



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

ESPECIALIZACIÓN EN ESTOMATOLOGÍA DEL NIÑO Y DEL ADOLESCENTE

**EFFECTO DE UN PROBIÓTICO CON L. REUTERI DSM 17938 EN LA
PREVENCIÓN DE CARIES EN UNA POBLACIÓN DE PREESCOLARES DURANTE
EL PERIODO DE ENERO A MARZO DEL 2019. ESTUDIO PILOTO**

T E S I S

Que para obtener el grado de:
Especialista en Estomatología del Niño y del Adolescente

P R E S E N T A:

Janet Stephanie Angulo Muñoz

DIRECTOR DE TESIS

Mtro. Jesús Regalado Ayala

ASESOR METODOLÓGICO

Dra. Raquel Retana Ugalde

Ciudad de México, 2019



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.

ÍNDICE GENERAL

Contenido	Página
Dedicatoria	
Agradecimientos	
Resumen	
Abstract	
I. Introducción	1
II. Marco Teórico	2
II.1 Caries dental	2
II.1.1 Microbiota oral	
II.1.2 Colonización en cavidad oral	
II.1.3 Papel fisiológico de la microbiota oral simbiótica	
II.1.4 Disbiosis	
II.1.5 Biopelículas microbianas: Interacciones ecológicas en Salud y enfermedad	
II.1.6 Streptococcus mutans	
II.1.7 Lactobacillus	
II.2 Prevención de la caries dental. Visión actual	19
II.2.1 Terapia con probióticos	
II.3 Probióticos	27
II.3.1 Antecedentes	
II.3.2 Especies probióticas	
II.3.3 Propiedades	
II.3.4 Mecanismo de acción	
II.3.5 Fuentes	
II.3.6 Administración	
II.3.7 Aplicaciones clínicas	
II.3.8 Relación con la Salud Oral	
II.3.9 Efectos adversos	
II.3.10 Limitaciones, implicaciones y seguridad de uso	

III. Planteamiento del problema	55
IV. Hipótesis	57
V. Objetivos	58
VI. Material y métodos	59
VI.1 Tipo de estudio	
VI.2 Universo de estudio	
VI.3 Criterios	
VI.4 Variables	
VI.5 Técnicas	
VI.6 Recursos	
VI.7 Análisis estadístico	
VI.8 Aspectos éticos y legales	
VII. Resultados	81
VIII. Discusión	94
IX. Conclusiones	101
X. Limitaciones	103
XI. Perspectivas	104
XII. Propuestas	106
XIII. Referencias	108
XIV. Anexos	120
XIV.1 Consentimiento informado No.1	
XIV.2 Tríptico informativo	
XIV.3 Consentimiento informado No.2	
XIV.4 Ficha de datos generales y cuestionario base	
XIV.5 Administración de BioGaia® y registro de observaciones	

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.	Diferencias entre terapia con probióticos y terapia de reemplazo	25
Tabla 2.	Principales especies bacterianas utilizadas como probióticos	30
Tabla 3.	Principales aplicaciones clínicas de probióticos en infantes	35
Tabla 4.	Estudios sobre el efecto de la suplementación con probióticos en la prevalencia y factores de riesgo de caries dental en humanos	49
Tabla 5.	Operacionalización de variables	63
Tabla 6.	Parámetros para la interpretación de valores del flujo salival no estimulado	69
Tabla 7.	Parámetros para la interpretación de valores del pH salival no estimulado	70
Tabla 8.	Parámetros para la interpretación de valores del índice de biopelícula dental de O'Leary	71
Tabla 9.	Parámetros para la interpretación del recuento de <i>Streptococcus mutans</i> en saliva	73
Tabla 10.	Parámetros para la interpretación del recuento de <i>Lactobacillus</i> en biopelícula dental	75

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1.	Características de la población de estudio	84
Cuadro 2.	Índice de ceod por grupo de estudio	85
Cuadro 3.	Índice de ceod por grupo de edad	85
Cuadro 4.	Tasa de flujo salival no estimulado por grupo de estudio	86
Cuadro 5.	Parámetros de Tasa de flujo salival por grupo de estudio	86
Cuadro 6.	pH de saliva no estimulada por grupo de estudio	87
Cuadro 7.	Parámetros de pH de saliva no estimulada por grupo de estudio	87
Cuadro 8.	Índice O'Leary por grupo de estudio	88
Cuadro 9.	Parámetros de Índice O'Leary por grupo de estudio	88
Cuadro 10.	Promedio de UFC/ μ l de <i>Streptococcus mutans</i> en saliva por grupo de estudio	89
Cuadro 11.	Parámetros de UFC/ μ l de <i>Streptococcus mutans</i> en saliva por grupo de estudio	89
Cuadro 12.	Recuento de UFC/hisopo de <i>Lactobacillus</i> en biopelícula dental por grupo de estudio	90
Cuadro 13.	Parámetros de UFC/hisopo de <i>Lactobacillus</i> en biopelícula dental por grupo de estudio	90

ÍNDICE FIGURAS

Figura 1. Diagrama de selección de participantes y conformación de grupos de estudio	62
Figura 2. Cultivos de <i>Streptococcus mutans</i> y <i>Lactobacillus spp.</i> dentro de jarra de anaerobiosis	74
Figura 3. Comparativo de UFC/ μ L de <i>Streptococcus mutans</i> en saliva no estimulada entre grupos de estudio durante la terapia con probióticos	91
Figura 4. Comparativo de UFC/hisopo de <i>Lactobacillus</i> en biopelícula dental entre grupos de estudio durante la terapia con probióticos	92
Figura 5. Cultivo inicial de <i>Streptococcus mutans</i>	93
Figura 6. Cultivo final de <i>Streptococcus mutans</i>	93
Figura 7. Cultivo inicial de <i>Lactobacillus spp</i>	93
Figura 8. Cultivo final de <i>Lactobacillus spp</i>	93

ABREVIATURAS

- **spp:** Varias especies de
- **S. :** *Streptococcus*
- **L. :** *Lactobacillus*
- **B. :** *Bifidobacterium*
- **E. :** *Enterococcus*
- **C. :** *Candida*
- **UFC:** Unidades formadoras de colonias
- **MALT:** Tejido linfoide asociado a mucosas
- **CEI :** Célula epitelial intestinal
- **ECN :** Enterocolitis Necrosante
- **CIT :** Caries de la Infancia Temprana
- **AMP:** Péptidos antimicrobianos
- **PAc :** Proteína de anticuerpo
- **Gtfs :** Glucosiltransferasas
- **GBPs :** Proteína Fijadora de Glucanos
- **IgA :** Inmunoglobulina A
- **IgG :** Inmunoglobulina G
- **ADN:** Ácido desoxirribonucleico
- **ARNr:** Ácido ribonucleico ribosómico o ribosomal
- **VSC :** Compuestos Volátiles de Azufre
- **pH:** Potencial de Hidrógeno
- **NO₃⁻:** Nitrato

ABREVIATURAS

- **NO₂:** Nitrito
- **NO:** Óxido nítrico
- **ADS:** Sistema arginina deiminasa
- **IL:** Interleucina
- **LBS:** Lactobacillus selection agar
- **CO₂:** Dióxido de carbono
- **QFL :** Fluorescencia cuantitativa inducida por Luz
- **MSB:** Medio mitis salivarius con bacitracina
- **PCR:** Polymerase Chain Reaction / Reacción en cadena de la Polimerasa
- **FDA:** *Food and Drug Administration*
Administración de Alimentos y Medicamentos
- **FAO:** *Food and Agriculture Organization*
Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentación
- **OMS:** *World Health Organization* / Organización de las Naciones Unidas
- **GRAS:** *Generally Regarded as Safe* / Generalmente Reconocido como Seguro
- **SIVEPAB:** Sistema de Vigilancia Epidemiológica en Patologías Bucales
- **mL :** Mililitros
- **g :** Gramos
- **mg :** Miligramos
- **µl :** Microlitro
- **°C:** Grado centígrado
- **DE:** Desviación estándar
- **X²:** Prueba de ji cuadrada

Dedicatoria

Este trabajo se lo dedico con todo cariño y amor a mi familia, por su apoyo incondicional durante este proceso, por ser mi motor y guía constante tanto en mi desarrollo personal como profesional y ser una fuente inagotable de amor, comprensión, perseverancia y fortaleza.

AGRADECIMIENTOS

A través de estas líneas hago extensivo mi más sincero agradecimiento a todas aquellas personas que de una u otra forma colaboraron, participaron e hicieron posible la realización de la presente tesis. No obstante quiero hacer un reconocimiento especial y expresar mi profunda gratitud:

Al Mtro. Jesús Regalado Ayala, por su incesante confianza, apoyo, interés y tiempo dedicado a la dirección de este trabajo, por compartir su conocimiento y ser un gran ejemplo de responsabilidad, perseverancia y trabajo.

A la Dra. Raquel Retana Ugalde, por su valiosa tutoría, apoyo y dedicación, además de ser un gran ejemplo de profesionalismo, de pasión por su trabajo, de constancia, amabilidad y paciencia.

Al Lic. QFB Óscar González Moreno por su excelente apoyo, disposición, constancia, amabilidad y tiempo brindados en la realización de este proyecto.

A los miembros del jurado, por su amable aceptación y su tiempo dedicado a la presente investigación, permitiéndome compartirles los hallazgos del presente estudio: Esp.: Laura Elena Allende Trejo, Esp.: Citlali Gárate Espinosa

A mis Profesores, personas de gran sabiduría quienes además de transmitirme sus conocimientos se han esforzado por apoyarme y llegar al punto en el que hoy me encuentro.

Al Consejo Mexicano de Ciencia y Tecnología por la beca de apoyo complementario brindado para la realización del presente trabajo de investigación.

A los Directivos, profesores, alumnos y padres de familia de los Colegios Hellen Keller, Jardín de Niños de Alfonso Pruneda y Jardín de Niños Freire por la confianza brindada y apoyo constante durante la investigación.

A mis amigos, personas maravillosas que no solo me han apoyado, acompañado y alentado sino con los que he compartido innumerables momentos y quienes siempre tendrán un lugar especial en mi vida y corazón.

Y finalmente agradezco a la Universidad Nacional Autónoma de México y en especial a la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, por permitirme proseguir en mi desarrollo profesional, por los conocimientos, experiencias vividas y oportunidades brindadas, es un orgullo formar parte de su comunidad universitaria y a partir de ello dar cuenta los principios y valores que rigen esta excepcional institución, ratificándolos a través de mi trabajo y esfuerzo.

Con todo mi aprecio y cariño, gracias.

RESUMEN

Antecedentes: La caries dental es la enfermedad crónica más común de la niñez y a pesar de los grandes avances para contrarrestarla su incidencia permanece en aumento, es por ello que el empleo de medidas coadyuvantes como la terapia a través del uso de probióticos podría resultar útil para su prevención. Sin embargo a pesar de las investigaciones reportadas, la bacterioterapia debe ser previamente acreditada dentro del entorno mexicano, por lo que resulta inherente un mayor respaldo científico, de ahí la importancia de la presente investigación.

Objetivo: Evaluar el efecto del probiótico *L. reuteri* DSM 17938 BioGaia® en la prevención de caries en una población de preescolares que asisten a tres escuelas pertenecientes al área metropolitana durante el periodo de Enero a Marzo del 2019.

Metodología: Se llevó a cabo un estudio cuasiexperimental en una muestra a conveniencia de 250 preescolares de 3 a 5 años de edad. Previa selección y autorización de consentimiento informado, fueron seleccionados 30 sujetos libres de caries que se dividieron de manera aleatoria en 3 grupos de estudio: grupo control (A), grupo experimental (B): probiótico con *L. reuteri* DSM 17938 BioGaia® y grupo placebo (C): tabletas placebo sin cepa probiótica. Seguidamente, antes de iniciar con el tratamiento se aplicó y realizó un registro basal de los siguientes predictores de riesgo a caries dental: índice ceod, flujo y pH salival no estimulado, índice O'Leary, así como recuento de *Streptococcus mutans* en saliva y *Lactobacillus* en biopelícula dental a cada sujeto del estudio piloto. Posteriormente se realizó un registro post intervención a los 2 y 3 meses de tratamiento, evaluando los resultados y determinando la efectividad del probiótico ingerido, valorando su empleo como método de prevención de caries dental.

Resultados: Los datos analizados fueron incluidos en el paquete estadístico SPSS, aplicando ANOVA de medidas repetidas con DHS de Tukey como prueba posthoc, prueba de χ^2 y prueba de Friedman, considerando un valor de $p \leq 0.05$ como significancia estadística.

El estudio reveló una reducción significativa en el recuento de *Streptococcus mutans* ($*p < 0,05$) además de un incremento en los niveles de *Lactobacillus* ($*p < 0,05$) en los preescolares del grupo de B tras tres meses de intervención. Asimismo el grupo C mostró una disminución en UFC/hisopo de *Lactobacillus spp* ($*p < 0,05$) en comparación al grupo A y B.

Del mismo modo, durante la administración del tratamiento en los tres grupos de estudio se observó un aumento del índice ceod, una disminución del índice O'Leary y un pH y flujo salival constantes, sin embargo, ninguna de las variaciones en estos predictores de riesgo presentó significancia estadística relevante.

Conclusiones: Nuestros resultados indican que el consumo regular a corto plazo del probiótico *L. reuteri* DSM 17938 BioGaia® podría ser útil en el mantenimiento de la salud oral, teniendo un efecto beneficioso sobre algunos predictores de riesgo de caries dental relacionados como el recuento de *Streptococcus mutans*, sin embargo, se requieren estudios a mayor escala y plazo que confirmen el uso de la terapia con probióticos como estrategia de prevención y control de caries dental.

Palabras clave: Caries dental, probióticos, microbiota, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus*, *L. reuteri*

ABSTRACT

Background: Dental caries is the most common chronic childhood disease and despite the great advances to counteract it, its incidence remains on the rise, which is why the use of adjuvant measures such as therapy through the use of probiotics could be useful for its prevention. . However, despite the reported research, bacteriotherapy must be previously accredited within the Mexican environment, so that greater scientific support is inherent, hence the importance of this research.

Objective: To evaluate the effect of the probiotic *L. reuteri* DSM 17938 (BioGaia®) in the prevention of caries in a population of preschoolers attending three schools belonging to the metropolitan area during the period from December 2018 to March 2019.

Methodology: A quasi-experimental study was carried out in a sample at the convenience of 250 preschoolers aged 3 to 5 years. After selection and authorization of informed consent, 30 caries-free subjects were selected that were randomly divided into 3 study groups: control group (A), experimental group (B): probiotic with *L. reuteri* DSM 17938 BioGaia® and group placebo (C): placebo tablets without probiotic strain. Then, before starting treatment, a baseline registry of the following predictors of dental caries risk was applied: ceod index, non-stimulated salivary flow and pH, O'Leary index, as well as *Streptococcus mutans* count in saliva and *Lactobacillus* in dental biofilm to each subject of the pilot study. Subsequently, a post-intervention registry was performed at 2 and 3 months of treatment, evaluating the results and determining the effectiveness of the probiotic ingested, assessing its use as a method of prevention of dental caries.

Results: The analyzed data were included in the SPSS statistical package, applying ANOVA of repeated measures with Tukey DHS as a posthoc test, χ^2 test and Friedman test, considering a value of $p \leq 0.05$ as statistical significance.

The study revealed a significant reduction in the *Streptococcus mutans* count (* $p < 0.05$) in addition to an increase in *Lactobacillus* levels (* $p < 0.05$) in preschoolers in group B after three months of intervention. Group C also showed a decrease in CFU / swab of *Lactobacillus* spp (* $p < 0.05$) compared to group A and B.

Similarly, during the administration of the treatment in the three study groups an increase in the ceod index, a decrease in the O'Leary index and a constant pH and salivary flow were observed, however, none of the variations in these risk predictors presented relevant statistical significance.

Conclusions: Our results indicate that the regular short-term consumption of the *L. reuteri* DSM 17938 BioGaia® probiotic could be useful in maintaining oral health, having a beneficial effect on some predictors of related dental caries such as the *Streptococcus mutans* count, However, larger-scale studies are required to confirm the use of probiotic therapy as a prevention and control strategy for dental caries.

Key words: Dental caries, probiotics, microbiota, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus*, *L. reuteri*

I. INTRODUCCIÓN

La caries dental es una de las enfermedades más prevalentes en la población mundial y más aún en los países en desarrollo, por lo que es importante promover medidas complementarias que coadyuven en la prevención de esta enfermedad. Tal es el caso de la terapia con probióticos, que tiene un efecto inhibitor sobre la colonización de los patógenos responsables de la caries dental como el *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus*, previniendo así la aparición de ésta patología.

En México, se comercializan productos probióticos para uso odontológico que emplean diferentes cepas, sin embargo, debido a su reciente aparición en el mercado, existen muchas interrogantes sobre su mecanismo de acción, efectividad y pautas de administración.

Por este motivo, en esta investigación se evalúa el efecto del probiótico BioGaia® con *L. reuteri* DSM 17938 en el recuento de *Streptococcus mutans* en saliva y *Lactobacillus* en biopelícula dental, esperando consiga una disminución en la colonización de dichas bacterias. Los resultados no sólo evalúan la efectividad de dicho producto, sino que también permitirán esclarecer su funcionamiento respecto a la cepa probiótica contenida y su uso en relación a la prevención de la caries dental.

II. MARCO TEÓRICO

II.1. Caries dental.

Se define como una enfermedad infecciosa, transmisible, polimicrobiana, localizada, que afecta a los tejidos duros del órgano dental, empezando primero con la disolución localizada de las estructuras inorgánicas en una superficie dental por medio de ácidos de origen bacterianos, hasta llegar, finalmente, a la desintegración de la matriz orgánica. ¹

La etiología de la caries es multifactorial, en primer lugar hay tres factores esenciales: huésped, microorganismos y dieta, mismos a los que se añade el tiempo según Newbrun en 1978; de igual modo, intervienen factores del entorno como: presencia o ausencia de servicios sanitarios y programas de salud oral, nivel socio económico, estrés, etnia, cultura, factores de ingeniería biodental (biomecánicos, bioquímicos y bioeléctricos), entre otros. Finalmente, el riesgo cariogénico comprenderá tanto factores de riesgo sociodemográficos, como de comportamiento, físico-ambientales y biológicos. ^{2,3}

En términos ecológicos, esta enfermedad es consecuencia de un desequilibrio en el ecosistema que conduce al predominio de la microbiota patógena en la cavidad oral. Los principales microorganismos asociados con la producción de caries son, en orden de frecuencia: **1) *Streptococcus mutans* (*S.mutans*)** (Principalmente el

serotipo c) y en menor proporción *Streptococcus sobrinus* (*S.sobrinus*) y *Streptococcus gordonii* (*S. gordonii*) y **2)** especies de *Lactobacillus* y *Actinomyces*.⁴

Hoy en día, la importancia de determinar la etiología y metabolismo de estas comunidades microbianas podría ser considerada un paso clave en el diseño de estrategias potenciales para prevenir la caries dental.

