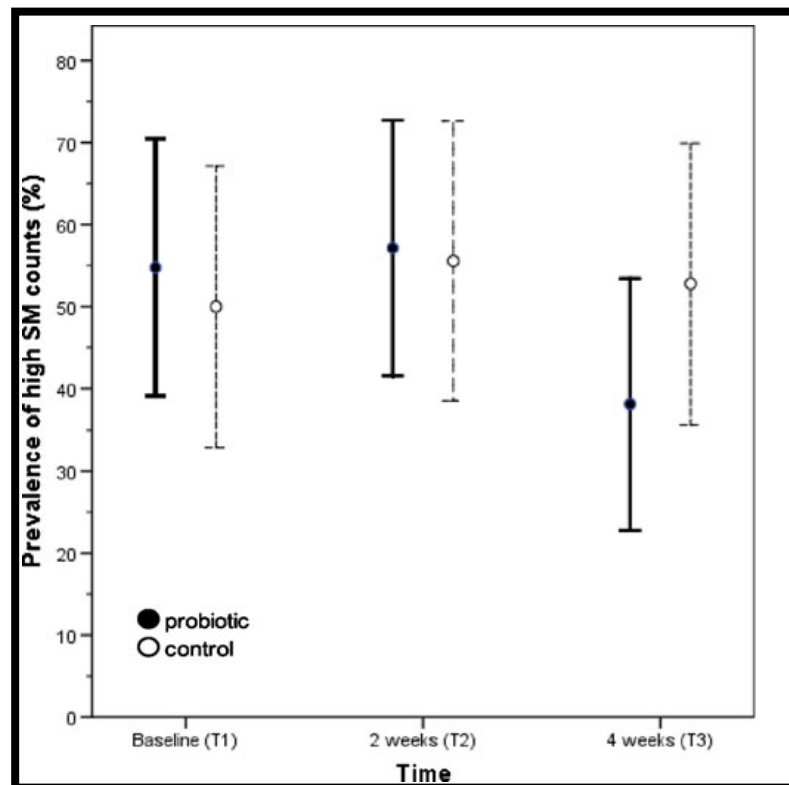
Resultados

Había 80 adultos participantes 42 personas en el grupo muestra (21 mujeres y 21 hombres) 38 personas (21 mujeres y 17 hombres) en el grupo control



dos personas abandonaron el estudio. Dentro del grupo muestra, los *S. mutans* no cambiaron durante la primera y segunda semana. Sin embargo, la reducción de *S. mutans* fue significativamente diferente durante la segunda y tercera semana ($p = 0,016$) (Gráfica 5.2) No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el pH salival ni en los recuentos de los lactobacilos entre el grupo control y grupo muestra. A pesar de que no podía encontrar una diferencia significativa los niveles de *S. mutans* en el grupo muestra el resultado fue ($> 10^5$ UFC/ml, la puntuación de 2 y 3) mostró una tendencia a la reducción durante la segunda y tercera semana y un ligero incremento en la primera y segunda semana; por lo que el efecto reductor de los probióticos fue más pronunciado en el postratamiento en lugar del período de intervención.

Gráfica 5.2 Niveles de *Streptococos mutans* en el grupo control y en el grupo prueba durante el estudio⁶⁰





Los resultados de este estudio indican que a la segunda semana de la administración de este probiotico puede ser necesaria para que el *L. paracasei* GMNL-33, tenga una acción probiótica a través de la vía de administración oral y su intervención a corto plazo parecía mejorar su efecto inhibidor contra *S. mutans* después de su consumo; se necesitan otros estudios para investigar el efecto de los probióticos posteriores al tratamiento.⁶⁰

5.3.7 *Lactobacillus lactis*

Muchas bacterias gram-positivas generan sustancias antimicrobianas como bacteriocinas peróxido de hidrógeno y ácido láctico; las bacteriocinas ayudan a los microorganismos a competir por los nutrientes limitados en la flora. El *L. lactis* sigue siendo dominante en la competencia bacteriana debido a la bacteriocina nisina. Keller y colaboradores, evaluaron *in vitro* la posibilidad de utilizar *L. lactis* en la prevención de la caries dental, donde demostraron que *L. lactis* podría ser un probiótico potencial para la reducción de la proliferación excesiva de *S. mutans*, debido a que *L. lactis* puede colonizar la superficie del esmalte de los dientes, y esta propiedad crea una condición previa para la competencia con los patógenos en la placa dental. Por lo tanto, la colonización por *L. lactis* en la superficie de los dientes es útil para retrasar la caries dental causada por *S. mutans*.⁶¹