II.1.1 Microbiota oral

La microbiota oral se caracteriza por ser extraordinariamente compleja en géneros y especies. La mayoría de investigadores coinciden en señalar que existen más de 600 especies bacterianas en el ambiente oral. La interrelación de la microbiota oral entre sí, expuesta a la acción de factores físicos y químicos del ambiente oral, define las características y composición de los microorganismos orales.⁴

En la boca se reconocen varios hábitats de colonización microbiana, tales como órganos dentarios, surco gingival, encía, lengua, carrillos, labios y paladar. Los cuales constituyen un sistema ecológico muy heterogéneo y favorecen el crecimiento de comunidades microbianas diferentes sobre la película adquirida previa. Las bacterias residentes tienen actividades pro y antiinflamatorias, cruciales para mantener la homeostasis en la cavidad oral.⁵

Aunque el balance químico y ecológico depende en gran medida de los microorganismos, poco se sabe del modo y la dinámica de los ecosistemas microbianos responsables de mantenerlo. ⁴

La cavidad oral sana, está caracterizada por una microbiota dominada por los filos *Firmicutes* (género *Streptococcus*, familia *Veillonellaceae*, género *Granulicatella*), *Proteobacteria* (género *Neisseria*, *Haemophilus*), *Actinobacteria* (género *Corynebacterium*, *Rothia*, *Actinomyces*), *Bacteroidetes* (género *Prevotella*, *Capnocytophaga*, *Porphyromona*) y *Fusobacteria* (género *Fusobacterium*). Otras comunidades bacterianas asociadas a condiciones libres de caries son *Cordiobacterium*, *Kingella*, *Aggregatibacter* o *Mannheimia*.⁶ Mientras tanto, las especies tradicionalmente asociadas con lesiones de caries incluyen a *Streptococcus mutans*, *S. sobrinus*, *Actinomyces spp.* y *Lactobacillus spp.*⁷

Los hallazgos de una comunidad microbiana relacionada con un estatus no cariogénico apoyan la idea de usar bacterias asociadas al estado saludable como probióticos, para prevenir las enfermedades orales. ⁶

II.1.2 Colonización en cavidad oral

La cavidad oral del feto en el útero se encuentra libre de gérmenes, a partir del nacimiento dicha cavidad queda expuesta a la microbiota del tracto vaginal materno o del medio quirúrgico abdominal, dependiendo de la vía de parto. Los

microorganismos que colonizan la cavidad bucal del recién nacido a partir de ocho horas aproximadamente, después del alumbramiento, constituyen la denominada comunidad pionera.^{5, 8, 9}

Los primeros en instalarse y los más numerosos son los *Streptococcus*, fundamentalmente facultativos (se desarrollan tanto en presencia como en ausencia de oxígeno) que colonizan la lengua y las mucosas, encontrándolos de forma libre en la saliva. Inmediatamente después del nacimiento, entre las 24 y 36 horas, los neonatos presentan niveles de bacterias bucales en saliva al mismo nivel que los adultos y a partir del segundo día es posible detectar bacterias anaeróbicas en la boca sin órganos dentarios del infante. El número de bacterias bucales aumenta gradualmente como resultado de la exposición a fuentes externas de microorganismos ambientales. Es probable que esta microbiota adquirida a partir del nacimiento sea reemplazada o alterada a los pocos días por la microbiota de la leche materna. La forma de la alimentación (lactancia natural o artificial), así como la influencia de las vías de transmisión vertical y horizontal, afectarán posteriormente la diversidad de la microbiota oral y sistémica.^{5, 8, 9}

Meses después, al iniciar la erupción de los órganos dentarios, éstos son colonizados por *Streptococcus mutans* y por otros miembros de la microbiota oral. Debido a que *Streptococcus mutans* es mal colonizador de las superficies dentales comparado con otros microorganismos orales, su "ventana de infectividad" depende de los órganos dentarios recién erupcionados. A medida que los órganos dentarios de los niños adquieren una biopelícula estable y conformada, la

habilidad de colonización de *Streptococcus mutans* se reduce mucho y la ventana se cierra.¹⁰ La mecánica de la microbiota en esta fase de dentición primaria aún no está clara; además, se desconoce si el desarrollo de la microbiota oral sana se ve perturbada por el inicio o la progresión de la Caries de la Infancia Temprana (CIT).¹¹ Posteriormente, puede abrirse una segunda "ventana de infectividad" cuando los órganos dentarios permanentes comienzan a erupcionar a los 6 años de edad, pero esta vez la fuente de *Streptococcus mutans* puede ser de reservorios ya establecidos en la dentición primaria.¹⁰ Dicho de otra manera, durante la niñez las especies facultativas son dominantes en la cavidad oral, más tarde, con la erupción dental aparecen nuevas condiciones microbianas favorables y localizables, incorporándose varios anaerobios, por lo que las bacterias se incrementan y al final de esta etapa se parecen a la microbiota del adulto.^{9, 12}

Así pues, la microbiota oral establecida puede presentar profundas alteraciones en su diversidad y composición a lo largo de períodos de tiempo relativamente prolongados, planteando que la dinámica de desarrollo de la microbiota oral puede responder potencialmente al desarrollo o la maduración del huésped. Es decir, la estructura de la microbiota oral puede diferir sustancialmente entre distintos grupos de edad, por ejemplo: bebés edéntulos, niños con dentición primaria, niños con dentición mixta, adolescentes con dentición permanente y adultos con dentición permanente.¹¹

II.1.3 Papel fisiológico de la microbiota oral simbiótica

La microbiota oral contribuye al bienestar oral y general, su pérdida puede ser perjudicial para la salud del huésped; ¹³ como ejemplo, en un estudio realizado por Tribble et al. refiere que una microbiota oral simbiótica puede contribuir a la salud humana a través de la vía entero salivaria nitrato (NO_3^-) – nitrito (NO_2^-) - óxido nítrico (NO), ya que las bacterias reductoras de nitrato a nitrito pueden actuar de manera complementaria en la producción de NO y participar en la regulación endotelial, manteniendo una presión arterial sistólica en reposo más baja en individuos sanos. ¹⁴

Al mismo tiempo, estas comunidades microbianas simbióticas contribuyen a otras funciones metabólicas, fisiológicas e inmunológicas críticas, por ejemplo: ¹³

A. Diferenciación y maduración de la mucosa del hospedero y de su sistema inmune. Las bacterias pueden interferir en la proliferación y diferenciación de las células epiteliales que conforman la mucosa. Asimismo, una porción de la estructura básica de las mucosas forma parte del sistema inmune adaptativo, por ejemplo, el tejido linfoide asociado a las mucosas (MALT), los linfocitos T y B, interleucinas, etc. ^{5, 13,15}

B. Digestión de alimentos y nutrientes. La microbiota oral puede metabolizar proteínas, péptidos y aminoácidos, entre otros sustratos, así como interferir en la conversión de los nitratos de la dieta en nitritos. ^{5,13-14}

C. Generación de energía. La utilización de energía potencial contenida en los nutrientes se produce por reacciones de óxido-reducción llevadas a cabo por bacterias, tal es el caso de la fermentación donde son transferidos componentes o iones.^{13,17}

D. Mantenimiento de la función de barrera de piel y mucosas. La función defensiva de la microbiota incluye el efecto "barrera", donde las bacterias que ocupan un espacio o nicho ecológico impiden la implantación de bacterias extrañas al ecosistema.^{13,18}

E. Desarrollo y regulación del sistema inmune, ajuste en su patrón de reacción (balance entre procesos proinflamatorios y antiinflamatorios). En una microbiota oral mixta, el predominio de las bacterias Gram positivas puede inducir la secreción de interleucina 12 (IL-12) la cual es proinflamatoria, mientras que el aumento de bacterias Gram negativas estimula la secreción de la interleucina 10 (IL-10) capaz de disminuir y regular la respuesta inflamatoria.^{5,13, 15}

F. Prevención de la invasión y crecimiento de microorganismos promotores de enfermedades (resistencia a la colonización). Los microorganismos en una biopelícula dental relacionada con la salud pueden producir sustancias como peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y bacteriocinas que pueden suprimir el crecimiento de microorganismos asociados a enfermedades.^{9,}

13,19

II.1.4 Disbiosis

La disbiosis es un cambio en las comunidades microbianas sanas que tiene como resultado una ruptura o desequilibrio en la relación beneficiosa con el huésped, asociándose con enfermedad y caracterizándose por la alteración de la diversidad y las proporciones relativas de especies de la microbiota. ^{5,19}

La alteración de la microbiota, y por lo tanto del microbioma, se ha vinculado a: **1)** exposición a moléculas perturbadoras (ingredientes alimentarios como azúcares, gluten, agua clorada, antibióticos, multitud de productos químicos); **2)** escasez de nutrientes que fomenten colonias saludables de bacterias (dietas deficientes en vegetales con fibra o con excesivas grasas saturadas), y **3)** situaciones que provoquen y mantengan estrés. ⁵

Si el medio ambiente local está perturbado, entonces los patógenos potenciales pueden obtener una ventaja competitiva y bajo apropiadas condiciones, llegar a los números que predisponen un sitio a la enfermedad, por ejemplo, la caries dental. ²⁰

II.1.5. Biopelículas microbianas: Interacciones en salud y enfermedad.

Los microorganismos, es decir, la microbiota que forma el microbioma humano no son solo organismos unicelulares que viven juntos, sino que forman comunidades altamente reguladas, estructuradas y organizadas funcionalmente, unidas a

superficies; conformando de esta manera biopelículas con sinergias y antagonismos entre especies, contribuyendo así a la estabilidad ecológica.¹³

Las definiciones de biopelículas existentes en la literatura son múltiples pero todas ellas describen de manera similar la interrelación que se establece entre los diferentes microorganismos que componen la comunidad y la estructura sobre la cual están soportados. Las biopelículas no sólo están formadas por bacterias, sino también por otros tipos de microorganismos como hongos, levaduras, algas y protozoos, por lo que pueden estar formadas por una o varias especies distintas.²¹

Las bacterias dentro de una biopelícula pueden comunicarse entre sí produciendo, detectando y respondiendo a pequeñas moléculas de señal en un proceso llamado quórum sensing, que confiere beneficios para la colonización del huésped así como la formación de nuevas biopelículas, la defensa contra los competidores y la adaptación a los cambios en el entorno. Asimismo aunque existe una heterogeneidad en la estructura de cada biopelícula, se han observado numerosas características estructurales que son comunes, como canales de agua que forman un primitivo sistema circulatorio que transporta nutrientes y desechos a las diferentes poblaciones microbianas.^{9, 13}

Un ejemplo claro de biopelícula es la biopelícula dental o también llamada placa dental o placa bacteriana. En una biopelícula dental asociada a salud se produce un balance activo entre las bajas tasas de producción de ácido y la generación compensatoria de álcali, dando como resultado un entorno con un pH

considerablemente neutro, por lo tanto estas condiciones ayudan a estabilizar el conjunto de especies benéficas y a su vez restringen el crecimiento de microorganismos asociados con caries dental y enfermedades periodontales. Sin embargo, esta biopelícula dental puede presentar una transformación; resultado de los cambios ocurridos en el balance de la microbiota que reside en ella y como consecuencia de la modificación de las condiciones medioambientales locales, resultando así en biopelículas dentales asociadas a caries dental y enfermedades periodontales que involucran la agregación de microorganismos altamente especializados metabólicamente, formando nuevas biopelículas multiespecíficas que requieren la degradación cooperativa de moléculas hospedadoras complejas (proteínas y glicoproteínas) como fuentes nutricionales y energéticas. Estas nuevas biopelículas dentales muestran propiedades emergentes, esto es, las propiedades de la comunidad son más consistentes que la suma individual de cada especie.^{9,19, 21}

Las fases de formación de las biopelículas son: **1)** Adsorción de moléculas del huésped y bacterias a la superficie, **2)** Adhesión bacteriana primaria, **3)** Adhesión bacteriana secundaria, **4)** Maduración de la biopelícula y **5)** Desprendimiento activo.²¹ Por consiguiente, la formación de una biopelícula dental asociada a caries se produce de igual modo, a través de fases, comenzando por una temprana colonización de la película adquirida por otras especies de *Streptococcus*, que en conjunto a circuitos de retroalimentación positiva impulsados por diversos factores estresantes crean un área favorable para el crecimiento de *Streptococcus mutans*.^{19,22}

Básicamente, las biopelículas dentales asociadas a caries dental inducen el desarrollo de esta enfermedad como un proceso de dos etapas: **1)** Aumento y progresión de microorganismos donde la lesión en esmalte está dominada por organismos acidogénicos que fermentan los carbohidratos generando desmineralización y **2)** Sucesión de la comunidad microbiana, que al alcanzar la dentina, cambia significativamente y es predominantemente proteolítica.²³

Estudios clásicos basados en la cultura microbiana han establecido al *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus*, como principales agentes iniciales de las biopelículas dentales asociadas a caries, seguidos de otras especies microbianas que se han aislado y relacionado a lesiones cariosas como las *Bifidobacterias* y *Scardovia*. Sin embargo, dentro de los colonizadores primarios o tempranos se encuentran principalmente *S. sanguis*, *S. oralis*, *S. mitis* y *Actinomyces*, con baja cantidad de *Streptococcus mutans*, por lo que en ausencia de éste y de *Lactobacillus*, son los colonizadores tempranos los que inician la desmineralización. De modo que cuando las condiciones empeoran y la lesión progresa, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y *Streptococcus mutans* aumentan su presencia, demostrando que la existencia de microbiota bacteriana en los órganos dentarios varía de acuerdo a la evolución de la lesión, de un dominio de *Actinomyces* y otras especies de *Streptococcus*, al dominio de *Streptococcus mutans* y otras bacterias potencialmente cariogénicas. Por lo tanto, los datos demuestran claramente que la microbiología de la caries es dependiente del tejido y no tiene una etiología única.^{23, 24}

Actualmente, estudios recientes basados en ADN sobre la diversidad microbiana en la cavidad oral han calculado que la biopelícula dental supragingival humana contiene entre 500 y 700 especies bacterianas, sin embargo, en lesiones cariosas este número disminuye de 100 a 200 filotipos de especies, tanto en lesiones incipientes de caries en esmalte, caries iniciales de dentina y lesiones cariosas en dentina profunda. La mayor diversidad microbiana en biopelículas supragingivales sugiere que las bacterias de ambientes cariogénicos son un pequeño grupo dentro de la comunidad bacteriana oral y que las cavidades de esmalte y dentina representan nichos que sólo bacterias especializadas son capaces de colonizar; el hecho de que la menor diversidad se encuentre en las lesiones del esmalte indica que es el nicho más riguroso, sugiriendo que el ambiente ácido posiblemente actúa reduciendo el número de especies capaces de prosperar en las caries del esmalte.²⁴

II.1.5 *Streptococcus mutans*

Es un coco Gram positivo, dispuesto en cadena, no móvil, catalasa negativo, productor rápido de ácido láctico con capacidad de cambiar un medio de pH 7 a pH 4.2 en, aproximadamente 24 horas. Fermentador de glucosa, lactosa, rafinosa, manitol, inulina y salicina con la producción de ácido.²⁵

El *Streptococcus mutans* se ha subclasificado en varios tipos con base en su composición y en los enlaces de polisacáridos de su pared celular, además de sus propiedades inmunológicas, biológicas y genéticas. Los serotipos de

Streptococcus mutans son: **c, e, f y k**, siendo el serotipo c el tipo predominante en la cavidad oral humana.²⁵

Entre los factores de patogenicidad presentes en *Streptococcus mutans*, se destacan: **a)** poder acidógeno (*capacidad de convertir polisacáridos exógenos en ácidos orgánicos*), acidófilo (*capacidad de crecimiento en pH ácidos*) y acidúrico (*capacidad de producción de ácidos a pH bajo*), **b)** síntesis de polisacáridos extracelulares de tipo glucanos insolubles y solubles, así como fructanos, **c)** síntesis de polisacáridos intracelulares, **d)** capacidad adhesiva, agregativa y coagregativa; la primera a través de proteínas salivales que posibilitan su adhesión a superficies duras en ausencia de glucanos y las dos restantes a través de mutanos, glucosiltransferasas y proteínas receptoras de glucanos y **e)** producción de bacteriocinas (*péptidos o proteínas antibióticas con fuerte propiedad bactericida*).^{4,26} Este último factor resulta de vital trascendencia, ya que diversas investigaciones señalan que la capacidad antagónica del *Streptococcus mutans* se debe a su capacidad de producir bacteriocinas, cruciales en el proceso de iniciación y desarrollo de la caries dental, ya que le confieren una gran habilidad para desplazar cepas nativas de la misma especie en la cavidad oral. En un estudio, Hamada y Ooshima demostraron que varias cepas de *Streptococcus mutans* son productoras de bacteriocinas que poseen un amplio rango de actividad contra microorganismos Gram positivos y especies estrechamente relacionadas; por lo que actualmente se busca hallar una cepa de *Streptococcus mutans* con capacidad antagónica que pueda aplicarse en terapia de remplazo o

control bacteriológico, capaz de desplazar cepas nativas virulentas de *Streptococcus mutans*, agente esencial en el desarrollo de la caries dental.⁴

Actualmente existen varios métodos semicuantitativos para el recuento de *Streptococcus mutans* en saliva o biopelícula dental que han sido incorporados al mercado debido a su bajo costo, reducción del equipamiento y simplificación del conteo. Estos test o pruebas bacteriológicas como: CRT® bacteria y Dentocult SM Strip mutans ® son utilizadas como coadyuvantes diagnósticos para seleccionar pacientes con riesgo a caries dental. Frecuentemente recuentos superiores a 100 000 UFC/mL de *Streptococcus mutans* en saliva se consideran indicadores de riesgo de caries y recuentos salivales más bajos concuerdan con una tendencia mínima a contraer una enfermedad.^{27, 28}

Hoy en día, diversos estudios realizados en Latinoamérica sobre niveles de colonización de *Streptococcus mutans* e incidencia de caries dental en niños han demostrado una correlación significativa. Se ha demostrado que grupos de niños con conteos $\geq 10^5$ UFC/mL de *Streptococcus mutans* en biopelícula dental poseen una asociación representativa a desarrollar caries dental mediante estudios realizados en escolares, entre los que se expone el estudio de Sánchez y Acosta, quienes además demostraron que la asociación del *Streptococcus mutans* con otros biotipos como el *S. sobrinus* podría resultar potencialmente cariogénica. Otros autores como Linossier et al. han reportado la relación entre el recuento de *Streptococcus mutans* y la edad, hallando que el recuento aumenta desde los cinco ($4,7 \times 10^5$ UFC/mL) hasta los doce años ($6,0 \times 10^5$ UFC/mL), cifra que

permanece sin variaciones hasta alrededor de los 30 años y finalmente disminuye a partir de esta edad.²⁷

No obstante, a pesar de los diversos estudios tanto clínicos como in vitro, aún no existe un consenso absoluto sobre la presencia de *Streptococcus mutans* en sujetos con lesiones de caries activas. Autores como Becker y col. señalan la presencia de *Streptococcus mutans* en todas las lesiones de caries examinadas, indicando una fuerte asociación de esta especie con lesiones avanzadas de caries dental. Hallazgo que contrasta con estudios previos como el de Loesche y Straffon, quienes señalaron que la caries dental puede ocurrir en ausencia de *Streptococcus mutans*. De igual modo, en el año 2002, Kleinberg observó que individuos con altos recuentos de *Streptococcus mutans* no necesariamente desarrollaban lesiones cariosas.²⁶

Hoy por hoy, con ayuda de la metagenómica se ha evidenciado que las cavidades son ecosistemas extraordinariamente diversos donde *Streptococcus mutans* representa no más del 1.6% de la comunidad bacteriana total de la lesión cariosa. En un estudio de Simón, Guillen y Mira, se evidenció que los *Streptococos* representaron el 40% del total de la comunidad activa en caries de esmalte y el 20% en caries de dentina. Asimismo, el *Streptococcus mutans* representó solo el 0.02–0.73% de la comunidad bacteriana total. La baja proporción detectada confirma que esta especie es una minoría y cuestiona su importancia como principal agente etiológico de la caries dental.²⁹ Por lo tanto, podría sugerirse que la presencia el *Streptococcus mutans* no es indispensable para el desarrollo de

esta enfermedad y no está obligatoriamente ligada a biopelículas dentales asociadas a caries, especialmente en etapas iniciales o lesiones no cavitadas, de tal modo que *Streptococcus mutans* puede no representar un factor etiológico bacteriano determinante.^{24, 26}

II. 1.6. *Lactobacillus*

Otra especie relacionada con la etiología y patogénesis de la caries dental son los *Lactobacillus*. Históricamente, los *Lactobacillus* fueron los primeros microorganismos implicados en el desarrollo de la caries dental. Dichos microorganismos se asocian mayormente con la colonización de zonas retentivas creadas por las lesiones en las que quedan atrapados físicamente, aumentando en número durante la progresión y avance de la caries.^{7, 30} Son bacilos Gram-positivos, anaerobios facultativos, acidógenos y acidúricos, un pH cercano a 5 favorece su crecimiento y facilita el inicio de su actividad proteolítica. Algunas cepas sintetizan polisacáridos intra y extracelulares a partir de la sacarosa, pero se adhieren muy poco a superficies lisas, por lo que deben utilizar otros mecanismos para colonizar las superficies dentarias. Entre estos mecanismos podemos mencionar la unión física por atrapamiento en superficies retentivas, tales como: fosas y fisuras oclusales o caries cavitadas y coagregación con otras especies bacterianas, constituyendo la biopelícula dental.²⁶

La clasificación del género *Lactobacillus* sigue siendo incierta y consiste en cepas genéticamente heterogéneas que son difíciles de clasificar mediante pruebas

fisiológicas y bioquímicas. Sin embargo, entre las especies de *Lactobacillus* aisladas en lesiones de caries dentinaria pueden distinguirse: *L.casei*, *L.paracasei*, *L.rhamnosus*, *L.gasseri*, *L.ultunensis*, *L.salivarius*, *L.crispatus*, *L.fermentum*, *L.panis*, *L.nagelli*, *L.delbrueckii* y *L.gallinarum*.^{26, 30}

El género *Lactobacillus* es considerado acidógeno y acidúrico, en presencia de hidratos de carbono dietarios produce sustancias como etanol, CO₂ y ácido láctico por la acción de la enzima lactato deshidrogenasa, dando como resultado la acidificación del pH salival.³¹

En la cavidad oral humana, los *Lactobacillus* aparecen durante los primeros años de vida de un niño y están presentes en grandes cantidades en saliva, en el dorso de la lengua, membranas mucosas, el paladar duro, biopelícula dental y en menor número en otras superficies. La concentración de *Lactobacillus* puede variar según el estado de salud oral de acuerdo a varios estudios. En niños sin caries, el porcentaje es variable, mientras que el alto grado de infección por *Lactobacillus* ($\geq 10^6$ UFC/mL en saliva), se relaciona con elevada actividad de caries y con la elevada ingestión de carbohidratos fermentables.^{28, 30}

II.2. Prevención de la caries dental. Visión actual

De las enfermedades que afectan la cavidad bucal, la caries dental es la que presenta la mayor prevalencia en la población mundial, generando un problema epidemiológico que compromete en mayor o menor medida a todos los países afectando cerca del 100% de la población en la mayoría de ellos. Constituye un gran problema en la salud oral, por ello los investigadores buscan nuevas e innovadoras estrategias para su control, evaluando el riesgo cariogénico en diferentes condiciones.³²

Las nuevas tecnologías para la prevención y tratamiento de la caries dental incluyen agentes quimioprolácticos, péptidos antimicrobianos (AMP), vacunas, la promoción del uso de sustitutos del azúcar y de probióticos como medida alternativa, entre otros.³³

A. Agentes quimioprolácticos. Se presentan en forma de enjuagues orales, pastas dentales, geles o barnices que liberan de manera lenta la sustancia activa en la boca, por ejemplo: la clorhexidina, obteniendo un efecto inhibitorio prolongado contra la actividad de *Streptococcus mutans* para reducir la virulencia del microorganismo.³³

B. Péptidos antimicrobianos salivares (AMP). Se definen como péptidos de bajo peso molecular efectores del sistema inmune innato. Generalmente, estos péptidos o polipéptidos contienen menos de 200 aminoácidos y son producidos

por diferentes tipos de células, son una familia de sustancias polifacéticas con complejos mecanismos de acción relacionados con la interacción con el patógeno a través de su membrana o afectando blancos internos como la replicación del ADN y la síntesis de proteínas, e interactuando con el huésped en funciones inmunomoduladoras (*de regulación*) del proceso inflamatorio y de la cicatrización. Los péptidos antimicrobianos pueden entrar a la terapéutica por medio de varias estrategias: como monoterapia para el tratamiento de infecciones, en combinación con los antibióticos convencionales, con el fin de promover un efecto sinérgico o aditivo a estos últimos; como agentes inmunomoduladores que incrementen la inmunidad innata natural, y como agentes neutralizantes de las endotoxinas. Sin embargo, a pesar de la gran cantidad de péptidos descritos en diversos organismos y los esfuerzos adelantados para aprovechar su potencial clínico, no existe actualmente ningún péptido aprobado para uso en humanos por la Food and Drug Administration (FDA).^{33,34}

C. Vacuna. Otro mecanismo muy estudiado es la vacuna y aunque se ha trabajado mucho en el tema, aún no hay un consenso en la literatura acerca del papel de la respuesta inmune frente a la caries dental en humanos naturalmente sensibilizados, donde el conocimiento sigue siendo escaso y controversial.^{33, 35-37}

Las vacunas anticaries operan bajo el principio de reducir la población de bacterias nativas que están asociadas con el proceso de la enfermedad de caries dental. Fundamentalmente el proceso para el desarrollo de esta vacuna implica dos etapas: **1)** la identificación de antígenos específicos de *Streptococcus mutans*

contra los que se pueden inducir respuestas inmunes protectoras y **2)** la aplicación de un método de tratamiento de inmunización que mantendrá niveles adecuados de anticuerpos salivales. ^{33,35-37}

Los antígenos claves específicos de *Streptococcus mutans*, son factores críticos involucrados en su adhesión y acumulación bacteriana, los más importantes incluyen: ^{33,36-37}

1. PAc (Proteína de anticuerpo). Proteína de la pared celular del *Streptococcus mutans* que tiene carácter antigénico, parece que es indispensable en los fenómenos iniciales de adherencia y agregación del microorganismo sobre la superficie dental, tomando como sustrato las proteínas de la película adquirida. ^{33,36-37}

2. Glucosiltransferasas (Gtfs): Son reconocidas como factores de virulencia en la caries dental, ya que estas enzimas producen glucanos adhesivos a partir de la sacarosa. ^{33, 36-37}

3. Proteínas fijadoras de glucanos (GBPs): El *Streptococcus mutans* sintetiza al menos dos GBPs, estas proteínas fijan los glucanos libres en el medio, actuando como nexo de unión entre bacterias y se forman así las acumulaciones que quedan adheridas a las superficies dentales. Anticuerpos contra GBPs pueden interferir en la patogénesis del *Streptococcus mutans*, induciendo la inmunidad protectora de la caries. ^{33, 36-37}

En resumen, la respuesta inmunitaria (mejorada) contra las bacterias cariogénicas se logra a través de dos maneras: **inmunización pasiva y activa**.³⁸

La administración de antígenos bacterianos simples o combinados procura fomentar la **inmunización activa** contra el *Streptococcus mutans*. En estudios realizados en animales este enfoque mostró resultados prometedores. Sin embargo, en humanos sólo han sido realizados ensayos clínicos a pequeña escala con resultados intermedios (sin incremento de caries) y hasta la fecha el efecto preventivo de la caries no ha sido corroborado. Además, en los humanos, la producción de anticuerpos es de corta duración. La **inmunización pasiva** tiene como objetivo reducir los niveles bacterianos mediante la administración oral regular de anticuerpos contra las bacterias cariogénicas, como el *Streptococcus mutans*, con la que se busca aumentar los niveles de anticuerpos, especialmente de tipo IgA e IgG, tanto en saliva como en suero, lo que facilita una disminución significativa de la colonización y actividad enzimática del *Streptococcus mutans*, reflejando índices más bajos de caries dental. Esta inmunización incluye la transferencia de anticuerpos transplacentarios o por inyección, obtenidos de un donador previamente inmunizado.^{33, 35-38}

En general, los efectos limitados de la vacuna hasta ahora han tenido que considerarse con otras incertidumbres que incluyen la cantidad de contactos que se requerirán con un proveedor primario, costo total, los beneficios versus los riesgos de los enfoques de inmunidad pasiva y activa, el papel de la industria y la aceptación por parte de los odontólogos y el público. Además, si la caries se

considera una enfermedad multifactorial en vez de una enfermedad infecciosa clásica, la eficacia de la vacunación podría resultar cuestionable.^{33, 35-38}

D. Vitaminas. Con los avances en la ciencia ortomolecular se le han dado a las vitaminas, sales minerales, aminoácidos y otros nutrientes, un papel importante en el control de la biopelícula. En algunas investigaciones se ha planteado que las altas concentraciones de tiamina, piridoxina, ácido pantoténico y ácido nicotínico disminuyen la incidencia de la caries dental, problemas periodontales y la incidencia de cáncer bucal.³⁷

E. Producción de álcali. Esta terapia se basa en explotar las bacterias productoras de amoníaco, mejorando la fase de alcalinización y la homeostasis del pH. Dos fuentes importantes de álcali en la biopelícula son la arginina y la urea. La urea, presente en la saliva, es hidrolizada por enzimas ureasa que están presentes en varias bacterias orales. El amoníaco, generado a partir de la ureólisis, puede conducir a un aumento considerable del pH de la biopelícula a pesar de una dieta rica en carbohidratos. El amoníaco también se puede producir a partir de arginina a través del sistema de arginina deiminasa (ADS). Por lo tanto, la producción de amoníaco a través de la ureólisis y el sistema ADS podrían inhibir el desarrollo de caries dental mediante la neutralización de ácidos y la estabilización de una microbiota oral que es congruente con la salud dental. Los niveles de actividad ADS y ureasa no se han definido clínicamente para adultos. También se desconoce si los niveles de ADS y ureasa son estables a lo largo del tiempo y/o si varían significativamente entre individuos libres de caries y

con caries. Estudios sugieren que los organismos generadores de álcalis pueden ofrecer nuevos tratamientos y estrategias de prevención para la enfermedad de caries. La literatura existente también proporciona apoyo indirecto para la hipótesis de que el riesgo de caries está directamente asociado con una pérdida de potencial generador de álcalis. Actualmente, la arginina ya ha sido incorporada en algunos productos de salud oral (bicarbonato de arginina, Cavistat®).³⁹

F. Terapia de reemplazo. En la terapia de reemplazo se introduce un organismo antagonista a otro patógeno pre-existente con el fin de controlar el desarrollo de este último utilizando una cepa efectora natural o modificada genéticamente que mejorará las condiciones de la biopelícula y colonizará permanentemente en la microbiota del huésped. Si la cepa efectora está mejor adaptada que el patógeno, no solo evitará la colonización o crecimiento excesivo de éste, sino que bloqueará los sitios de unión o nichos, competirá por nutrientes esenciales e intervendrá en otros mecanismos. Mientras la cepa efectora persista como residente de la biota autóctona, el hospedador estará potencialmente protegido por un período de tiempo ilimitado.^{35, 40}

El término terapia de reemplazo (*también llamado interferencia bacteriana o desplazamiento competitivo*, a veces se ha utilizado de forma permutable con probióticos. Aunque ambos enfoques usan bacterias vivas para la prevención o el tratamiento de enfermedades infecciosas, hay algunas diferencias⁴⁰. (Ver Tabla No.1.)

Tabla No.1. Diferencias entre terapia con Probióticos y terapia de Reemplazo

TERAPIA PROBIÓTICA	TERAPIA DE REEMPLAZO
Probióticos son generalmente usados como suplementos dietéticos	La cepa efectora no es ingerida y se aplica directamente en el sitio de la infección
Cambio microbiológico rara vez dramático y a largo plazo	Implica cambio dramático y a largo plazo en la microbiota autóctona
Los probióticos son capaces de ejercer un efecto beneficioso sin colonizar permanentemente el sitio	Es esencial la colonización del sitio por la cepa efectora
Ejerce efectos beneficiosos influenciando el sistema inmune	Tiene un impacto inmunológico mínimo

Fuente: Tomado de Goswami, Mishra, Agrawal, Agrawal. 2013⁴⁰

Desde la perspectiva de la terapia de reemplazo como medida para la prevención y tratamiento de la caries dental, la implantación y colonización preventiva de una cepa efectora modificada genéticamente sería más eficaz en niños antes o inmediatamente después de la erupción dental, previa a la adquisición de cepas nativas patógenas para evitar la sobre colonización de éstas cuando el huésped entra en contacto con ellas. Estas cepas modificadas permitirían que la terapia de reemplazo sea aplicable en sujetos que ya han sido infectados con cepas nativas de *Streptococcus mutans*.³⁵

Las principales ventajas de esta terapia incluyen la protección de por vida proporcionada por una sola aplicación, riesgo mínimo de resultados desfavorables y la falta de una necesidad de educación y cumplimiento del paciente, que se requiere para los regímenes de higiene oral convencionales, sin embargo, es demasiado pronto para determinar el potencial de este tratamiento para prevenir nuevas lesiones de caries y para detener las lesiones existentes sin efectos secundarios significativos.³⁵

II.2.1 Terapia con Probióticos

La terapia con probióticos o bacterioterapia es el término utilizado cuando una cepa efectora inofensiva se implanta en la microbiota del huésped para mantener o restaurar un microbioma natural e interferir e inhibir otros microorganismos, especialmente patógenos.⁴¹

El término probiótico significa “ayuda o favorece a la vida”.⁴² Los "probióticos" se definen como microorganismos vivos, principalmente bacterias, que son seguros para el consumo humano y cuando se ingieren en cantidades suficientes, tienen efectos beneficiosos para la salud humana. Esta definición ha sido aprobada por la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS).^{43, 44}

La bacterioterapia nos conduce a formas alternativas de lucha contra enfermedades infecciosas, con menos efectos colaterales que los fármacos

convencionales y también ayuda en el tratamiento de trastornos que parecen no tener nada que ver con las bacterias, tales como asma, obesidad y diabetes.⁴⁵

El uso de bacterias probióticas para apoyar la estabilidad y diversidad de las biopelículas orales está ganando impulso en la odontología. Sin embargo, se necesitan más ensayos a gran escala de estas cepas aspirantes a anti-caries antes de poder decir que estamos listos para adoptar la bacterioterapia para prevenir y controlar la caries en la práctica clínica.⁴⁶

II.3 Probióticos

II.3.1 Antecedentes

Existe una larga historia relacionada con la presencia de microorganismos vivos en los alimentos, en particular las bacterias ácido lácticas, fermentadoras de la lactosa. Ya en el año 76 a.C. el historiador Romano Plinio recomendaba la administración de leche fermentada para el tratamiento de la gastroenteritis.^{47, 48}

En 1906, el Dr. francés Michael Cohendy administró leche fermentada a pacientes con alteraciones en sus “fermentaciones intestinales” y observó una notable mejoría tras su tratamiento. Paralelamente, el pediatra francés Henry Tissier descubrió la existencia de *Bifidobacterias* en el tracto intestinal de lactantes alimentados exclusivamente con leche materna, y demostró los beneficios clínicos derivados de la modulación de la microbiota intestinal de niños con infecciones intestinales.⁴⁸

El galardonado con el premio Nobel en Fisiología y Medicina en 1908, Eli Metchnikoff, por sus trabajos en el instituto Pasteur, fue el primero en señalar los efectos positivos para la salud desempeñados por ciertas bacterias. El científico ruso percibió una gran longevidad en la población búlgara de la época y propuso que esto se debía al consumo de yogur que contenía bacterias capaces de convertir el azúcar de la leche, lactosa, en ácido láctico. Sospechó que este ácido láctico hacía imposible el desarrollo de bacterias dañinas en el intestino, y sugirió que el envejecimiento era consecuencia de la acción de las sustancias tóxicas producidas por la biota intestinal.^{43-44, 47-52}

El término probiótico fue introducido por primera vez por Daniel M. Lilly y Rosalie H. Stillwell, investigadores de la Universidad de St. John's en EUA en 1965, definiéndolo como aquel factor de origen microbiológico que estimula el crecimiento de otros organismos. En 1979, Richard Parker, profesor de Microbiología de la Facultad de Medicina de Potland EUA, los definió como organismos y sustancias que contribuyen al balance intestinal microbiano; y en 1989, el Dr. Inglés Roy Fuller, enfatizó el requisito de viabilidad e introdujo la idea de que tiene un efecto beneficioso para el huésped.^{43-44, 47-52}

II.3.2 Especies probióticas

Para ser llamado un probiótico, una especie o cepa bacteriana debe estar completamente caracterizada. El género y la especie del microorganismo deben ser identificados de acuerdo con los métodos aceptados internacionalmente y su nomenclatura corroborados por referencia a las listas aprobadas de nombres bacterianos. Las cepas probióticas pueden ser bacterias, hongos y levaduras pero la gran mayoría son bacterias.^{50, 51}

Las especies bacterianas probióticas más ampliamente estudiadas pertenecen a los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*. Los *Lactobacillus* se consideran parte normal de la biopelícula oral y comprenden aproximadamente el 1%. Los *Bifidobacterium* se producen sólo en cantidades diminutas en la biopelícula oral. La atención se centra en estas especies porque se producen en la industria láctea y rara vez están implicadas en infecciones humanas. De hecho, estas bacterias muestran una relación simbiótica con los seres humanos. Desde un punto de vista oral, los *Lactobacillus* y los *Bifidobacterium* son acidogénicos y acidúricos, se consideran generalmente cariogénicos y podrían ser considerados como un riesgo para la salud oral, sin embargo, la capacidad amortiguadora de los productos lácteos que contienen a estas bacterias contrarresta su acidez. No obstante, es importante destacar, que no todas las cepas de los *Lactobacillus* o *Bifidobacterium* son probióticos.⁴⁵ Otras especies bacterianas utilizadas como probióticos son resumidas en la Tabla No.2.

Tabla No. 2. Principales especies de bacterias, hongos y levaduras utilizadas como probióticos

Clasificación de bacterias probióticas por género y especie							
<i>Lactobacillus</i> ssp.	<i>Bifidobacterium</i> Ssp	<i>Lactococcus</i> ssp.	<i>Streptococcus</i> ssp.	<i>Enterococcus</i> ssp.	<i>Bacillus</i> ssp.	<i>Saccharomyces</i>	Otras Especies
<i>L. acidophilus</i>	<i>B. bifidum</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>S. thermophilus</i>	<i>E. faecium</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>	<i>Pediococcus acidilactici</i>
<i>L. lactis</i>	<i>B. longum</i>	<i>Lactococcus cremoris</i>	<i>S. lactis</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>Bacillus coagulans</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Pediococcus .acidolacti</i>
<i>L. bulgaricus</i>	<i>B. infantis</i>	<i>Lactococcus diacetyllactis</i>	<i>S. intermedium</i>		<i>Bacillus cereus</i>		<i>Propionibacterium freudenreichii</i>
<i>L. rhamnosus</i> GG	<i>B. breve</i>		<i>S. diacetyllactis</i>		<i>Bacillus clausii</i>		<i>Leuconostoc Spp.</i>
<i>L. casei</i> Shirota	<i>B. adolescentis</i>		<i>S. salivarius</i> subsp		<i>Bacillus lichenformis</i>		<i>Escherichia coli</i>
<i>L. paracasei</i>	<i>B. lactis</i>		<i>S. oralis</i>				<i>Oxalobacter formigenes</i>
<i>L. crispatus</i>	<i>B. animalis</i>		<i>S. uberis</i>				<i>Leuconostoc mesenteroides</i>
<i>L. brevis</i>	<i>B. thermophilum</i>		<i>S. rattus</i>				<i>Sporolactobacillus inulinus</i>
<i>L. reuteri</i>	<i>B. essences</i>		<i>S. mitis</i>				<i>Weissella cibaria</i>
<i>L. helveticus</i>	<i>B. laterosporus</i>		<i>S. sanguis</i>				<i>Aspergillus oryzae</i>
<i>L. plantarum</i>							<i>Aspergillus niger</i>
<i>L. johnsonii</i> La1							
<i>L. salivarius</i>							
<i>L. fermentum</i>							
<i>L. curvatu</i>							
<i>L. sporogenes</i>							
<i>L. gasseri</i>							
<i>L. crispatus</i>							
<i>L. farciminis</i>							
<i>L. delbrueckii</i>							

Fuente: Tomado de Borrell, Armendáriz, Cervantes, Sánchez, Muralidhar, Bizzini, Mendoza 47, 50-55

II. 3.3 Propiedades de los probióticos

Para que un microorganismo sea considerado como probiótico, debe cumplir ciertas características: ^{51, 55,56}

- Ser de origen humano.
- Poseer estatus GRAS, (*Generally Regarded as Safe*) Generalmente Reconocido como Seguro, concedido por la FDA (*Food and Drug Administration*) o Administración de Alimentos y Medicamentos.
- Capacidad de ser preparados en gran escala de manera viable en un vehículo específico determinado.
- Ser resistentes a la acidez gástrica y a la toxicidad de los ácidos biliares.
- Poseer adherencia a las células epiteliales intestinales humanas (*CEI*) y a la mucina intestinal.
- Capacidad de producción de sustancias antimicrobianas.
- Eficacia y seguridad demostrada en estudios en humanos (no patógeno y no tóxico).
- Alta viabilidad celular.
- Capacidad de persistencia en el intestino
- Poder de interacción o envío de señales a células inmunitarias.
- Capacidad de influencia en la actividad metabólica local.