Comelli y colaboradores en el 2002, estudiaron 23 cepas bacterianas contenidas en los productos lácteos, observando que el *Streptococcus thermophilus* y *Lactobacillus lactis*, fueron capaces de adherirse al esmalte además^{32,28} fueron capaces de adherirse también, junto con cinco cepas de diferentes especies encontradas comúnmente en la placa supragingival; el *Lactobacillus lactis* fue capaz de modular el crecimiento de las bacterias



orales y disminuir la colonización de *Streptococcus oralis*, *Veillonella*, *Actinomyces naeslundii* y *Streptococcus sobrinus*.⁶⁵

5.3.7.1 Evaluación del efecto del consumo de probiótico *Lactobacillus acidophilus* sobre el pH salival y *Streptococcus mutans*.

Objetivo

Investigar el efecto inhibitor del consumo a corto plazo del probiótico *Lactobacillus acidophilus* contenido en un yogur, para observar sus efectos sobre el pH salival y sobre el *Streptococcus mutans* comparado con el yogurt sin probiótico en los niños libres de caries.

Material y método

El estudio se conformó de 40 niños sanos libres de caries de 10-12 años se les dió el yogurt que contenía 10^{10} (UFC/ml) de la cepa *Lactobacillus acidophilus*, la cual fue seleccionada por su consistencia cremosa que permite retenerlo en la cavidad bucal por más tiempo con un efecto beneficioso.

Los criterios de exclusión

Niños con dientes cariados, bajo tratamiento con antibióticos u otros suplementos probióticos, cualquier producto de xilitol durante tres semanas antes y durante el estudio.

Protocolo de estudio

Utilizando un muestreo aleatorio simple las muestras se asignaron a grupos de prueba o de control. Se estimuló la saliva mediante un pedazo de parafina por cinco minutos y se recolectó la saliva de los cuarenta niños por la mañana al inicio del estudio y 30 días después del período de intervención



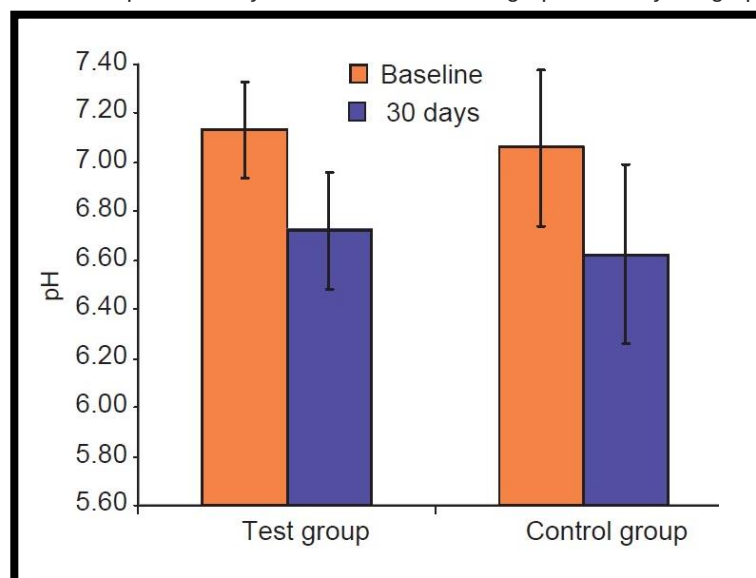
De la muestra de saliva recogida se realizó una dilución en solución salina, y se sembró en agar mitis salivarius bacitracina (MSB) .Las muestras de saliva, se incubaron a 37 ° C durante 36-48 hrs; se contó el número de colonias de *S. mutans* y se confirmaron mediante tinción de Gram. Los niños se dividieron al azar en dos grupos de 20 cada uno (en el grupo prueba y el grupo control) A ambos grupos se les dió el yogurt durante un mes, después de 30 días de consumo se recogieron muestras de saliva y se cuantifico el pH salival y los *S. mutans* en la saliva. En ambos grupos (control y prueba) los valores de pH fueron más altos en el día uno en comparación con los valores obtenidos a los 30 días; se observó una reducción estadísticamente significativa en el pH del valor inicial a los 30 días (Tabla 5.3 y Grafica 5.3).