II. 3.4 Mecanismo de acción de los probióticos

El mecanismo de acción de los probióticos con la biota autóctona aún se encuentra en proceso de investigación, sin embargo, se sugieren algunos mecanismos de acción hipotéticos en la cavidad bucal que incluyen: ^{53,57-59}

1. Interacción directa con la biopelícula: ^{53,57-59}

Las especies y cepas probióticas interfieren en la fijación de microorganismos patógenos a las proteínas de la película adquirida inhibiendo así su adhesión. Asimismo, interfieren en la colonización y formación de biopelículas, inducen la expresión de proteínas citoprotectoras en las superficies de la célula huésped e inhiben las colagenasas.

2. Exclusión competitiva: ^{53,57-59}

Los probióticos interfieren en la agilidad de la evolución de la biopelícula dental y en su complejo ecosistema al competir e intervenir por factores de crecimiento, nutrientes y uniones bacterianas, dificultan la traslocación bacteriana y participan en el metabolismo del sustrato, produciendo sustancias químicas o metabolitos como los ácidos orgánicos, el peróxido de hidrógeno, enzimas y bacteriocinas que inhiben las bacterias orales.

3. Acciones indirectas: ^{53,57-59}

Los microorganismos probióticos también participan en la modulación de la función del sistema inmune de manera general e incluso poseen un efecto sobre la

inmunidad local; asimismo pueden tener eventualidad en los mecanismos de defensa no inmunológicos, como la regulación de la permeabilidad de la mucosa. También pueden modular la proliferación y apoptosis celular inducida por citoquinas, producen y funcionan como antioxidantes, inducen cambios de pH además de obstaculizar la inducción de la biopelícula dental a través de la neutralización de electrones libres.

II. 3.5 Fuentes de probióticos

Si bien es cierto que el principal sector asociado al uso de probióticos sigue siendo el de los productos lácteos, especialmente yogur, los progresos en la microbiología y la tecnología de alimentos (y en particular de los procesos de microencapsulación), están permitiendo la incorporación de estos microorganismos a productos tan variados como jugos, helados, cereales, barras nutritivas, soya, queso, mantequilla, leche en polvo, mayonesa, chocolate, galletas, entre otros.⁵⁹

Los probióticos pueden estar disponibles en preparaciones medicinales o en producción alimentaria. Las preparaciones medicinales se presentan como enjuagues bucales, tabletas y pastillas. En cambio, como productos alimenticios funcionales pueden presentarse en cualquiera de las siguientes formas:⁵³

1. Concentraciones de cultivo añadidas a bebidas como jugos.
2. Inoculados en fibras prebióticas.

3. Inoculado en productos lácteos.
4. Células concentradas y secas (suplementos dietéticos, cápsulas, tabletas, o polvo)
5. Productos no lácteos fermentados.

II. 3.6 Administración de los probióticos

La relación dosis-efecto de los probióticos tanto terapéutica como preventiva, es muy variable y aún muy estudiada, dependiendo la especie usada y el tipo de efecto buscado, algunos autores sugieren que una cantidad de 10^6 UFC/g en producto terminado es suficiente para considerar la funcionalidad del probiótico. Sin embargo, otros autores recomiendan una cantidad de 10^7 UFC/g para que el probiótico conserve su función y algunos otros indican una dosis de hasta 5×10^9 UFC/día durante al menos cinco días como una cantidad adecuada para beneficios a la salud.⁶⁰⁻⁶² Generalmente, la dosis mínima necesaria para conseguir un efecto terapéutico se estima en $1 \times 10^8 - 1 \times 10^9$ UFC.⁶²

II.3.7 Aplicaciones clínicas

A continuación se enuncia la evidencia clínica que existe hasta el momento sobre la utilidad de los probióticos en el ámbito de la prevención y tratamiento de enfermedades en pacientes pediátricos (Ver Tabla No.3). El hecho de que actualmente no se encuentre evidencia sobre la utilidad de un probiótico en determinada condición clínica no significa que futura investigación clínica no pueda establecer beneficios clínicos significativos.⁶³

Tabla No. 3. Principales aplicaciones clínicas de probióticos en infantes

Principales aplicaciones clínicas de probióticos en infantes			
Enfermedades Gastrointestinales	Enfermedades del sistema respiratorio	Enfermedades del sistema inmune	Otras
Diarrea aguda infecciosa	Asma	Alergia alimentaria (Intolerancia a la lactosa)	Dermatitis atópica
Diarrea asociada a antibióticos	Infecciones de vías respiratorias	Rinitis alérgica	Enfermedad celiaca
Infecciones por <i>Clostridium difficile</i>			Malnutrición
Enterocolitis necrosante (ECN)			Fibrosis quística
Enfermedad inflamatoria intestinal			Suplementación de fórmulas lácteas infantiles
Infección por <i>Helicobacter Pylori</i>			
Síndrome de intestino irritable			
Dolor abdominal intestinal			
Síndrome de intestino corto			
Enfermedades infecciosas extraintestinales			
Estreñimiento			
Gastroenteritis aguda			
Cólico infantil			
Obesidad			

Fuente: Tomado de Vázquez, Román, Marín, Medina, Versalovic⁶³⁻⁶⁷

II.3.8 Relación de los Probióticos y Salud Oral

Una vez que los probióticos orales son ingeridos a través de un alimento o preparación medicinal, pueden persistir en la cavidad oral ya que tienen potencial de adherirse a los tejidos orales a través de los diversos mecanismos de acción expuestos en el capítulo II.3.4. Sin embargo, ya que el tiempo de tránsito de los alimentos en la cavidad oral es más corto respecto a otras áreas del tracto digestivo, durante esta primera etapa de contacto con el huésped, la supervivencia y la resistencia a los factores ambientales en la cavidad oral son de suma importancia.⁶⁸

Inicialmente los probióticos son expuestos a la saliva, la cual intermedia el contacto de éstos con los tejidos orales duros y blandos. Por lo tanto, la saliva puede funcionar como un reservorio de microorganismos orales nocivos y benéficos gracias a su relación con los tejidos; asimismo, contiene proteínas salivales que pueden afectar colectivamente la viabilidad o la morfología de la superficie celular de las especies probióticas, afectando aún más su adhesión y actividad metabólica.^{68, 69}

Una vez que las especies probióticas han logrado adaptarse y subsistir al medio salival, están obligadas a comenzar un nuevo sistema de interacciones complejas con la biota residente. Se han descrito al menos cinco tipos de interacción: **competencia por nutrientes; sinergia; antagonismo; neutralización de los factores de virulencia e interferencia con los sistemas de señalización**

bacteriana (quórum sensing).⁷⁰ Por medio de estas interacciones, las especies probióticas pueden adherirse directamente al tejido epitelial oral o a los órganos dentarios a través de una delgada capa mucosa que los recubre. Esta capa de mucina salival o película adquirida debe considerarse como un mediador más que influye en la adhesión de las cepas probióticas. Por ejemplo, diversas especies *Streptococcus* como *S. sanguinis*, *S. gordonii*, *S. oralis* y *S. mitis* pueden adherirse rápidamente a la película adherida del órgano dental, contribuyendo en la formación y desarrollo de la biopelícula en etapas tempranas, mientras que otras especies como los *Lactobacillus* tienen menor capacidad de adherencia a los órganos dentarios, ya que su hidrofobicidad, carga superficial y componentes específicos de carbohidratos y/o proteínas son distintos. Sin embargo, pese a que la capacidad de adherencia de los *Lactobacillus* es menor que la de los *Streptococcus*, resulta superior en comparación a otras especies como *Bifidobacterium*.^{68, 69}

En resumen, los probióticos tienen la facultad de adherirse a los tejidos dentales como parte de la biopelícula, compitiendo con los agentes patógenos cariogénicos y por lo tanto coadyuvando a disminuir su mecanismo de acción y previniendo de cierto modo la presencia de patologías, ayudando a mantener órganos dentarios sanos y encías saludables.⁵⁸

Como se mencionó anteriormente en el capítulo II.3.4 el mecanismo de acción de las cepas probióticas con la biota autóctona aún no está completamente dilucidado, sin embargo, numerosos estudios han demostrado la efectividad de las

cepas probióticas en diversas patologías bucodentales y aplicaciones odontológicas, como son las siguientes:

A. Caries dental.

Actualmente numerosos ensayos clínicos informan el efecto de los probióticos en la disminución de la incidencia y prevalencia de caries dental (Ver Tabla No. 4). Comúnmente los resultados de estos estudios suelen señalar que los suplementos probióticos son bastante efectivos y prometedores.^{71-76, 78.79} Como el estudio realizado por Rodríguez et al., quienes administraron leche suplementada con *L. Rhamnosus* a niños de 2-3 años de edad durante 40 semanas, evidenciando una reducción estadísticamente significativa en la prevalencia de caries y nivel de lesión cavitada.⁷³

De igual forma, Stensson et al. evaluaron la suplementación oral diaria de *Lactobacillus reuteri cepa ATCC 55730* en 160 madres a lo largo del último mes de gestación y posteriormente en los recién nacidos durante su primer año de vida; demostrando una experiencia en el desarrollo de lesiones cariosas disminuida y asociada a un bajo riesgo para presentar caries dental, que no sólo previno la aparición de caries de la infancia temprana, sino que redujo la prevalencia de caries dental en la dentición primaria a los 9 años de edad.^{77,90}

Por otra parte, diversos autores plantean que el consumo de probióticos puede interferir positivamente en varios predictores de riesgo asociados a caries dental,

tales como: pH salival, capacidad buffer salival, nivel de biopelícula dental y recuento bacteriano de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus*; logrando modificaciones usualmente temporales y de corto plazo ^{6, 72,78-89}

Tal es el caso del estudio presentado por Srivastava et al. quienes valoraron el efecto de una cuajada probiótica con *Bifidobacterium lactis BB12* y *Lactobacillus acidophilus A-5* sobre el pH salival y recuento de *Streptococcus mutans* en sujetos libres de caries, encontrando un aumento significativo en el pH salival y una reducción significativa en el recuento de *Streptococcus mutans* al inicio y hasta los 7 días de consumo.⁷⁸ De igual modo, Campus et al. informaron el efecto de una dosis diaria de pastillas con *L. brevis CD2* en escolares con alto riesgo de caries, obteniendo una reducción significativa en la acidogenicidad de la biopelícula y recuento de *Streptococcus mutans* en saliva tras 6 semanas de consumo.⁸⁴

Sin embargo, autores como Villavicencio et al. muestran resultados discordantes, ya que en su evaluación sobre el efecto de leche suplementada con las cepas probióticas *L. rhamnosus* y *Bifidobacterium longum* en niños preescolares durante 9 meses, hallaron una reducción significativa de *Lactobacillus spp*, no siendo así para *Streptococcus mutans*. Además, aun cuando fue detectado un aumento en la capacidad buffer salival y una leve disminución en la prevalencia de caries dental, acidez salival y nivel de biopelícula, los resultados no fueron estadísticamente significativos.⁷²

Otro resultado dispar fue señalado por Toiviainen et al., quienes revelaron no hubo diferencia significativa en el nivel de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* después de una intervención en sujetos adultos quienes consumieron pastillas con *L. rhamnosus* GG ATCC 53103 y *B. Lactis* BB-12 DSM 15954 durante 4 semanas, denotado un microbioma oral sin cambios significativos a pesar de un descenso en el índice de biopelícula e inflamación gingival.⁸²

Incluso, en el caso de lesiones de caries dental preexistentes, poco se sabe sobre el efecto que podrían tener las cepas probióticas.⁴⁵ Keller et al. reportaron no encontrar diferencias significativas en los valores de fluorescencia cuantitativa inducida por luz (QFL) o alteraciones del área en lesiones tempranas de caries en adolescentes que consumieron comprimidos con *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 y ATCC PTA 5289 durante un periodo de tres meses.⁹¹

B. Halitosis

La halitosis en la mayoría de los casos se asocia con el desequilibrio en la microbiota comensal (*que obtiene nutrientes o protección a expensas de otros sin producirle daño o beneficio*) de la cavidad oral. Más específicamente, la halitosis resulta de la acción de las bacterias anaeróbicas Gram negativas que residen dentro de la orofaringe y degradan las proteínas de la saliva y de los alimentos para generar ácidos grasos, que a su vez se transforman en compuestos volátiles de azufre (VSC), incluido el sulfuro de hidrógeno y el metanotiol. Aunque hoy en día son pocos los ensayos clínicos dirigidos a esta condición, se han encontrado

diferentes cepas o productos probióticos eficaces. Las cepas estudiadas incluyen *Escherichia coli* Nisle, *S. salivarius* y *Lactobacillus salivarius* en forma masticable y aislados de *Weissella cibaria* en forma de colutorio.^{45,92, 93}

Asimismo, la cepa probiótica para contrarrestar la halitosis no debe producir subproductos metabólicos fragantes y debe ser capaz de persistir en el dorso de la lengua. Estudios clínicos e in vitro han demostrado que cepas como el *Streptococcus salivarius* K12 y los *Lactobacillus crispatus* YIT 12319 y LBS17-11 han resultado efectivas tanto en la adhesión a las células HSC que derivan de la lengua humana así como en la inhibición de la colonización de bacterias implicadas: *Streptococcus* T29, *Saburreum eubacterium*, *Micromonas micro*, etc., traduciéndose en propiedades provechosas para esta condición.⁴⁵

Autores como Keller MK et al. incluso han valorado el efecto de cepas como *L. reuteri* DSM 17938 y *L. reuteri* ATCC PTA 5289 a través de gomas de mascar; en adultos jóvenes sanos con halitosis matutina durante 14 días, señalando que estas pueden tener algún efecto benéfico en el mal olor oral evaluado por las puntuaciones organolépticas. Los resultados indican que la goma probiótica podría afectar a las bacterias que producen compuestos malolientes distintos de los VSC.⁹⁴

C. Infecciones por *Candida albicans*

La literatura muestra resultados positivos y negativos del efecto de los probióticos en *Candida albicans* (*C. albicans*). Diversos estudios preclínicos en animales y ensayos clínicos en humanos han analizado la eficacia de cepas probióticas como *L. rhamnosus* GG, *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *Shermanii* JS, *Lactobacillus acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum*, *L. fermenti*. Los resultados revelan que algunas cepas de *Lactobacillus* controlan el crecimiento excesivo de *C. albicans* produciendo ácido láctico, además de reducir la hiposalivación y la xerostomía, sin embargo otras cepas no poseen un efecto antimicrobiano.^{95, 96}

Otro factor importante en relación a esta infección es el hecho de que el sitio de colonización más alto para *C. albicans* es proporcionado por lesiones cariosas, ya que la producción de ácidos favorece un nicho ecológico para este microorganismo. Asimismo, estudios in vitro han revelado que la presencia de *C. albicans* mejora la adherencia de *Streptococcus mutans* a la biopelícula oral y en lesiones cavitadas. Por lo que resulta lógico pensar que un mayor control de los patógenos de la caries dental con probióticos tendría como consecuencia adicional una disminución de la incidencia de *C. albicans*.⁴⁵

D. Enfermedad Periodontal

Diversos estudios han demostrado que especies probióticas como los *Lactobacillus*, inhiben el crecimiento de periodontopatógenos, mostrando una

actividad antibacteriana contra *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* y *Aggregatibacter actinomycetem comitans*, debido a que los patógenos periodontales son sensibles al ataque de los ácidos. Por ende, la actividad antibacteriana de estas bacterias ácido lácticas se deriva de su producción de ácido láctico y otros ácidos orgánicos que podrían actuar como bacteriocinas. ^{45,92-93,95-99}

Cepas como *L. reuteri*, *L. brevis*, *L. helveticus*, *L. rhamnosus GG*, *Bifidobacterium animalis sub especie lactis BB-12* han sido estudiadas para contrarestar esta patología, disminuyendo así el nivel de biopelícula dental supragingival y por lo tanto, de gingivitis y periodontitis. Por otro lado, se ha demostrado que el consumo de cepas probióticas puede reducir citoquinas pro-inflamatorias en el fluido crevicular de adultos con inflamación gingival, hallazgo que refleja un efecto local en las respuestas inmunes orales. ^{45,92-93,95-99}

E. Otras aplicaciones de utilidad odontológica:

1. Ortodoncia

Estudios han demostrado la eficacia de cepas probióticas para combatir zonas desmineralizadas de esmalte también llamadas “lesiones de mancha blanca” en los diferentes órganos dentarios; secuelas comunes durante y después del tratamiento de ortodoncia. Las cepas probióticas pueden ayudar a prevenir una colonización de *Streptococcus mutans* sobre los dispositivos de ortodoncia fijos

mediante los mecanismos de acción mencionados en el subcapítulo II.3.4; ya que el diseño complejo de bandas y brackets de ortodoncia puede crear un entorno ecológico favorable para microorganismos cariogénicos, causando inflamación gingival y caries dental.^{50,100}

Asimismo, en un estudio de Cildir et al. se demostró que el consumo diario a corto plazo de yogur de fruta que contenía *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* DN-173010 logró reducir los niveles de *Streptococcus mutans* en la saliva durante el tratamiento de ortodoncia con aparatos fijos, no siendo así para los *Lactobacillus* salivales.^{50,101}

II.3.9 Efectos adversos del uso de Probióticos

La administración de probióticos en individuos sanos se ha demostrado con el transcurso de los años como segura, siendo un reflejo de ello el escaso número de complicaciones publicadas relacionadas con su uso en la población general, donde raramente se observan efectos secundarios que suelen reducirse a flatulencia o cambios en los hábitos intestinales.^{102, 103}

No obstante, en los últimos años su aplicación se ha focalizado en el tratamiento de un amplio abanico de patologías, algunas de ellas relacionadas con factores implicados en un mayor riesgo para desarrollar complicaciones, tales como: existencia de inmunosupresión, de comorbilidades subyacentes graves o de hospitalizaciones, tratamiento antibiótico o intervenciones quirúrgicas previas.¹⁰²

Al igual que ocurre con las diferencias en la eficacia según la especie o cepa empleada, es probable que también existan diferencias en los efectos secundarios y adversos entre las diferentes cepas, esto debe tomarse en consideración para cada una de las cepas probióticas que están siendo utilizadas, por ejemplo, se estima que el riesgo de desarrollar bacteremia por *Lactobacillus* ingeridos es inferior a uno por un millón de consumidores, mientras que el riesgo de desarrollar fungemia por *Saccharomyces boulardii* se estima en uno por 5,6 millones de consumidores. Algunas cepas como *L. Rhamnosus* GG, no han llevado a ningún cambio significativo en la incidencia de bacteremias según su especie, en tanto otras han causado mayores complicaciones y fungemias como es el caso de *Saccharomyces cerevisiae* ^{102,103}

En la literatura, se describe un caso de un paciente que puso el contenido de una cápsula probiótica, que contenía *L. rhamnosus*, *L. acidophilus* y *Enterococcus faecalis* en la boca para masticarla después de una extracción dental. Al poco tiempo el paciente sufrió una endocarditis y se pudieron hallar estas bacterias probióticas en las muestras clínicas. ¹⁰³

Por todo ello se deben extremar las precauciones antes de decidir su utilización en estos grupos de riesgo y en el caso de personas con compromiso inmunitario o enfermedad de base grave es mejor restringir su uso a las cepas e indicaciones que tienen eficacia comprobada. ¹⁰²

II.3.10 Limitaciones, implicaciones y seguridad del uso de probióticos

Diferentes estudios con probióticos sugieren que éstos tendrían una serie de beneficios potenciales para la salud.^{45,63-67,71-76,78-90,92-93,95-100} Pero los efectos descritos sólo pueden ser atribuidos a las cepas analizadas en cada estudio y no se puede generalizar a toda la especie ni a todo el grupo de probióticos. Por lo tanto, para utilizar un probiótico para una indicación determinada debemos documentar los efectos sanitarios de cada cepa específica presente en el producto probiótico comercializado.¹⁰³

Asimismo, la diversidad de los estudios que documentan la eficacia de cepas probióticas específicas a una determinada dosis^{72-76, 78-89} no constituyen evidencia fehaciente que aconseje obtener los mismos efectos conseguidos sobre la salud a una dosis distinta o más baja, por lo que la dosis de administración de probióticos en cada situación debe definirse.^{103,104} Numerosas investigaciones incluyen dosis que van de 10^6 a 10^{12} UFC/mL, siendo los *Lactobacillus rhamnosus* y el *B. Lactis* las principales cepas empleadas; ratificando de esta manera la existencia de una amplia extensión entre las dosis aplicadas, dificultando así la precisión de la misma.^{72-76, 78-89}

Por el momento, hay evidencia científica E1, según Kish (**E. Buena evidencia en contra de la recomendación, 1. Uno o más estudios aleatorizados y controlados**) que avala el uso de los probióticos en el tratamiento de la diarrea aguda, la diarrea asociada a antibióticos, la pouchitis y también para el síndrome del intestino

irritable, aunque sólo para combatir algunos síntomas. En cuanto a la salud oral, no hay evidencia nivel 1 que demuestre que los probióticos son útiles para el tratamiento de las enfermedades orales y aunque se han realizado diversos ensayos clínicos, el número de pacientes usualmente es pequeño como para avalar su uso,¹⁰³ aun cuando los estudios realizados muestran efectos benéficos en sujetos con rango de edad de 2 a 30 años, las intervenciones suelen ser a corto plazo; además la vastedad de variables en dichas muestras advierten resultados no del todo concluyentes y puntuales.^{72-76, 78-89} Es por ello que deben considerarse dos pautas principales al emplear un probiótico:

- I. Mantener extrema precaución en pacientes con enfermedades graves de base como cardiopatías, altamente inmunocomprometidos, críticamente enfermos o aquellos portadores de catéteres venosos centrales debido a las posibles complicaciones con fungemias y bacteriemias.^{102,103}

- II. Uso cauteloso en lesiones de caries dentales preexistentes, ya que aún no se esclarece el efecto que podrían tener las cepas probióticas.⁴⁵ Particularmente en situaciones que involucran un consumo a largo plazo de probióticos a base de *Lactobacillus*, particularmente de especies como *L. rhamnosus*, que inducen un aumento de los *Lactobacillus* orales (relacionados con la progresión de las lesiones de caries). Por lo que debe realizarse una revisión dental obligatoria antes de iniciar al consumo de estos productos.¹⁰³

Asimismo, la explotación comercial del concepto de alimento probiótico todavía está asociada con un gran cuerpo de afirmaciones sin fundamento. Los principales motivos de preocupación respecto a la calidad, el etiquetado y la verificación de las reclamaciones atribuidas a algunos de estos productos aún permanecen hoy en día, de manera que es requerido un consenso internacional y nacional para evaluar la eficacia y seguridad de estos productos.⁴³ De igual modo, existe una diversidad de productos probióticos, donde no solo los lácteos son utilizados como vehículo principal, sino también comprimidos y/o tabletas que inclusive pueden disolverse en medios acuosos como enjuagues o agua; identificando así una amplia variedad de materiales y métodos empleados que dificultan la elección del medio idóneo e influyen en la efectividad de la cepa probiótica.^{72-76, 78-89}

Actualmente los datos clínicos siguen resultando inconsistentes y aunque el uso de probióticos podría ser útil en un futuro, aún no existe la suficiente evidencia para demostrarlo.¹⁰³

Tabla No. 4. Estudios sobre el efecto de la suplementación con probióticos en la prevalencia y predictores de riesgo de caries dental en humanos

AUTOR Y AÑO	POBLACIÓN DE ESTUDIO	CEPA Y DOSIS	MÉTODO DE DISTRIBUCIÓN/ DURACIÓN DEL TRATAMIENTO	OBJETIVO A EVALUAR	HALLAZGOS
Villavicencio et al. (2018) ⁷²	363 Niños (3-4 años de edad)	<i>L. rhamnosus</i> (5x10 ⁶ UFC/g) <i>Bidifobacterim longum</i> (3x10 ⁶ UFC/g)	200 mL de leche 1 vez al día 5 veces a la semana durante 9 meses	Recuento de <i>Streptococcus mutans</i> y <i>Lactobacillus spp</i> Prevalencia de caries pH salival Nivel de biopelícula Capacidad buffer salival	Reducción estadísticamente significativa de <i>Lactobacillus spp</i> , no siendo así, para <i>Streptococcus mutans</i> . Disminuyó levemente la prevalencia de caries, acidez salival y nivel de biopelícula, sin embargo los resultados no fueron estadísticamente significativos. Aumento de la capacidad buffer salival.
Rodríguez et al. (2016) ⁷³	261 niños (2-3 años de edad)	<i>L. rhamnosus</i> (10 ⁷ UFC/mL)	150 mL de leche 1 vez al día 5 veces a la semana durante 40 semanas	Prevalencia de caries	Reducción estadísticamente significativa de la prevalencia de caries y nivel de la lesión cavitada.
Hedayati-Hajikand et al. (2015) ⁷⁴	138 niños (2-3 años de edad)	<i>S.uberis KJ2</i> <i>S.oralis KJ3</i> <i>S.rattus JH145</i> (1x10 ⁸ UFC/Tableta)	1 tableta al día durante 12 meses	Prevalencia de caries Presencia de biopelícula supra gingival Sangrado gingival	Reducción estadísticamente significativa de la prevalencia de caries. No se encontraron diferencias significativas en cuanto a la presencia de biopelícula supragingival y sangrado gingival.

AUTOR Y AÑO	POBLACIÓN DE ESTUDIO	CEPA Y DOSIS	MÉTODO DE DISTRIBUCIÓN/ DURACIÓN DEL TRATAMIENTO	OBJETIVO A EVALUAR	HALLAZGOS
Cagetti et al. (2013) ⁷⁵	23 artículos			Revisión analítica de estudios sobre los efectos terapéuticos de los probióticos en la caries dental	<p>Los tamaños de la muestra fueron principalmente pequeños o medianos.</p> <p>Generalmente las intervenciones fueron de corto plazo (80%).</p> <p>Dos tercios de los artículos reportaron disminución en el recuento de <i>Streptococcus mutans</i> en saliva o biopelícula, aunque el efecto fue variable y de corta duración.</p> <p>La mayoría de los artículos emplearon un producto lácteo como vehículo.</p>
Coqueiro et al. (2018) ⁷⁶	42 artículos			Revisión analítica de estudios sobre los efectos terapéuticos de los probióticos en la caries dental	<p>La mayoría de los estudios evaluaron bacterias del género <i>Lactobacillus</i>.</p> <p>Los principales efectos terapéuticos están relacionados con la reducción del recuento oral de <i>Streptococcus mutans</i>, leve aumento de <i>Lactobacillus</i>, además de la reducción en la incidencia de caries.</p> <p>La evidencia sobre los efectos terapéuticos de los géneros <i>Bifidobacterium</i> y <i>Streptococcus</i> es escasa y conflictiva, lo que hace difícil recomendarlos para su uso en la práctica clínica.</p> <p>Algunos estudios administraron probióticos con tratamientos coadyuvantes como el fluoruro, donde los efectos terapéuticos aumentaron cuando se emplean de manera simultánea.</p>

AUTOR Y AÑO	POBLACIÓN DE ESTUDIO	CEPA Y DOSIS	MÉTODO DE DISTRIBUCIÓN/ DURACIÓN DEL TRATAMIENTO	OBJETIVO A EVALUAR	HALLAZGOS
Srivastava et al.(2016) ⁷⁸	60 sujetos (20-25 años de edad)	<i>Bifidobacterium lactis</i> BB12 <i>Lactobacillus acidophilus</i> A-5 (1x10 ⁹ UFC/200mg)	100mL cuajada 1 vez al día /7 días	Recuento de <i>Streptococcus mutans</i> pH en saliva	Reducción significativa de <i>Streptococcus mutans</i> y aumento significativo en el pH salival en comparación con el placebo.
Teanpaisan et al. (2015) ⁷⁹	122 niños (12-14 años de edad)	<i>L. paracasei</i> SD1 (10 ⁷ UFC/ mg)	5g de leche en polvo en 50 mL de agua 1 vez al día durante 6 meses	Recuento de <i>Streptococcus mutans</i> y <i>Lactobacillus</i> en saliva	Reducción estadísticamente significativa en niveles de <i>Streptococcus mutans</i> y <i>Lactobacillus</i> en saliva.
Deo y Deshmukh (2015) ⁸⁰	50 sujetos (18-30 años de edad)	<i>Lactobacillus casei shirota</i> (10 ⁸ UFC/mL)	65 mL leche 1 vez al día durante 7 días	Recuento de <i>Streptococcus mutans</i> en saliva	Reducción estadísticamente significativa (P ≤ 0.03) en los niveles salivales de <i>Streptococcus mutans</i> después de 7 días de administración.
Ashwin et al.(2015) ⁸¹	60 niños (6-12 años de edad)	<i>Bifidobacterium lactis</i> Bb-12 <i>Lactobacillus acidophilus</i> La-5 (1x10 ⁶ UFC/54g)	1helado 1 vez al día/ 7 días	Recuento de <i>Streptococcus mutans</i> en saliva	Reducción estadísticamente significativa de <i>Streptococcus mutans</i> después de la ingestión del helado, efecto sólo a corto plazo no mayor a 6 meses.

AUTOR Y AÑO	POBLACIÓN DE ESTUDIO	CEPA Y DOSIS	MÉTODO DE DISTRIBUCIÓN/ DURACIÓN DEL TRATAMIENTO	OBJETIVO A EVALUAR	HALLAZGOS
Toiviainen et al.(2015) ⁸²	60 sujetos adultos	<i>L. rhamnosus</i> GG ATCC 53103 (4.4X10 ⁸ UFC) <i>B. lactis</i> BB-12 DSM15954 (4.8x10 ⁸ UFC/1,2 g)	4 pastillas al día/ 4 semanas	Recuento de <i>Streptococcus mutans</i> y <i>Lactobacillus</i> en saliva Nivel de biopelícula Inflamación gingival Cambios en microbioma oral	No hubo diferencia significativa en el nivel de <i>Streptococcus mutans</i> y <i>Lactobacillus</i> después de la intervención. Disminución significativa en el índice de biopelícula e inflamación gingival. Microbioma oral sin cambios estadísticamente significativos.
Zare et al. (2015) ⁸³	66 sujetos (18-30 años de edad)	<i>B. lactis</i> (10 ⁶ UFC/ mL)	300mg de yogurt 1 vez al día/2 semanas	Recuento de <i>Streptococcus mutans</i> y <i>Lactobacillus</i> en saliva	Disminución estadísticamente significativa en el recuento de <i>Streptococcus mutans</i> en saliva, aunque los <i>Lactobacillus</i> no presentaron cambios significativos importantes.
Campus et al. (2013) ⁸⁴	181 niños (6-8 años de edad)	<i>L. brevis</i> CD ₂ (10 ⁹ UFC/1 g)	1 Tableta 1 vez al día/ por 6 semanas	pH de biopelícula Recuento de <i>Streptococcus mutans</i> en saliva Sangrado gingival	El pH de la biopelícula, el nivel de <i>Streptococcus mutans</i> y sangrado gingival fue similar en ambos grupo a corto plazo, no siendo así a largo plazo, donde se observaron cambios estadísticamente significativos.
Holz et al.(2013) ⁸⁵	60 sujetos adultos	<i>L. paracasei</i> DSMZ16671	4 Tabletas al día/ 2 días	Recuento de <i>Streptococcus mutans</i> en saliva	Disminución estadísticamente significativa de <i>Streptococcus mutans</i> a corto plazo.

AUTOR Y AÑO	POBLACIÓN DE ESTUDIO	CEPA Y DOSIS	MÉTODO DE DISTRIBUCIÓN/ DURACIÓN DEL TRATAMIENTO	OBJETIVO A EVALUAR	HALLAZGOS
Thakkar et al.(2013) ⁸⁶	90 jóvenes (13 a 15 años)	<i>L. acidophilus</i> <i>L. rhamnosus</i> <i>Bifidobacterium longum</i> <i>Saccharomyces boulardii</i> (1,25 x 10 ¹² UFC/ 10 mL)	10 mL de enjuague por 1 minuto 1 vez al día/14 días	Nivel de biopelícula	El enjuague bucal probiótico y el enjuague bucal clorhexidina causaron una inhibición significativa de la acumulación de biopelícula en comparación con el enjuague bucal placebo, pero se encontró que el enjuague bucal probiótico es más eficaz para la inhibición de la acumulación de biopelícula que el enjuague bucal con clorhexidina.
Dhawan y Dhawan (2013) ⁸⁷	36 sujetos (21 años de edad)	<i>Lactobacillus sporgenes</i> (100 millones) <i>Streptococcus faecalis</i> (60 millones) <i>Clostridium butyrium</i> TO-4 (4x10 ⁶ UFC) <i>Bacillus mesentericus</i> TO-4 JPC (2x10 ⁶ UFC)	2 Tabletas al día/ 2 semanas	Recuento de <i>Streptococcus mutans</i> Índice de biopelícula Índice de cálculo Índice gingival	Reducción estadísticamente significativa en el nivel de <i>Streptococcus mutans</i> , índice de biopelícula, índice de cálculo e índice gingival.
Burton (2013) ⁸⁸	100 niños (5-10 años de edad)	<i>S. salivarius</i> M18 (3,6x10 ⁹ UFC)	2 Tabletas al día/3 meses	Recuento de <i>Streptococcus mutans</i> y <i>S. salivarius</i> Índice de biopelícula Índice gingival	No se observó diferencia significativa en el recuento de <i>Streptococcus mutans</i> . Reducción estadísticamente significativa en el nivel de biopelícula. Mejóro la salud gingival, sin embargo no resultó estadísticamente significativa.

AUTOR Y AÑO	POBLACIÓN DE ESTUDIO	CEPA Y DOSIS	MÉTODO DE DISTRIBUCIÓN/ DURACIÓN DEL TRATAMIENTO	OBJETIVO A EVALUAR	HALLAZGOS
Cortés et al.(2015) ⁸⁹	40 niños (4-6 años de edad)	<i>Streptococcus uberis</i> KJ2TM <i>Streptococcus oralis</i> KJ3TM <i>Streptococcus rattus</i> JH145TM (125 millones UFC)	1 tableta al día/15 días	Recuento de <i>Streptococcus mutans</i> Unidades relativas de Luz (RLU)	Disminución del recuento bacteriano, estadísticamente significativo en el grupo probiótico. Reducción significativa de los valores de RLU en el grupo probiótico, en relación con los valores de referencia.

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La caries dental es considerada un problema de salud pública debido a las altas prevalencias reportadas a nivel mundial, y a pesar de los grandes avances tecnológicos y la introducción de diversas iniciativas por parte de la profesión dental para contrarrestarla, no deja de ser la enfermedad crónica más común durante la niñez.⁸⁸ Es por ello, que actualmente existe una inmensurable preocupación por la prevención y el control de esta patología, realizando esfuerzos intensivos en la búsqueda de varias estrategias como la reducción de la microbiota cariogénica; sin embargo, sigue sin obtenerse el control idóneo de los microorganismos asociados a esta enfermedad.⁷⁹

Estudios recientes han arrojado una nueva luz sobre el potencial uso de probióticos para la prevención de enfermedades orales.⁸⁴ Si bien la información existente tiende a demostrar el efecto inhibitor que tendría la administración de probióticos en el desarrollo de la caries dental, ésta aún es insuficiente por lo que se requiere realizar más investigaciones al respecto.¹⁰⁵

Asimismo, aunque el empleo de probióticos es aún un campo reciente respecto a la salud oral, en México existen diversos productos disponibles en el mercado, aun cuando no se han esclarecido completamente la eficacia, seguridad, dosificación y mecanismos de acción de las diferentes cepas empleadas.^{43,71}

Dada la importancia que supondría aumentar el respaldo de las investigaciones reportadas, se consideró imprescindible la realización de un estudio piloto utilizando el probiótico oral comercializado *L. reuteri* DSM 17938 BioGaia®, dilucidando si la cepa probiótica contenida es efectiva en la prevención de caries dental y determinando su efecto sobre ciertos predictores de riesgo asociados a esta patología; aumentando así la información que permita definir a la bacterioterapia como una medida preventiva, efectiva y segura, garantizando una mejor calidad de vida, sobre todo en la población infantil. De ahí la relevancia del presente estudio para lo cual nos planteamos la siguiente pregunta de investigación.

¿Cuál es el efecto de la administración oral del probiótico *L. reuteri* DSM 17938 en la prevención de caries dental en una población de preescolares?

IV. HIPÓTESIS

Considerando los estudios sobre el efecto positivo de la suplementación con probióticos en la prevalencia y predictores de riesgo de caries dental en humanos, suponemos que el consumo del probiótico *L. reuteri* DSM 17938 BioGaia®, ayudará a prevenir la caries dental en una población de preescolares, mostrando un efecto eficiente sobre determinados predictores de riesgo de caries dental; controlando la experiencia de caries dental, flujo y pH salival no estimulado, además de una disminución significativa en la presencia de biopelícula dental y recuento de *Streptococcus mutans* en saliva y *Lactobacillus* en biopelícula dental, en comparación con los grupos que no reciban dicho tratamiento.

V. OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto del probiótico *L. reuteri DSM 17938 BioGaia®* en la prevención de caries en una población de preescolares del Colegio Hellen Keller, Jardín de niños Alfonso Pruneda y Jardín de niños Freire durante el periodo de Enero a Marzo del 2019.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Aplicar el índice ceod para determinar la experiencia de caries dental al inicio, durante y al finalizar la ingesta del probiótico *L. reuteri DSM 17938 BioGaia®* en el grupo control, experimental y placebo.
- Determinar los niveles de flujo y pH salival no estimulado al inicio, durante y al finalizar la ingesta del probiótico *L. reuteri DSM 17938 BioGaia®* en el grupo control, experimental y placebo.
- Aplicar el índice O'Leary para determinar la presencia de biopelícula dental al inicio, durante y al finalizar la ingesta del probiótico *L. reuteri DSM 17938 BioGaia®* en el grupo control, experimental y placebo.
- Determinar el recuento de *Streptococcus mutans* en saliva y *Lactobacillus* en biopelícula dental, al inicio, durante y al finalizar la ingesta del probiótico *L. reuteri DSM 17938 BioGaia®* en el grupo control, experimental y placebo.
- Comparar los resultados de los índices y predictores de riesgo a caries, al inicio, durante y al finalizar la ingesta del probiótico *L. reuteri DSM 17938 BioGaia®* en el grupo control, experimental y placebo.

VI. MATERIAL Y MÉTODOS

VI.1. Tipo de estudio:

- Experimental, prolectivo, longitudinal, comparativo.

VI.2 Universo de Estudio

Se estudió una población de preescolares de 3 a 5 años de edad, género femenino y masculino que asistió al Colegio Helen Keller, Jardín de Niños Alfonso Pruneda y Jardín de Niños Freire, pertenecientes al área Metropolitana durante el periodo de Enero a Marzo del 2019, la selección de las instituciones educativas se realizó por conveniencia, por los contactos y la disposición de los directivos en apoyar la investigación.

La muestra fue conformada por 250 preescolares, cifra determinada por el número de infantes inscritos en cada escuela, ya que todos fueron revisados e incluidos en el estudio, salvo los que no quisieron participar o cuyos padres no autorizaron el consentimiento informado inicial (Ver anexo XIV.1).