Tabla 5.3 Valores de pH al inicio y al final del estudio del grupo control y del grupo prueba.⁷⁷

	pH at baseline	pH at 30 Days	Mean difference	t	P value
Test group	7.13	6.72	0.434	6.607	<0.001*
Control group	7.06	6.63	0.410	5.208	<0.001*

*Denotes a significant difference; Mean±SD

Gráfica 5.3 Valores de pH al inicio y al final del estudio del grupo control y del grupo prueba.⁷⁷





En ambos grupos (prueba y control) la cuantificación de colonias al inicio del estudio fue mayor en comparación con el recuento de colonias posterior a los 30 días. Sin embargo, esta reducción del recuento de colonia después de los 30 días para el grupo control no fue estadísticamente significativa ($P > 0,05$) y para el grupo prueba se encontró que esta reducción en el recuento de colonias fue estadísticamente significativa ($P < 0,01$) (Tabla 5.4) Durante los 30 días del estudio, se encontró que el número de colonias era más alta en el grupo control en comparación con el grupo prueba y se encontró que esta diferencia era estadísticamente significativa ($P < 0,05$) (Tabla 5.5 y Gráfica 5.4).

Tabla 5.4 Niveles de *Sreptococcus mutans* al inicio y al final del estudio del grupo control y del grupo prueba⁷⁷

	Colony count at baseline	Colony count at 30 days	Mean difference	t	P value
Test group	345.55±131.84	222.65±124.04	122.900	3.036	0.004*
Control group	323.85±83.15	309.15±82.61	14.700	0.561	0.578

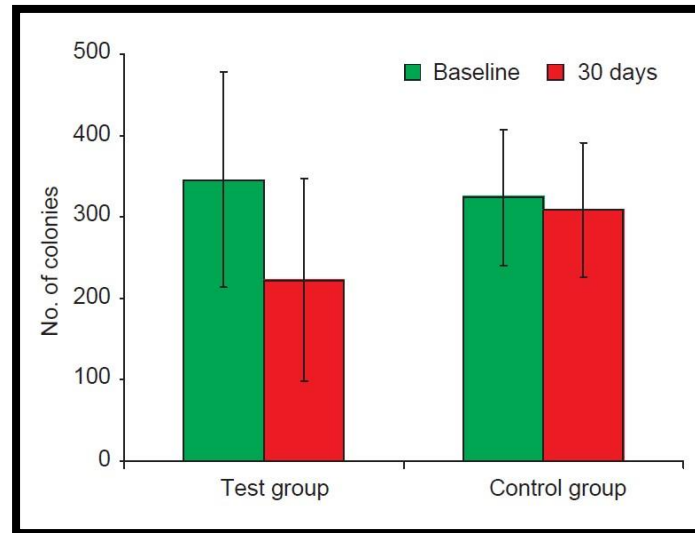
* Denotes a significant difference; Mean±SD

Tabla 5.5 Niveles de *Sreptococcus mutans* al final del estudio del grupo control y del grupo prueba.⁷⁷

	Mean	Std dev.	Mean difference	t	P value
Test group	222.65	124.04			
Control group	309.15	82.61	-86.500	-2.596	0.013



Gráfica 5.4 Niveles de *Streptococcus mutans* al final del estudio del grupo control y del grupo muestra.⁷⁷



Por lo que el autor concluyó que se necesitan realizar otros estudios, en niños con diferentes grados de riesgo de caries durante un período de tiempo más largo, para poder observar mejor su efecto.⁷⁷



CONCLUSIONES

A pesar del empleo del cepillado dental y otros métodos preventivos como profilaxis, la aplicación de selladores de fosetas y fisuras y la utilización de flúor; la caries dental continúa siendo una de las enfermedades bucales de mayor prevalencia a nivel mundial; por lo que se han buscado nuevas alternativas para la prevención de la caries dental a través del uso de probióticos.