De esta muestra fueron seleccionados 30 sujetos que cumplieron con los siguientes criterios:

VI.3 Criterios

VI.3.1 Criterios de inclusión

- Niños y niñas sanos de 3 a 5 años.
- Niños y niñas libres de caries.
- Niños y niñas con capacidad para cooperar durante un examen dental.
- Niños y niñas que cuenten con consentimiento informado No.2.

VI. 3.2 Criterios de exclusión

- Niños y niñas mental o físicamente discapacitados.
- Niños y niñas con alergia a alguno de los componentes del probiótico oral experimental y/o placebo.
- Niños y niñas que presenten medicación continua con antibióticos.
- Niños y niñas con consumo elevado de otros probióticos (productos lácteos u otros suplementos).

VI. 3.3 Criterios de eliminación

- Niños y niñas que rechazaron la ingesta del probiótico *L. reuteri DSM 17938 BioGaia®*.
- Niños y niñas que decidieron retirarse del estudio.
- Niños y niñas que no cumplan con el 90% de asistencia durante el transcurso del tratamiento.

Posteriormente estos participantes fueron asignados aleatoriamente a uno de los 3 grupos siguientes:

- **Grupo control (A):** n=10 preescolares
- **Grupo experimental (B):** n=10 preescolares
- **Grupo placebo (C):** n=10 preescolares

Durante un periodo de 3 meses el grupo control (A) no recibió tabletas probióticas o placebo, el grupo experimental (B) consumió tabletas masticables con *L. reuteri* DSM 17938 BioGaia® y el grupo placebo (C) consumió tabletas masticables sin cepas probióticas. (Véase Figura 1)

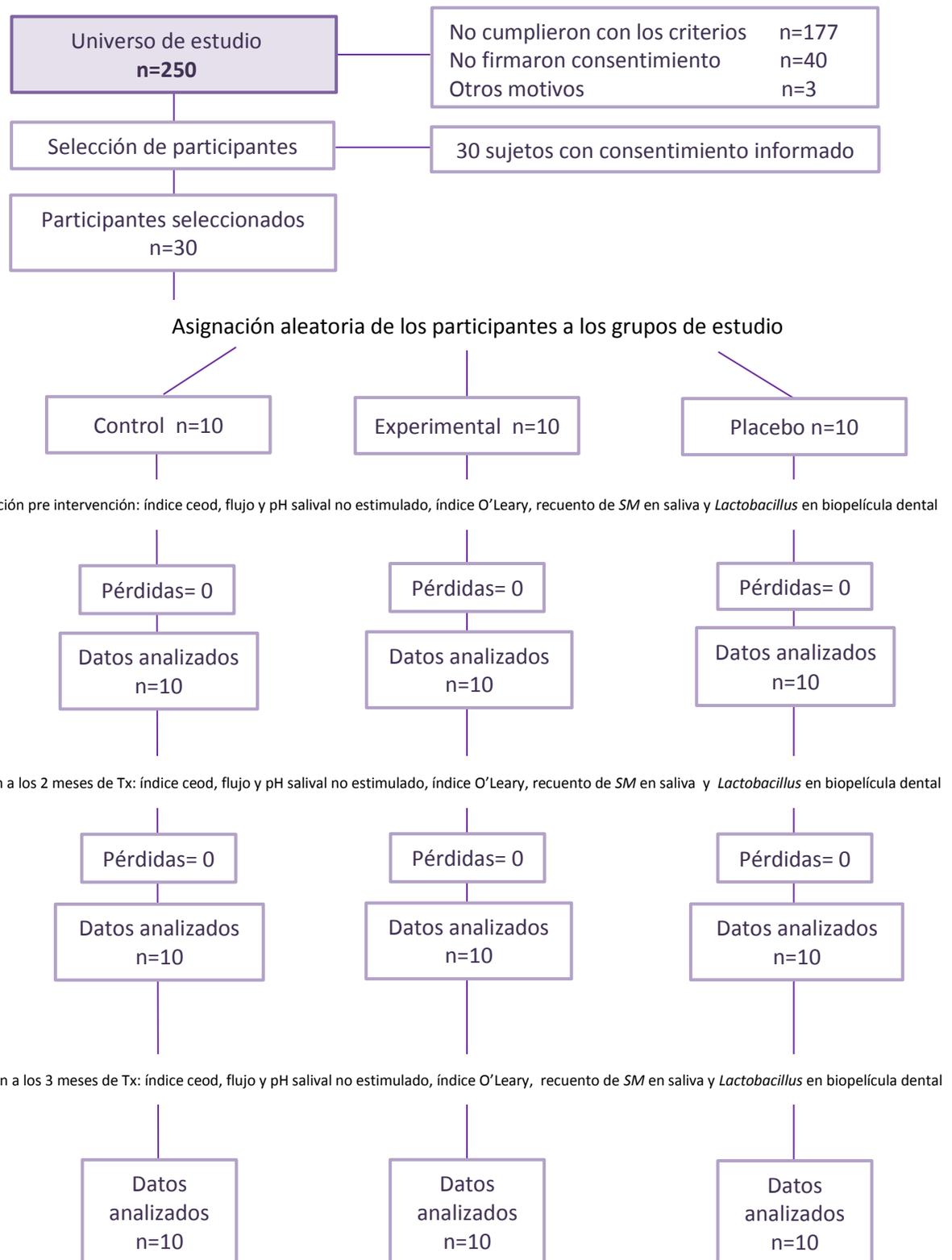


Figura 1. Diagrama de selección de participantes y conformación de grupos de estudio

VI. 4 Variables

Independiente:

- Tratamiento:
 - ▶ Grupo Control (A):
Sin intervención.
 - ▶ Grupo Experimental (B):
Tabletas masticables con *L. reuteri* DSM 17938 BioGaia®.
 - ▶ Grupo Placebo (C):
Tabletas masticables sin cepa probiótica.

Dependiente:

- Predictores de riesgo de caries dental (experiencia de caries dental, flujo y pH salival no estimulado, presencia de biopelícula dental, recuento bacteriano de *Streptococcus mutans* en saliva y *Lactobacillus* en biopelícula dental).

VI.4.1 Tabla No 5. Operacionalización de variables

Variable	Definición	Nivel de medición	Categoría
Tratamiento	Administración complementaria de <i>L. reuteri</i> DSM 17938 o placebo	Cualitativa nominal	Sin tratamiento Tratamiento con <i>L. reuteri</i> DSM 17938 Placebo

VI.4.1 Tabla No 5. Operacionalización de variables

Variable	Definición	Nivel de medición	Categoría
Experiencia de caries dental	Predictor que indica la historia de caries dental a lo largo de la vida de un sujeto	Cuantitativa discreta	Criterio ceod expresado por valor numérico de 0 a 20
Tasa de flujo salival no estimulado	Volumen de saliva no estimulado producido en las glándulas salivales por unidad de tiempo	Cuantitativa continua Cualitativa ordinal	Medida expresada en mL/min Producción normal: ≥ 0.25 mL/min Producción baja: ≤ 0.25 mL/min
pH de saliva no estimulada	Grado de acidez o alcalinidad que indica la cantidad de iones de hidrógeno presentes en la saliva no estimulada	Cuantitativa discreta Cualitativa nominal	Escala expresada por valor numérico de 0 a 14 pH alcalino ≥ 7 pH ácido ≤ 7
Presencia de biopelícula dental	Estimación de biopelícula adherida sobre la superficie dental	Cualitativa ordinal	Criterio O'Leary: Aceptable: 0.0-12.9% Cuestionable: 13.0- 23.9% Deficiente 24.0-100%
Recuento bacteriano	Tamaño de población bacteriana en una muestra	Cuantitativa continua Cualitativa nominal	Medida en expresada en UFC/ μ L <i>Streptococcus mutans</i> Recuento bajo ≤ 100.000 UFC/mL Recuento alto ≥ 100.000 UFC/mL <i>Lactobacillus</i> Recuento bajo ≤ 100.000 UFC/mL Recuento alto ≥ 100.000 UFC/mL

VI.5 Técnicas

Se envió un primer consentimiento informado (Ver Anexo No.1) a todos los tutores o padres de familia que tuvieran niños adscritos en el Colegio Helen Keller, Jardín de niños Alfonso Pruneda y Jardín de niños Freire para que autorizaran la revisión bucal de sus hijos, misma que fue realizada en cada institución educativa, dentro de cada aula y empleando barreras de bioseguridad convencionales.

Con ayuda de las educadoras, la revisión bucal se llevó a cabo de manera ordenada y personal, sentando a cada preescolar en una silla, empleando un espejo bucal sin aumento, explorador, sonda WHO y una lámpara de luz blanca para identificar la presencia de caries dental.

Posteriormente fueron seleccionados 73 preescolares libres de caries cuyos padres y tutores fueron invitados a una sesión informativa en cada centro escolar. Durante la sesión se denotó la invitación para participar en el estudio que se realizaría y se entregó un tríptico informativo (Anexo No.2), de igual modo se expuso la información acerca del propósito, procedimientos, fuentes de financiamiento, riesgos, beneficios y demás aspectos pertinentes asociados a la investigación. Una vez que los asistentes aseguraron comprender la información, se procedió a la firma de un segundo consentimiento informado a quienes decidieron formar parte del estudio (Anexo No. 3), haciéndoles saber sobre su derecho a retirar el consentimiento en cualquier momento de la investigación o no participar en caso de no estar de

acuerdo. Asimismo, se les solicitó contestar una ficha de datos generales y cuestionario base (Anexo No. 4).

Finalmente las 30 autorizaciones aceptadas para la participación en el estudio fueron divididas en 3 grupos de manera aleatoria e integrados por 10 sujetos cada uno:

- **Grupo control (A).** Quienes no recibieron tabletas probióticas o placebo
- **Grupo experimental (B).** Que consumieron tabletas masticables con 100 millones de UFC de *L. reuteri* DSM 17938 BioGaia®. (Ing.: Isomaltosa, xilitol, *L. reuteri* DSM 17938, aceite de Palma, estearato de Ca., Saborizante y ácido cítrico)
- **Grupo placebo (C).** Que ingirieron tabletas masticables sin cepa probiótica. (Ing.: sorbitol, manitol, L. ascorbato de sodio, ácido L. ascórbico, sal magnésica de ác.grasos, talco, naranja, endulcorante: aspartamo).

Posteriormente se realizó un registro pre intervención de índice ceod, flujo y pH salival no estimulado, índice O'Leary, recuento de *Streptococcus mutans* en saliva y *Lactobacillus* en biopelícula dental a cada preescolar de la muestra de estudio, explicando previamente a los niños de manera sencilla y adecuada los procedimientos que se les iba a realizar. Este registro inicial de los predictores de riesgo de caries dental a evaluar es presentado posteriormente en el apartado de resultados con el término **basal**. Las técnicas empleadas se describen a continuación:

VI.5.1 Registro de ceod

La experiencia de caries dental se reportó empleando el índice ceod. El examen fue realizado de acuerdo a los criterios para la dentición temporal según la OMS, considerando los 20 órganos dentales temporales, por medio de inspección visual y con ayuda de un explorador #5.

De esta manera se procedió a revisar cada órgano dental presente por cuadrante, iniciando con la cara oclusal y continuando con las caras mesial, vestibular, distal y palatino/ lingual, registrando en una bitácora de trabajo el número total de órganos dentales con las condiciones:

- c:** Cariado (en los que está indicada la obturación).
- e:** Extraído (en los que está indicada la extracción por caries).
- o:** Obturado

Una vez asignados los valores numéricos a las condiciones: cariado, extraído y obturado por cada sujeto de la muestra de estudio, se determinó un índice ceod individual y grupal de la siguiente manera:

$$\text{Índice ceod individual} = \text{Sumatoria de } \mathbf{c + e + o}$$

El ceod individual se calculó sumando el número de dientes registrados con las condiciones: cariado, perdido y obturado en cada individuo.

Asimismo, el valor del ceod grupal se obtuvo de la siguiente forma:

$$\text{Índice ceod grupal: } \frac{\text{ceod total (total de órganos dentales cariados, perdidos y obturados)}}{\text{N° total de individuos examinados por grupo}}$$

Finalmente los valores de ceod individuales y grupales fueron insertados en una base de datos para su posterior análisis.

VI.5.2 Determinación del flujo salival no estimulado

Se determinó el flujo salival no estimulado a cada preescolar del estudio mediante la técnica de Tomas Seif. Para esta técnica el participante se abstuvo de comer o beber 1 hora antes de la colecta de la muestra, asimismo se le pidió sentarse en una silla a una posición de 90° y se le instruyó a dejar caer saliva dentro de un tubo Eppendorf calibrado en mililitros, previamente estéril y rotulado, durante un periodo total de dos minutos.

El Índice de tasa de flujo salival no estimulado se obtuvo midiendo la cantidad de mL de saliva recabada en el tubo colector, dividiéndolo entre dos, estableciendo así el flujo salival no estimulado por minuto. Finalmente, para facilitar la interpretación de la condición de flujo salival no estimulado que presentó el paciente, el valor obtenido fue comparado con los siguientes parámetros preestablecidos en la Tabla No.6:

Tabla No. 6. Parámetros para la interpretación de valores del flujo salival no estimulado

Condición	Parámetro
Producción normal	≥ 0.25 mL/min
Producción baja	≤ 0.25 mL/min

Fuente: Tomado de Barrios, Vila, Martínez, Encina Tutuy ¹⁰⁶

VI.5.3 Determinación del pH salival no estimulado

La determinación del pH salival no estimulado se llevó a cabo inmediatamente a través de la muestra salival previamente obtenida, con ayuda de tiras indicadoras de pH de la marca MERCK® con una escala de medida universal de 0 a 14.

Se sumergió una tira reactiva por cada tubo Eppendorf que contenía la muestra de saliva no estimulada durante 3 a 10 segundos, de tal modo que se humedecieran todas las zonas de color. Luego retiramos el papel, esperamos 30 segundos más y comparamos el color de la tira de papel humedecida con el color de la escala adjunta proporcionada por el fabricante, registrando así el número de pH asociado al color resultante. Por último, para facilitar la interpretación del pH salival no estimulado que presenta el paciente, el valor obtenido fue comparado con los siguientes parámetros preestablecidos en la Tabla No. 7:

Tabla No. 7. Parámetros para la interpretación de valores del pH salival no estimulado

Condición	Parámetro
pH alcalino	≥ 7
pH ácido	≤ 7

Fuente: Tomado de Aguirre ¹⁰⁷

VI.5.4 Registro de índice O'Leary

A continuación se procedió al levantamiento del índice O'Leary para determinar la presencia de biopelícula dental. Para este método los participantes se abstuvieron de realizar el último cepillado dental del día una noche antes, para obtener de esta manera una biopelícula dental no mayor a 24 horas, además de comer o beber 1 hora antes del examen.

Posteriormente se proporcionó una pastilla reveladora de biopelícula dental GUM® Red-Cote® a cada preescolar y se le solicitó la disolviera y mezclara con su saliva durante 30 segundos, la agitara por toda la cavidad oral durante 30 segundos más y por último escupiera los remanentes; inmediatamente con ayuda de un espejo dental del No.5 se procedió a examinar las superficies dentales teñidas dividiendo cada órgano dental en cuatro superficies: vestibular, mesial, lingual y distal, iniciando con la arcada superior derecha, desde el molar en la posición más distal hasta concluir con el con el homólogo del lado contrario, continuando con la arcada

inferior izquierda, desde el molar en la posición más distal hasta concluir el examen con el homólogo del lado contrario.

Luego el índice O'Leary fue calculado sumando el número total de superficies teñidas entre el número total de superficies presentes, multiplicando el resultado por cien.

$$\text{Índice de biopelícula dental O'Leary} = \frac{\text{\# de superficies teñidas}}{\text{Total de superficies}} \times 100$$

Finalmente, para facilitar la interpretación de la condición de higiene oral que presenta el paciente, el valor obtenido fue comparado con los siguientes parámetros preestablecidos en la Tabla No. 8

Tabla No. 8. Parámetros para la interpretación de valores del índice de biopelícula dental de O'Leary

Condición	Parámetro
Aceptable	0.0% - 12.9%
Cuestionable	13.0% - 23.9 %
Deficiente	24.0% - 100.0%

Fuente: Tomado de Murrieta, López, Juárez, Linares y Zurita¹⁰⁸

VI.5.5 Recuento de *Streptococcus mutans* en saliva

Para el recuento de *Streptococcus mutans* en saliva se tomó una segunda muestra de saliva no estimulada empleando la técnica de Tomas Seif anteriormente expuesta, utilizando nuevos tubos colectores de saliva estériles los cuales fueron etiquetados y transportados de manera inmediata y a temperatura ambiente al Laboratorio de Microbiología General de la Carrera de Química Farmacéutica Biológica de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, de la Universidad Nacional Autónoma de México para ser procesadas inmediatamente.

Para el sembrado de microorganismos se tomó un 1 µl (microlitro) de la muestra contenida en los tubos de ensayo previamente rotulados y homogenizados. Primeramente se retiró el tapón del tubo y se flameó de inmediato la boca del tubo de ensayo pasándola una o dos veces por la llama del mechero con el objetivo de eliminar por incineración los microorganismos contaminantes que se encontraran en esa zona. Luego se introdujo un asa calibrada estéril de 1 µl (microlitro) BD DIFCO® dentro del tubo, cogiendo así la muestra de saliva que sería sembrada en cajas Petri acondicionadas con el medio de cultivo agar mitis salivarius, adicionado con Bacitracina al 0.05% (MSB) por medio de técnica de sembrado masivo. Después de este procedimiento fueron incubadas en condiciones de anaerobiosis (Ver Figura No.2) durante 72 horas a 37°C.

En seguida se realizó la identificación morfológica con ayuda del microscopio óptico después de realizada la tinción de Gram, asimismo se realizó la identificación

bioquímica de las colonias a través de la prueba de Catalasa. Finalmente, el recuento final de colonias fue expresado en UFC/ μ L de saliva y ubicado dentro de los parámetros preestablecidos en la Tabla No.9. para su subsecuente interpretación, no sin antes realizar la obligatoria conversión de μ L a mL(1000 μ L =1mL).

Tabla No. 9. Parámetros para la interpretación del recuento de *Streptococcus mutans* en saliva

Condición	Parámetro
Recuento alto	≥ 100.000 UFC/mL
Recuento bajo	≤ 100.000 UFC/mL

Fuente: Tomado de Pérez JA, Duque de Estrada J, Hidalgo I. ¹²

VI.5.6 Recuento de *Lactobacillus*

Asimismo, por cada preescolar se recolectó una muestra de biopelícula dental supragingival empleando el medio de transporte Stuart COPAN Transystem®, diseñado para el almacenamiento, transporte, protección y mantenimiento de la viabilidad de bacterias aerobias y anaerobias a temperatura ambiente hasta por 48 horas. La muestra se obtuvo frotando el hisopo colector contra las superficies libres (vestibular, lingual y oclusal) de los órganos dentarios presentes durante 30 segundos e introduciéndolo seguidamente en el tubo de polipropileno. Después de colectar las muestras, éstas fueron transportadas de manera inmediata y a

temperatura ambiente al Laboratorio Microbiología General de la Carrera de Química Farmacéutica Biológica de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, de la Universidad Nacional Autónoma de México para su proceso.

Posteriormente se realizó una inoculación primaria sembrando el hisopo en el medio BD LBS (*Lactobacillus* selection agar) también conocido como agar rogosa, utilizado para aislamiento y recuento de *Lactobacillus*. Después de la inoculación inicial se realizó el resto del sembrado mediante la técnica estriado, empleando un asa de inoculación sin calibrar. Luego de este procedimiento, las cajas fueron incubadas en condiciones de anaerobiosis (Ver Figura No.2) durante 72 horas a 37°C.