De acuerdo a las diferentes investigaciones *in vitro*, como *in vivo* se ha demostrado una mayor reducción en los niveles de *S. mutans* en comparación con los lactobacilos en un periodo pos-tratamiento a la ingesta de probióticos; dependiendo de la cepa utilizada, la dosis administrada, el vehículo empleado y la frecuencia de administración, especialmente cuando se combina con una modificación en los hábitos alimenticios, utilizando los productos lácteos principalmente la leche, el queso y el yogur como vehículo idóneo para el probiótico; los cuales tienen iones de calcio y fosfato que neutralizan el pH de la placa dental y mejora la remineralización del esmalte, observando mejores resultados en la población infantil libre de caries debido a que no tienen una microflora potencialmente patógena establecida donde el efecto del probiótico es mayor, a diferencia las personas con presencia de caries, que ya tienen una microflora patógena más establecida, pero aun así se observa reducción en los niveles de *Streptococcus mutans*; por lo que se sugiere una modificación de la dieta de las personas con diferentes riesgos de padecer de caries dental con la combinación de varias cepas probióticas para aumentar su eficacia, para ello el probiótico debe administrarse de manera continua y lograr permanecer por un periodo prolongado en la cavidad bucal.



Fundamentado en la revisión bibliográfica concluyo que el uso de probióticos está ganando impulso en la Odontología, a pesar de ser un tema reciente se han obtenido resultados muy alentadores en la prevención de la caries dental; Sin embargo se requiere profundizar el estudio científico de las cepas que han demostrado acciones anticariogénicas, haciendo estudios a largo plazo para dilucidar algunos aspectos como el tiempo de permanencia en la boca y las dosis necesaria de la cepa a utilizar para lograr un efecto preventivo.



REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Seif T. ***Prevención, diagnóstico y tratamiento contemporáneo de la caries dental***. 1° ed. Venezuela: Editorial Actualidades Médico Odontológicas Latinoamérica, 1997. Pp. 18.
2. Seif T. ***Prevención, diagnóstico y tratamiento contemporáneo de la caries dental***. Ibid. Pp. 19-22.
3. Seif T. ***Prevención, diagnóstico y tratamiento contemporáneo de la caries dental***. Ibid. Pp. 37-44.
4. Seif T. ***Prevención, diagnóstico y tratamiento contemporáneo de la caries dental***. Ibid. Pp. 219.
5. Cazáres L, Ramos E, Tijerina I. ***Incremento del riesgo de padecer caries dental por consumo de hidratos de carbono con alto potencial cariogénico***. Rev. De la Fac. de Salud Públ. y Nutr.2009; 10 (3):1
6. Cazáres L, Ramos E, Tijerina I. ***Incremento del riesgo de padecer caries dental por consumo de hidratos de carbono con alto potencial cariogénico***. Ibíd. Pp. 2-4.
7. Cazáres L, Ramos E, Tijerina I. ***Incremento del riesgo de padecer caries dental por consumo de hidratos de carbono con alto potencial cariogénico***.Ibíd Pp 5-8.
8. Pérez J, González A, Niebla M, Ascencio I. ***Encuesta de prevalencia de caries dental en niños y adolescentes***. Rev. Med. Inst. Mex. Seguro. Soc. 2010; 48 (1): 25.
9. Pérez J, González A, Niebla M, Ascencio I. ***Encuesta de prevalencia de caries dental en niños y adolescentes***. Ibid. Pp. 26-27.
10. Pérez J, González A, Niebla M, Ascencio I. ***Encuesta de prevalencia de caries dental en niños y adolescentes***. Ibid. Pp.27-29.
11. De la Fuente J, González M, Ortega M, Sifuentes MC. ***Caries y pérdida dental en estudiantes preuniversitarios mexicanos***. Salud Públ. Mex. 2008,50 (3) 235-237.



40. Cáceres P, Gotteland M. ***Alimentos probióticos en Chile: ¿qué cepas y qué propiedades saludables?*** Rev. Chil Nutr, 2010; 37(1):97-104.
41. Cáceres P, Gotteland M. ***Alimentos probióticos en Chile: ¿qué cepas y qué propiedades saludables?*** Ibid. Pp. 104-107.
42. Duque de Estrada J, Hidalgo I, Díaz Y. ***Microorganismos probióticos en la prevención de caries dentales.*** Rev. Electr. de las Ciencias Méd. en Cienfuegos, 2010; 8(5):65-70.
43. Pérez A. ***Probióticos: ¿Una nueva alternativa en la prevención de la caries dental?*** Rev. Estomatol Herediana, 2008; 18(1):65-68.
44. Agrawal V, Kapoor S, Shah N. ***Role of 'Live Microorganisms' (Probiotics) in Prevention of Caries: Going on the Natural Way Towards Oral Health.*** Rev. IJMD, 2012; 2(3):491-494.
45. Agrawal V, Kapoor S, Shah N. ***Role of 'Live Microorganisms' (Probiotics) in Prevention of Caries: Going on the Natural Way Towards Oral Health.*** Ibid. Pp. 194-196.
46. Arribas B, Rodríguez ME, Camuesco D, Zarzuelo A, Gálvez J. ***Aplicaciones terapéuticas de los probióticos.*** Rev. Ars Pharm, 2008; 49 (1):1-15.
47. Arribas B, Rodríguez ME, Camuesco D, Zarzuelo A, Gálvez J. ***Aplicaciones terapéuticas de los probióticos.*** Ibid. Pp.16-26.
48. Ramírez JC, Rosas P, Velázquez MY, Ulloa JA, Arce F. ***Bacterias lácticas: Importancia en alimentos y sus efectos en la salud.*** Rev. Fuente, 2007; 2(7):1-15.
49. Hasslöf P. ***Probiotic Lactobacilli in the context of dental caries as a biofilm-mediated disease.*** Rev. Depart. of Odontology Umeå Univ. Sweden 2013; Act 1960:729:1-15.
50. Hasslöf P. ***Probiotic Lactobacilli in the context of dental caries as a biofilm-mediated disease.*** Ibid. Pp.16-30.
51. Hasslöf P. ***Probiotic Lactobacilli in the context of dental caries as a biofilm-mediated disease.*** Ibid. Pp. 31-60.



12. De la Fuente J, González M, Ortega M, Sifuentes MC. **Caries y pérdida dental en estudiantes preuniversitarios mexicanos.** Ibid. Pp.237-240.
13. Restrepo A. **Enfermedades infecciosas.** 6° ed. Colombia. Editorial: Corporación para Investigaciones Biológicas, 2003. Pp.111-112.
14. Negroni M. **Microbiología Estomatológica Fundamentos y guía práctica.** 2°ed. Argentina .Editorial: Panamericana, 2009. Pp.226.
15. Negroni M. **Microbiología Estomatológica Fundamentos y guía práctica.** Ibid. Pp. 231.
16. Negroni M. **Microbiología Estomatológica Fundamentos y guía práctica.** Ibid. Pp. 245-256.
17. Negroni M. **Microbiología Estomatológica Fundamentos y guía práctica.** Ibid. Pp. 409-412.
18. Liébana J. **Microbiología oral.**1° ed. México. Editorial: Mc Graw Hill, 1997.Pp.409-420.
19. Liébana J. **Microbiología oral.** Ibid. Pp. 420-449.
20. Thylstrup A, Ferjescov O. **Caries.**1° Ed. España. Editorial: Doyma.1986. Pp.17.
21. Thylstrup A, Ferjescov O. **Caries.** Ibid. Pp. 55-77.
22. Barrancos M. **Opertoria dental, Integración clínica.**4° ed. Argentina. Editorial: Panamericana, 2006. Pp.353-354.
23. Nazar C Julio. **Biofilms bacterianos.** Rev. Otorrinolaringol. Cir. Cabeza Cuello 2007; 67(1): 161-165.
24. . Nazar C Julio. **Biofilms bacterianos.** Ibid. Pp. 165-172.
25. Williams R. **Bioquímica Dental Básica y Aplicada.**2da ed. México. Editorial: El manual moderno, 1990. Pp.361-165.
26. Williams R. **Bioquímica Dental Básica y Aplicada** Ibid Pp165-170.