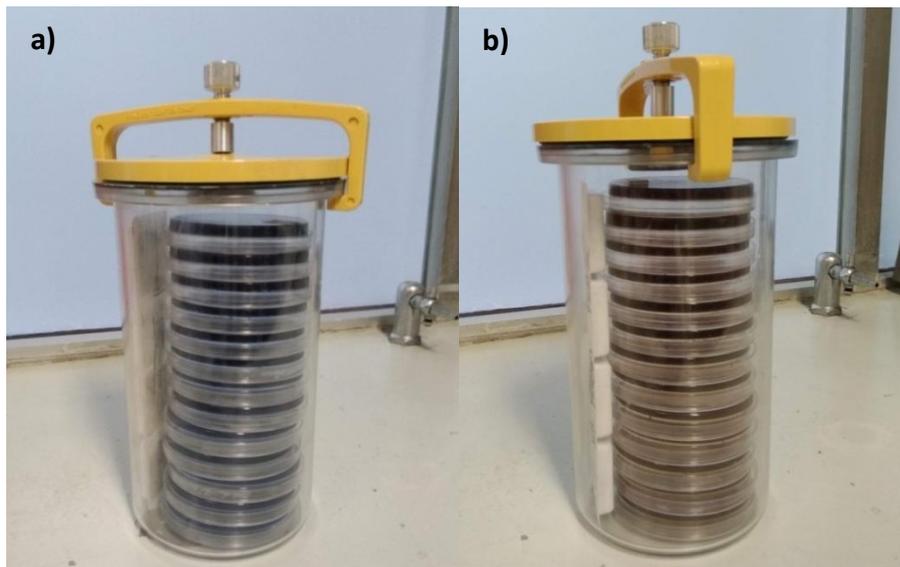


Figura 2. Cultivos de a) *Streptococcus mutans* y b) *Lactobacillus* spp. dentro de jarra de anaerobiosis

Las colonias presentes en las muestras de biopelícula dental fueron contadas y expresadas como UFC/hisopo, además de ubicarse dentro de los parámetros preestablecidos en la Tabla No.10. para su subsecuente interpretación, realizando

la previa conversión de μL a mL , además de considerar un mínimo de $10 \mu\text{L}$ por hisopo.

Tabla No.10. Parámetros para la interpretación del recuento de *Lactobacillus* en biopelícula dental

Condición	Parámetro
Recuento alto	$\geq 100.000\text{UFC}/\text{mL}$
Recuento bajo	$\leq 100.000\text{UFC}/\text{mL}$

Fuente: Tomado de Pérez JA, Duque de Estrada J, Hidalgo I. ¹²

VI.5.7 Administración de *L. reuteri* DSM 17938 BioGaia®

Una vez concluidas las pruebas y registros iniciales de *índice ceod*, *flujo salival*, *pH salival*, *índice O'Leary*, *recuento de Streptococcus mutans en saliva* y *Lactobacillus en biopelícula dental* en cada preescolar de los diferentes grupos de estudio inició la administración del tratamiento. Asimismo se solicitó a los padres y/o tutores de los participantes se abstuvieran de realizar cambios en los hábitos alimentarios o de higiene oral de sus hijos una vez iniciada la intervención.

A los sujetos del grupo A no se les suministró ningún tratamiento, mientras que a los del grupo B se les proporcionó una tableta masticable con *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 BioGaia® y a los del grupo C se le entregó una tableta masticable placebo. Ambas tabletas masticables fueron administradas diariamente

de manera individual para supervisar su correcto consumo durante los días hábiles escolares en un horario de 9:30 a 11 am, ya iniciadas las actividades escolares para mantener un ciclo circadiano constante, además el cepillado dental no fue permitido al menos 1 hora después del consumo de las tabletas. Para la administración de las tabletas los días restantes de la semana, se instruyó a las Educadoras para que realizaran la entrega de las tabletas necesarias a los padres durante cada fin de semana y se les solicitó registraran su consumo en una bitácora semanal que se les entregó personalmente (Ver Anexo No. 5). Este procedimiento fue repetido durante todo el periodo experimental, registrando la asistencia de los preescolares, el cumplimiento de ingesta y los efectos secundarios que pudiesen ser observados durante la administración del tratamiento, dicho registro fue llevado a cabo por el investigador, padres y/o tutores de los participantes y educadoras.

VI.5.8 Muestras y registros subsecuentes.

Posteriormente se realizó un registro a los 2 y 3 meses de tratamiento, midiendo los predictores de riesgo a caries dental anteriormente señalados y siguiendo los métodos anteriormente expuestos. Nuevamente no se permitió el uso de cepillos dentales y otros métodos de limpieza oral durante la mañana del día en que se realizaron las mediciones. Cabe mencionarse que la recolección de la información se realizó por un solo examinador con un criterio estandarizado, por lo cual la técnica y procedimiento posee confiabilidad en cuanto a la homogeneidad del criterio diagnóstico

VI.6. RECURSOS

VI.6.1 Recursos Humanos:

- Químico Farmacéutico Biólogo.
- Operador de estadística.
- Investigador y colaboradores.
- Educadoras (es)
- Padres/tutores

VI.6.2 Recursos físicos:

- Colegio Helen Keller, Jardín de niños Alfonso Pruneda y Jardín de Niños Freire
- Laboratorio Microbiología General de la Carrera de Química Farmacéutica Biológica de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, de la Universidad Nacional Autónoma de México.

VI.6.3 Recursos materiales:

- Probiótico con *L. reuteri* DSM17938 (BioGaia®)
- Cepas de *Streptococcus mutans*
- Cepas de *Lactobacillus*
- Ácido ascórbico
- Cloruro de benzalconio (Antibenzil®)
- Hipoclorito
- Agar mitis salivarius
- Agar rogosa

- Pastillas reveladoras de biopelícula GUM® Red-Cote®
- Medio de transporte Stuart COPAN Transystem®
- Tiras indicadoras de pH MERCK®
- Anaerocult® A MERCK
- Cajas Petri de plástico 100x15mm SYM Laboratorios®
- Asas calibradas 1 µl BD DIFCO®
- Asa no calibrada HYLA®
- Micro tubo para centrifuga Eppendorf™®
- Tubos de ensayo
- Probeta 100mL
- Jarra anaerobia BD Gaspak®
- Gradilla
- Mechero Fisher
- Tripie
- Autoclave
- Estufa de cultivo bacteriológico
- Masking tape, cinta teflón
- Encendedor
- Marcador negro indeleble, bolígrafo, papel kraft
- Abatelenguas, guantes, cubrebocas
- Bata, lentes de protección
- Franela, toallas de papel, rociador, jabón, esponja, escobilla de laboratorio
- Libreta de apuntes, computadora, cámara fotográfica

VI.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para esta investigación los datos fueron incluidos en el paquete estadístico SPSS versión 19.0. Los datos se analizaron calculando medidas descriptivas (media y desviación estándar) y ANOVA de medidas repetidas con DHS de Tukey como prueba posthoc.

También se determinaron las frecuencias y porcentajes por medio de la prueba χ^2 y Prueba de Friedman. Para todas las pruebas se consideró un valor de $p \leq 0.05$ como significancia estadística.

VI.8 ASPECTOS ÉTICOS Y LEGALES

La investigación se cumplió conforme los principios y valores bioéticos de la Declaración de Helsinki.¹⁰⁹

Asimismo, este estudio fue ejecutado de acuerdo a los lineamientos de la Ley General de Salud, así como la normativa estipulada en la Norma Oficial Mexicana NOM-013-SSA2-2015 para la prevención y control de enfermedades bucales y la Norma Oficial Mexicana NOM-031-SSA2-1999 para la atención a la salud del niño.

110-112

De igual modo se cumplió la normativa vigente acorde a la Guía de cumplimiento de la NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002 y se desarrolló de acuerdo al Reglamento interno de higiene y seguridad de la Carrera de Química Farmacéutico Biológica, de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM, que establecen los lineamientos para la separación, envasado, almacenamiento, recolección, transporte, tratamiento y disposición final de los Residuos Peligrosos Biológico Infecciosos – RPBI.¹¹³⁻¹¹⁴

VII. RESULTADOS

La muestra de estudio estuvo conformada por 30 preescolares de 3 a 5 años de edad, 30% (n=9) del género femenino y 70% (n=21) del masculino. En el Cuadro VII.1 se presentan sus características, mostrando que no hubo diferencia significativa entre grupos.

Con relación al índice ceod por grupo de estudio, se observó un aumento en los grupos control (A) (basal, $0.5 \pm .8$ vs. post tratamiento, $1.1 \pm .8$), experimental (B) (basal, $0.2 \pm .6$ vs. post tratamiento 1.2 ± 1.0) y placebo (C) (basal, 0.8 ± 1.1 vs. post tratamiento $1.6 \pm .8$), después de tres meses de tratamiento, aunque las diferencias no fueron estadísticamente significativas. (Cuadro VII.2). Asimismo, en el Cuadro VII.3 puede advertirse el índice ceod por grupo de edad mostró un incremento, sin embargo de igual modo no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas.

Entre tanto el flujo salival no estimulado por grupo de estudio permaneció sin variaciones significativas durante la administración del tratamiento, de acuerdo a la prueba de ANOVA de medidas repetidas como post hoc DHS de Tukey con una $p > 0.05$ (Cuadro VII.4), ubicándose dentro de un rango de producción normal oscilando de 0.49 – 1.50 mL/min (Cuadro VII.5).

De igual modo, como puede observarse en el Cuadro VII.6 los resultados del pH salival no estimulado por grupo de estudio presentaron una mínima variabilidad

durante la intervención, con un rango de 5.98 a 7.21, ubicándose mayoritariamente dentro de un parámetro de pH alcalino (Cuadro VII.7).

En cuanto al Índice O'Leary, se observó una disminución en el grupo B (basal, 23 ± 9 vs. post tratamiento 22.1 ± 7.5) en comparación con los grupos A y C, no obstante no se mostraron diferencias significativas en los tres grupos de estudio (Cuadro VII.8). Con relación a los parámetros de índice O'Leary en los tres grupos de estudio, los valores obtenidos se ubicaron mayoritariamente dentro del parámetro *Cuestionable* durante el transcurso de la intervención, sin encontrarse significancia estadística según la Prueba de Friedman con una $p > 0.05$ (Cuadro VII.9).

Respecto a las UFC/ μ L de *Streptococcus mutans* en saliva se observó una disminución estadísticamente significativa en el grupo B (basal, 8043.00 ± 2504.64 vs. post tratamiento, 7522.75 ± 1986.62 , $p < 0.05$) (Ver Figura No.7). Por otra parte, podemos advertir que los parámetros de UFC/ μ L de *Streptococcus mutans* en saliva de los tres grupos de estudio se mantuvieron constantemente en un recuento alto durante toda la intervención, con un rango de 5×10^6 y 1×10^7 , teniendo un valor máximo de 12,926.63 UFC/ μ L y un valor mínimo de 3473.53 UFC/ μ L. (Cuadros VII.10 y VII.11).

En el Cuadro VII.12 se apreció una disminución estadísticamente significativa de UFC/hisopo de *Lactobacillus* en biopelícula dental en el grupo C (basal, 106.30 ± 178.69 vs. post tratamiento, 68.80 ± 108.50 , $p < 0.05$), asimismo se observó un

aumento estadísticamente significativo en el grupo B (basal, 369.90 ± 447.63 vs. post tratamiento, 1534.00 ± 1645.18 , $p < 0.05$) después de 3 meses de tratamiento. (Ver Figura 8). Los valores de tres grupos de estudio oscilaron en un rango de 10^0 - 10^6 de UFC/hisopo, teniendo un valor máximo de 1,598 UFC/hisopo y un valor mínimo de 2UFC/hisopo, ubicándose principalmente dentro de un parámetro de recuento bajo. (Cuadro VII.13).

Cuadro VII.1. Características de la población de estudio

	Grupo A n=10	Grupo B n=10	Grupo C n=10
Sexo			
Femenino	2(20%)	2(20%)	5(50%)
Masculino	8(80%)	8(80%)	5(50%)
Edad			
3 años	0(0%)	1(10%)	0(0%)
4 años	5(50%)	6(60%)	5(50%)
5 años	5(50%)	3(30%)	5(50%)

Grupo A (control n=10) Grupo B (Tx probióticos n=10), Grupo C (Tx placebo n=10)
Los datos presentan frecuencias y porcentajes. Prueba de Friedman, $p>0.05$

Cuadro VII.2. Índice de ceod por grupo de estudio.

		TIEMPO		
		Basal	2 meses	3 meses
	Grupo A	0.50 ± .850	1.00 ± .943	1.10 ± .876
Índice ceod	Grupo B	0.20 ± .632	0.40 ± .843	1.20 ± 1.033
	Grupo C	0.80 ± 1.135	0.90 ± 1.101	1.60 ± .843

Grupo A (control n=10) Grupo B (Tx probióticos n=10), Grupo C (Tx placebo n=10)
Los datos presentan el valor promedio ± DE.
ANOVA de medidas repetidas. Prueba Post hoc DHS de Tukey , p>0.0.5

Cuadro VII.3. Índice de ceod por grupo de edad

		TIEMPO		
		Basal	2 meses	3 meses
	3 años	00±0	00±0	1.00±0
Índice ceod	4 años	0.25±.68	0.69±.94	1.06±.85
	5 años	.85±1.06	.92±1.03	1.62±.96

Los datos presentan el valor promedio ± DE.
ANOVA de medidas repetidas. Prueba Post hoc DHS de Tukey , p>0.0.5

Cuadro VII.4. Tasa de flujo salival no estimulado por grupo de estudio.

		TIEMPO		
		Basal	2 meses	3 meses
Tasa de Flujo salival no estimulado	Grupo A	0.75 ± 0.26	0.72 ± 0.33	0.77 ± 0.18
	Grupo B	1.04 ± 0.55	0.85 ± 0.65	1.02 ± 0.55
	Grupo C	0.77 ± 0.21	0.88 ± 0.64	0.90 ± 0.24

Grupo A (control n=10) Grupo B (Tx probióticos n=10), Grupo C (Tx placebo n=10)

Los datos presentan el valor promedio ± DE.

ANOVA de medidas repetidas. Prueba Post hoc DHS de Tukey , p>0.05

Cuadro VII.5. Parámetros de Tasa de flujo salival no estimulado por grupo de estudio.

		TIEMPO		
		Basal	2 meses	3 meses
Parámetros de Tasa de Flujo salival no estimulado	Grupo A			
	Producción normal	10(100%)	10(100%)	10(100%)
	Producción baja	0(0%)	0(0%)	0(0%)
	Grupo B			
	Producción normal	10(100%)	10(100%)	10(100%)
	Producción baja	0(0%)	0(0%)	0(0%)
	Grupo C			
	Producción normal	10(100%)	10(100%)	10(100%)
	Producción baja	0(0%)	0(0%)	0(0%)

Grupo A (control n=10) Grupo B (Tx probióticos n=10), Grupo C (Tx placebo n=10)

Los datos presentan frecuencias y porcentajes. Prueba de Friedman, p >0.05

Cuadro VII.6. pH de saliva no estimulada por grupo de estudio.

		TIEMPO		
		Basal	2 meses	3 meses
<i>pH de saliva no estimulada</i>	Grupo A	6.6 ± 0.51	6.6 ± 0.51	6.6 ± 0.51
	Grupo B	6.8 ± 0.42	6.7 ± 0.48	6.9 ± 0.31
	Grupo C	6.8 ± 0.42	6.7 ± 0.48	6.5 ± 0.52

Grupo A (control n=10) Grupo B (Tx probióticos n=10), Grupo C (Tx placebo n=10)
 Los datos presentan el valor promedio ± DE.
 ANOVA de medidas repetidas. Prueba Post hoc DHS de Tukey , p>0.05

Cuadro VII.7. Parámetros de pH de saliva no estimulada por grupo de estudio.

		TIEMPO			
		Basal	2 meses	3 meses	
<i>Parámetros de pH de saliva no estimulada</i>	Grupo A				
		pH alcalino	6(60%)	6(60%)	6(60%)
		pH ácido	4(40%)	4(40%)	4(40%)
	Grupo B				
		pH alcalino	8(80%)	7(70%)	9(90%)
		pH ácido	2(20%)	3(30%)	1(10%)
	Grupo C				
		pH alcalino	8(80%)	7(70%)	5(50%)
		pH ácido	2(20%)	3(30%)	5(50%)

Grupo A (control n=10) Grupo B (Tx probióticos n=10), Grupo C (Tx placebo n=10)
 Los datos presentan frecuencias y porcentajes. Prueba de Friedman, p >0.05

Cuadro VII.8. Índice O’Leary por grupo de estudio.

		TIEMPO		
		Basal	2 meses	3 meses
Índice O’Leary	Grupo A	18.8 ± 8.1	21.4 ± 7.6	23.0 ± 5.5
	Grupo B	23 ± 9.5	23.3 ± 10.8	22.1 ± 7.5
	Grupo C	21.5 ± 8.7	23.7 ± 7.6	21.7 ± 5.8

Grupo A (control n=10) Grupo B (Tx probióticos n=10), Grupo C (Tx placebo n=10)
 Los datos presentan el valor promedio ± DE.
 ANOVA de medidas repetidas. Prueba Post hoc DHS de Tukey , p>0.05

Cuadro VII.9. Parámetros de Índice O’Leary por grupo de estudio.

		TIEMPO		
		Basal	2 meses	3 meses
Parámetros de Índice O’Leary	Grupo A			
	Aceptable	2 (20%)	1(10%)	1(10%)
	Cuestionable	6 (60%)	6(60%)	4(40%)
	Deficiente	2(20%)	3(30%)	5(50%)
	Grupo B			
	Aceptable	1 (10%)	1(10%)	10(10%)
	Cuestionable	6(60%)	6(60%)	70(70%)
	Deficiente	3(30%)	3(30%)	20(20%)
	Grupo C			
	Aceptable	1 (10%)	2(20%)	2(20%)
	Cuestionable	7(70%)	7(70%)	7(70%)
	Deficiente	2(20%)	1(10%)	1(10%)

Grupo A (control n=10) Grupo B (Tx probióticos n=10), Grupo C (Tx placebo n=10)
 Los datos presentan frecuencias y porcentajes. Prueba de Friedman, p >0.05

Cuadro VII.10. Promedio de UFC/ μ L de *Streptococcus mutans* en saliva por grupo de estudio.

		TIEMPO		
		Basal	2 meses	3 meses
UFC/μL de <i>Streptococcus mutans</i>	Grupo A	9543.50 \pm 2964.06	8471.00 \pm 2516.42	9109.00 \pm 2064.48
	Grupo B	8043.00 \pm 2504.64	5392.25 \pm 3034.16	7522.75 \pm 1986.62*
	Grupo C	9811.25 \pm 3115.38	7142.25 \pm 3668.72	7571.13 \pm 2113.76

Grupo A (control n=10) Grupo B (Tx probióticos n=10) Grupo C (Tx placebo n=10)

Los datos presentan el valor promedio \pm DE.

Gpo control vs Gpo experimental. ANOVA de medidas repetidas. Prueba Post hoc DHS de Tukey * p<0.05

Cuadro VII.11. Parámetros de UFC/ μ l de *Streptococcus mutans* en saliva por grupo de estudio.

		TIEMPO		
		Basal	2 meses	3 meses
Grupo A				
	Recuento bajo	10(100%)	10(100%)	10(100%)
	Recuento alto	0(0%)	0(0%)	0(0%)
Parámetros de UFC/μl de <i>Streptococcus mutans</i> en saliva	Grupo B			
	Recuento bajo	9(90%)	9(90%)	8(80%)
	Recuento alto	1(10%)	1(10%)	2(20%)
	Grupo C			
	Recuento bajo	10(100%)	10(100%)	10(100%)
	Recuento alto	0(0%)	(0%)	0(0%)

Grupo A (control n=10) Grupo B (Tx probióticos n=10), Grupo C (Tx placebo n=10)

Los datos presentan frecuencias y porcentajes. Prueba de Friedman, p >0.05

Cuadro VII.12. Recuento de UFC/hisopo de *Lactobacillus* en biopelícula dental por grupo de estudio.

		TIEMPO		
		Basal	2 meses	3 meses
UFC /hisopo de <i>Lactobacillus</i> en biopelícula dental	Grupo A	176.10 ± 217.85	245.10 ± 321.36	89.50 ± 109.14
	Grupo B	369.90 ± 447.63	377.30 ± 393.98	1534.00 ± 1645.18*
	Grupo C	106.30 ± 178.69	35.40 ± 49.85	68.80 ± 108.504†

Grupo A (control n=10) Grupo B (Tx probióticos n=10), Grupo C (Tx placebo n=10)

Los datos presentan el valor promedio ± DE.