27. Pumarola A, Rodríguez A, García JA, Piedrola G. **Microbiología y parasitología médica**. 2ª ed. Editorial: Científicas y Médicas, 1994.Pp.156, 161-165.
28. Pumarola A, Rodríguez A, García JA, Piedrola G. **Microbiología y parasitología médica**. Ibid. Pp.165-172.
29. Iniesta M, Zubriggen M, Montero E, Herrera D. **Los probióticos y sus beneficios terapéuticos**. Rev. Periodoncia y Ost, 2011; 21 (3):171-175.
30. Iniesta M, Zubriggen M, Montero E, Herrera D. **Los probióticos y sus beneficios terapéuticos**. Ibid. Pp. 175-179.
31. Tormo R. Probióticos. **Concepto y mecanismos de acción**. Rev. An Pediatr, Monogr, 2006; 4(1):30-35.
32. Tormo R. Probióticos. **Concepto y mecanismos de acción**. Ibid. Pp. 35-41.
33. Fresquet, Jose L"Ellie Metchnikoff (1845-1916)". Instituto de historia de la Medicina y la ciencia (Universidad de Valencia CSIC).Julio de 2009 <http://www.historiadelamedicina.org/metchnikoff.htm>
Consultado el 07. 10.13 a las 22:00 hrs.
34. Losada M, Vicario M, Pujol A, Sanz J, Nart J. **Probióticos una acción de futuro**. Rev. Periodoncia, 2012; 22 (1):59-60.
35. Losada M, Vicario M, Pujol A, Sanz J, Nart J. **Probióticos una acción de futuro**. Ibid. Pp. 60-63.
36. Amores A, Calvo J, Maestre R, Martínez D. **Probióticos**. Rev.Esp Quimioterap, 2004; 17 (2):131-135.
37. Amores A, Calvo J, Maestre R, Martínez D. **Probióticos**. Ibid Pp 135-139.
38. Ferrer L, Dalmau J. **Alimentos funcionales: Probióticos**. Rev. Acta Pediatr. Esp, 2001; 59: 150-155.
39. Vidal D. **Probióticos: aspectos microbiológicos y tecnológicos** .Rev. Alim. Nutri. Salud, 2006; 13(2): 48-52.



-
52. Hasslöf P. **Probiotic Lactobacilli in the context of dental caries as a biofilm-mediated disease.** Ibid. Pp. 61-67.
53. Coronado M, Vega S, Gutiérrez R, Díaz G, Pérez J. **Alimentos funcionales y salud humana: probióticos en leches fermentadas.** Rev. UNIVA, 2008; 58.
54. Consulta de Expertos FAO/OMS sobre **Probióticos en los alimentos Propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación.**<ftp://ftp.fao.org/docrep/fao/009/a0512s/a0512s00.pdf>
Consultado el 09.10.13 a las 22:10 hrs.
55. Guía Práctica de la Organización Mundial de Gastroenterología: **Probióticos.**
http://www.worldgastroenterology.org/assets/downloads/es/pdf/guidelines/19_probioticos_prebioticos_es.pdf
Consultado el 24.09.13 a las 17hrs.
56. Olagnero G, Abad A, Bendersky S, Genevois C, Granzella L, Montonati M. **Alimentos funcionales: fibra, prebióticos, probióticos y simbióticos.** Rev. DIAETA, 2007; 25 (121): 20-33.
57. Revista el consumidor
<http://www.consumidor.gob.mx/wordpress/wp-content/uploads/2012/04/RC-353-Yogur-y-otros-lacteos.pdf>.
Consultado el 18.09.13 a las 18:30 hrs.
58. Bonifait L, Chandad F, Grenier D. **Probiotics for Oral Health: Myth or Reality?** Rev. JCDA 2009; 75(8):585-590.
59. Twetman Svante. **Are we ready for caries prevention through bacteriotherapy?** Rev. Braz. Oral, 2012; 26(1): 64-70.
60. Li-Chuan C, Chiung-Shing H, Li-Wei Y, Shiao Yu Lin. **Probiotic Lactobacillus paracasei effect on cariogenic bacterial flora.** Rev. Clin. Oral. Invest, 2011; 15:471-476.
61. Zhongchun Tong, Lin Zhou, Jie Li, Rong Kuang, Yuan Lin, Longxing Ni. **An in vitro investigation of Lactococcus lactis antagonizing cariogenic bacterium Streptococcus mutans.** Archives of Oral Biology 2012;5(7): 376 -382.
62. Sule C, Germec D, Sandalli N, Isik F, Arun T, Twetman S , Caglar E. **Reduction of salivary mutans streptococci in orthodontic patients**



during daily consumption of yoghurt containing probiotic bacteria. Rev.EJO,2009; 31 (4): 407-411.

63. Kedar S, Shashikanth MC, Priya T, Sultana N, Chaitanya N. **Probiotics Do they have a Role in Medicine and Dentistry?** Rev. JAPI, 2010; 58: 488-492.
64. Stamatova J, Meurman H. **Probiotics: health benefits in the mouth.** Rev AJD, 2009; 22:329-338.
65. Priya H. **Probiotics and Oral Health, Oral Health Care Pediatric Research.** <http://www.intechopen.com/books/oral-health-care-pediatric-research-epidemiology-and-clinicalpractices/197-205>
Consultado el 18.09.13 a las 21:30 hrs.
66. Tahmourespour A (2012). **Probiotics and the Reduction of Dental Caries Risk, Contemporary Approach to Dental Caries,** <http://www.intechopen.com/books/contemporary-approach-to-dental>
Consultado el 18.09.13 a las 23:00hrs.
67. Goldin B, **Probiotics and Health: From History to Future.** Rev. IJSER, 2011; 2(1) :1-6.
68. Goldin B, **Probiotics and Health: From History to Future.** Ibid Pp 7-13.
69. Narang S, Gupta R, Narang A. **Probiotics In Oral Health Care.** Rev. IJSER 2010;2(1):1-5.
70. Kaur R, Bandal V. **Probiotics and oral health and review.** Rev Streamdent; 2011; 2(1):45-49.
71. Devine D, Marsh P. **Prospects for the development of probiotics and prebiotics for oral applications.** Rev JOM, 2009;(1)10: 1-5
72. Devine D, Marsh P. **Prospects for the development of probiotics and prebiotics for oral applications.** Ibid. Pp. 6-17.
73. Gomes A, Alonso FC, Batista C, Assis J, Fonseca F, Isay SM **Probiotic cheese: health benefits, technological and stability aspects.** Rev. TFST, 2009; 20: 344.



74. Gomes A, Alonso FC, Batista C, Assis J, Fonseca F, Isay SM ***Probiotic cheese: health benefits, technological and stability aspects.*** Ibid Pp145-150.
75. Gomes A, Alonso FC, Batista C, Assis J, Fonseca F, Isay SM ***Probiotic cheese: health benefits, technological and stability aspects.*** Ibid Pp150-54.
76. Wade W.G ***.New aspects and new concepts of maintaining“microbiological” health.*** Rev. JOD, 2010; 38:21–25.
77. Sudhir R, Praveen P, Anantharaj A, Venkataraghavan K. ***Assessment of the effect of probiotic curd consumption on salivary pH and streptococcus mutans counts.*** Rev. NMJ, 2012; 53(3):135-139.
78. Nase L, Hatakka K, Savilahti E, Saxelin M, Ponka A, Poussa T, Korpela R, Meurman J. ***Effect of long-term consumption of a probiotic bacterium.*** Rev. Pro. Quest. Health & Medical, 2001; 35, (6): 412-415.
79. Nase L, Hatakka K, Savilahti E, Saxelin M, Ponka A, Poussa T, Korpela R, Meurman J. ***Effect of long-term consumption of a probiotic bacterium.*** Ibid. Pp.416-420.
80. Ahola AJ, Yli-Knuuttila H, Suomalainen T, Poussa T, Ahlström A, Meurman H, Korpela R. ***Short-term consumption of probiotic-containing cheese and its effect on dental caries risk factors.*** Rev. Arch. of Oral Biol, 2002; 47: 799–804.
81. Caglar E, Kavaloglu S, Ergeneli S, Sandalli N ,Twetman S. ***Salivary mutans streptococci and lactobacilli levels after ingestion of the probiotic bacterium Lactobacillus reuteri ATCC 55730 by straws or tablets.*** Rev. Act. Odont. Scand, 2006; 64: 314-318.