Gpo control vs Gpo experimental. ANOVA de medidas repetidas. Prueba Post hoc DHS de Tukey * p<0.05,

Gpo experimental vs Gpo Placebo. ANOVA de medidas repetidas. Prueba Post hoc DHS de Tukey †p<0.05,

Cuadro VII.13. Parámetros de UFC/ µl de *Lactobacillus* en biopelícula dental por grupo de estudio.

		TIEMPO		
		Basal	2 meses	3 meses
UFC /µl de <i>Lactobacillus</i> en biopelícula dental	Grupo A			
	Recuento bajo	6(60%)	6(60%)	6(60%)
	Recuento alto	4(40%)	4(40%)	4(40%)
	Grupo B			
	Recuento bajo	8(80%)	7(70%)	9(90%)
	Recuento alto	2(20%)	3(30%)	1(10%)
	Grupo C			
	Recuento bajo	8(80%)	7(70%)	5(50%)
	Recuento alto	2(20%)	3(30%)	5(50%)

Grupo A (control n=10) Grupo B (Tx probióticos n=10), Grupo C (Tx placebo n=10)

Los datos presentan frecuencias y porcentajes. Prueba de Friedman, p >0.05

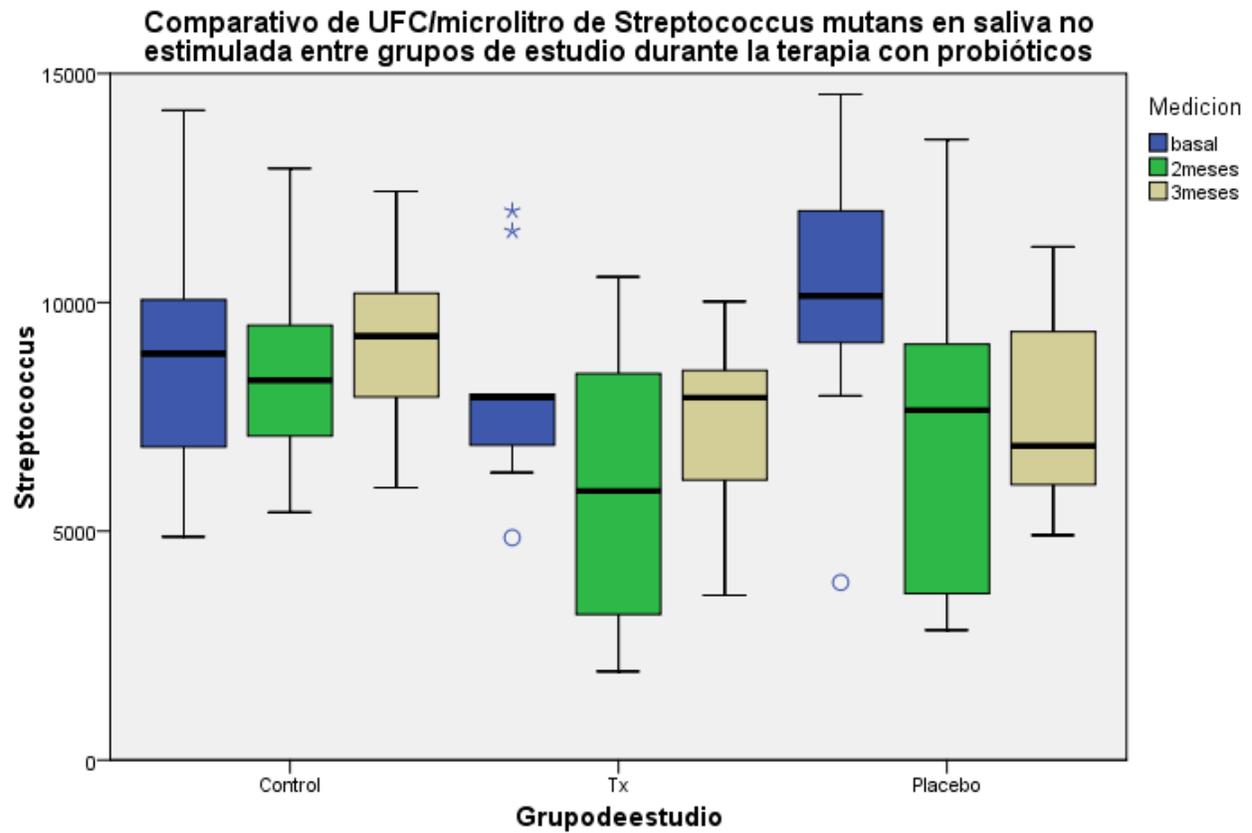


Figura 3. Comparativo de UFC/ μ L de *Streptococcus mutans* en saliva no estimulada entre grupos de estudio durante la terapia con probióticos.

ANOVA de medidas repetidas. Prueba Post hoc DHS de Tukey * $p < 0.05$

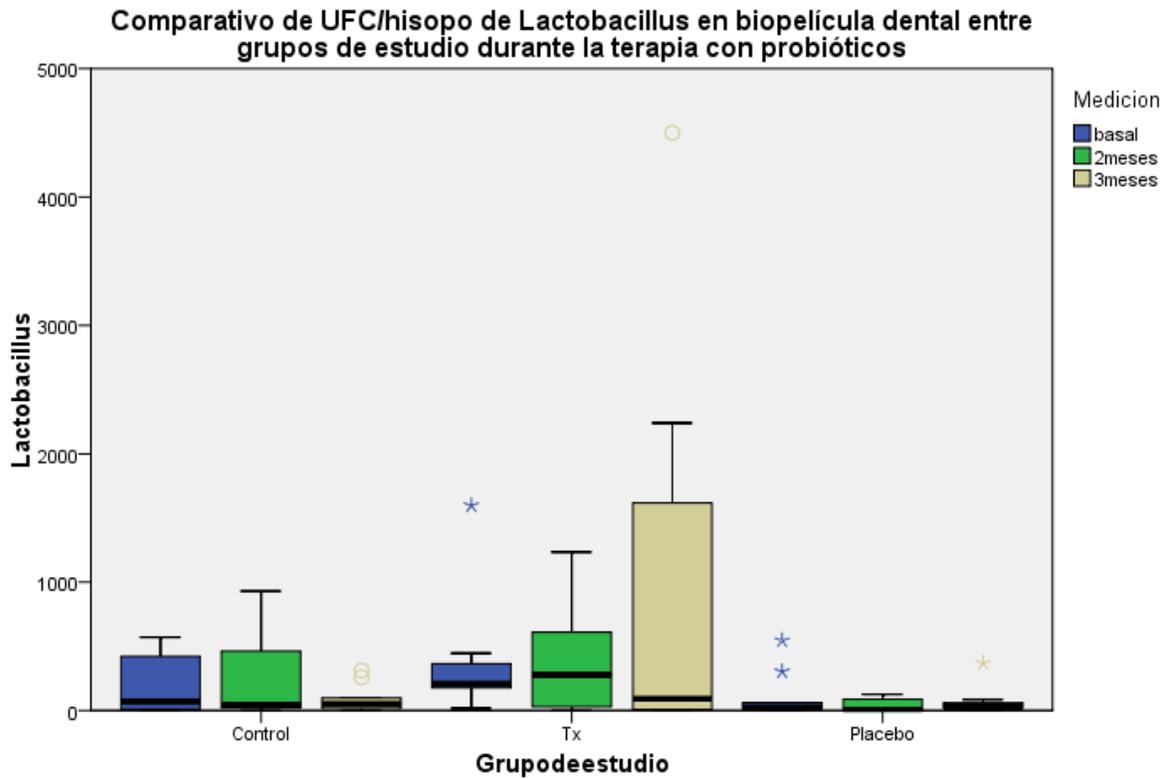


Figura 4. Comparativo de UFC/hisopo de *Lactobacillus* en biopelícula dental entre grupos de estudio durante la terapia con probióticos

ANOVA de medidas repetidas. Prueba Post hoc DHS de Tukey * $p < 0.05$

En las siguientes fotografías se observa el cultivo de las muestras de saliva no estimulada y de biopelícula dental de un paciente del grupo experimental (B), teniendo una comparación pre y postintervención donde se puede observar una sutil disminución de UFC de *Streptococcus mutans* y un incremento de UFC de *Lactobacillus spp.* (Figura 5 -8).

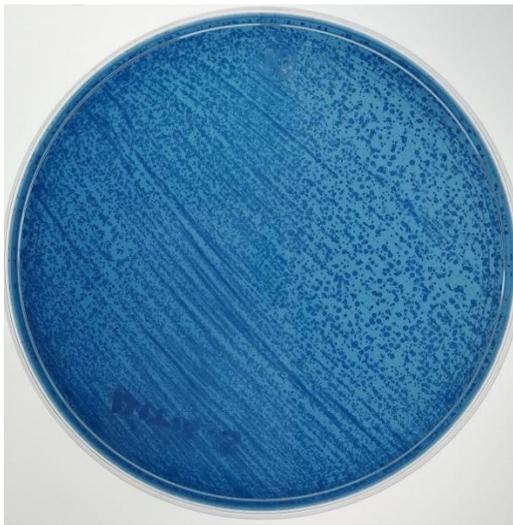


Figura 5. Cultivo inicial de *Streptococcus mutans*

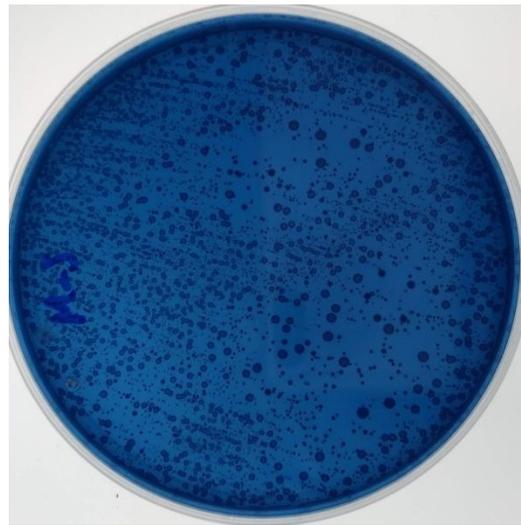


Figura 6. Cultivo final de *Streptococcus mutans*

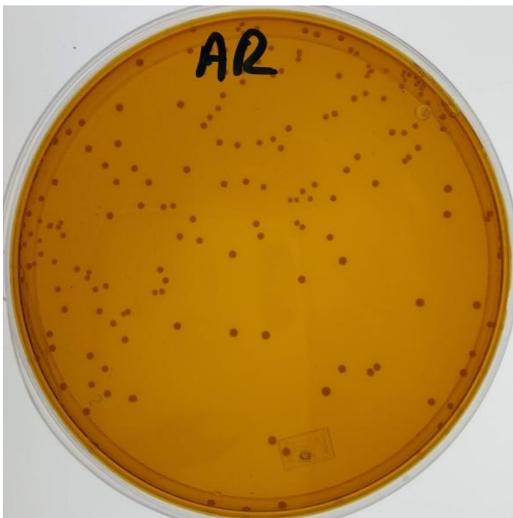


Figura 7. Cultivo inicial de *Lactobacillus spp.*

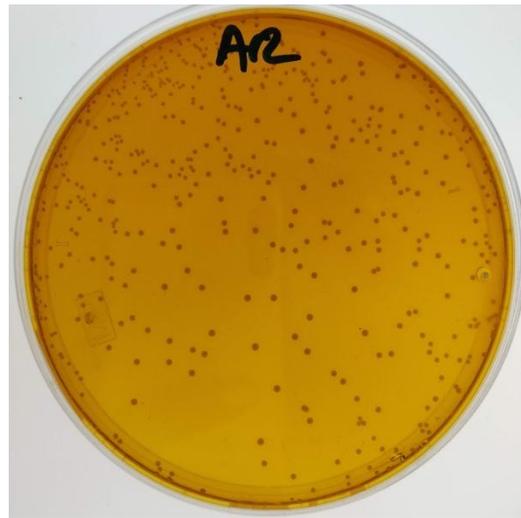


Figura 8. Cultivo final de *Lactobacillus spp.*

VIII. DISCUSIÓN

La caries dental es considerada un problema de salud pública debido a las altas prevalencias reportadas a nivel mundial.¹¹⁵ En México, es una enfermedad que afecta a la población en general y resulta ser alarmantemente frecuente durante la niñez, ya que se ha reportado que 95% de los niños mexicanos menores de seis años de edad presentan esta patología.¹⁰

Según los últimos reportes publicados en 2019 por el Sistema de Vigilancia Epidemiológica en Patologías Bucales (SIVEPAB), en preescolares de 2, 3, 4 y 5 años de edad el índice ceod encontrado fue de 2.7, 4.3, 4.9 y 4.9 respectivamente, cifras compatibles con el rango de valores obtenidos en el presente estudio. Asimismo en niños y niñas de 6, 7, 8, 9 y 10 años fue encontrado un índice CPOD de 4.2, 4.0, 3.6, 3.1 y 3.7 respectivamente, manteniendo un índice cpod promedio de 3.66 en los grupos de edad de 1 a 10 años,¹¹⁶ ratificando de este manera que la prevalencia de caries en preescolares y escolares mexicanos es elevada y que continúa en aumento.

Recientemente la aplicación de diversas estrategias para contrarrestar la incidencia y prevalencia de la caries dental en México ha ganado mayor interés, como es el caso de la terapia con probióticos, obteniendo diversos hallazgos como los del presente estudio, donde se encontró que la ingesta diaria de tabletas con *L. reuteri* DSM17938 BioGaia® durante 3 meses no limitó el desarrollo de nuevas lesiones cariosas en los grupos de estudio, por el contrario demostró un aumento

en el índice ceod, aunque no significativamente relevante. Estos hallazgos son equivalentes a los presentados por Taipale et al. y Hasslöf et al. donde tras el consumo de *Lactobacillus rhamnosus SP1* no se produjo una reducción significativa de caries dental medida a los 4 y 9 años de edad.⁷³ Sin embargo, estos resultados contrastan con lo reportado por Vistoso, quien señaló un control estadísticamente significativo sobre la incidencia de lesiones cariosas en el grupo experimental que consumió leche descremada con 10^7 UFC/gr de *Lactobacillus rhamnosus LRH08*, y aunque no evitó totalmente el desarrollo de nuevas lesiones cariosas; obtuvo un promedio de 14,6% en este grupo contra (24,3%) del grupo control, donde se encontró que el porcentaje de individuos con nuevas lesiones de caries fue mayor luego de los 10 meses de seguimiento⁴¹. Con esta comparación se observa que a pesar de la ingesta de probióticos, la multifactoriedad vinculada a la enfermedad dificulta la efectividad de la terapia, posibilitando el desarrollo de caries dental. Además, cabe destacar que aunque el índice ceod aumentó, este indicador no puede considerarse como detector y evaluador determinante, ya que no indica el estado y severidad de las lesiones cariosas, disponiendo de una sensibilidad y especificidad diferentes en relación a otros indicadores.

Con relación a los resultados del índice O'Leary, no encontramos diferencias estadísticamente significativas; sin embargo se registró una sutil disminución en los valores promedio. Este hallazgo es semejante en un estudio de Villavicencio et al. en 2013, donde el consumo diario de 200mL de leche suplementada con probióticos por 5 días durante 9 meses disminuyó levemente los niveles de biopelícula dental, aunque de igual modo esta variación no resultó

estadísticamente relevante.⁷² En consecuencia, nuestros resultados podrían sugerir que la administración de *L. reuteri DSM17938* no debería descartarse como medida coadyuvante en el control de la biopelícula dental.

Respecto al flujo salival no estimulado, los resultados evidencian una tasa de flujo salival adecuada y sin variaciones relevantes >0.3 mL/min en preescolares de 3 a 5 años de edad. Este efecto coincide con un estudio presentado por Cogulu et al. en 2010, quienes administraron 100-200 mL de Kefir con varias cepas probióticas durante 3 semanas en 104 sujetos de 20 a 27 años de edad ⁶; con esta comparación podemos sugerir que el consumo de probióticos no influye en la producción de flujo salival en reposo tanto en niños como en adultos jóvenes.

Similar a lo reportado en otros estudios, el pH salival de la muestra de estudio se mantuvo constante, sin cambios significativos, resultado concordante al estudio de Nishihara et al. en 2014, donde se evaluó el consumo de comprimidos que contenían *L. salivarius WB21* o *L. salivarius TI 2711* en 64 sujetos durante dos semanas, hallando un flujo y pH salival sin diferencias significativas.^{6,76} Mientras que en un estudio presentado por Srivastava et al. en 2016, se reportó que el consumo 100mL de yogurt con cepas probióticas 1 vez al día durante siete días mostró un aumento significativo en el pH salival en comparación con el yogurt normal.⁷⁸ De esta manera podemos inferir que a pesar de que nuestros resultados no demuestren variaciones significativas en el pH de la secreción salival no estimulada según el tratamiento aplicado a los grupos de estudio, se ignora si realmente el consumo de *L. reuteri DSM17938* podría influir o no de manera infalible en el pH, volumen, capacidad Buffer, flúor salival u otras características

salivales. De igual modo se desconoce la influencia de la terapia con probióticos sobre perfiles salivales completos en individuos de diferentes grupos de edad.

Asimismo, los resultados de esta investigación mostraron una disminución significativa en la densidad poblacional de *Streptococcus mutans*. Resultados similares son reportados por Ashwin et al. en 2015, quienes señalaron una reducción estadísticamente significativa de *Streptococcus mutans* después de la ingestión de 1 helado con cepas probióticas una vez al día durante siete días.⁸¹

Aunado a esto, un estudio de Velasco¹¹⁷ mostró de igual modo una reducción estadísticamente significativa de *Streptococcus mutans* tras el consumo de 20mL de yogurt diarios con *Bifidobacterium bifidus* por 20 días.

Otro dato del análisis importante de señalar consiste en los altos recuentos de *Streptococcus mutans* ($\geq 10^5$ UFC/mL) en saliva que presentaron los sujetos de nuestro estudio al inicio, durante y al finalizar el tratamiento; resultados equiparables a los presentados en un estudio por Toiviainen et al.⁸², donde se observó que al inicio de la intervención todos los sujetos del estudio albergaron *Streptococcus mutans* en su saliva, además la mayoría de estos, tanto del grupo probiótico como del grupo control presentaron recuentos altos de *Streptococcus mutans* salival $\geq 10^5$ UFC /mL.; valores que se mantuvieron constantes después del consumo de pastillas con *Lactobacillus rhamnosus* GG y *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* BB-12; insinuando un riesgo elevado y latente para el desarrollo de caries dental.

Por otra parte, los *Lactobacillus spp.* mostraron de igual manera un cambio estadísticamente significativo, y aunque presentaron un aumento de UFC tras la intervención, permanecieron dentro de un parámetro de recuento bajo. Estos resultados son similares al estudio presentado por Montalto et al. en 2004, donde se halló que los niveles de *Lactobacillus* aumentaron significativamente tras la ingesta de probióticos, tanto en cápsulas como en forma líquida, aunque las poblaciones de *Streptococcus mutans* no fueron modificadas significativamente.⁷¹ Es por ello que el aumento en los recuentos de *Lactobacillus* puede indicar la necesidad de monitorizar de cerca la salud dental de los pacientes que se someten a un tratamiento de probióticos a largo plazo.¹⁰³

En este sentido los hallazgos del presente estudio sugieren que la administración oral del probiótico *L. reuteri DSM 17938* no causa modificaciones considerables en todos los predictores de riesgo relacionados con el desarrollo de caries dental analizados durante la intervención, al menos durante su administración a corto plazo, no obstante, existe una serie de factores que pueden contribuir o explicar los resultados parcialmente divergentes.

Dentro de estos factores se ubica la cantidad de cepas o especies empleadas, puesto que en el presente estudio se utilizó una cepa única en lugar de un conjunto de especies o cepas, variante que podría generar un efecto reducido. Asimismo, el mantenimiento de la viabilidad de UFC de la presentación medicamentosa empleada en nuestro estudio, confirmó resultar aceptable y efectiva, similar a la vida útil de otros alimentos funcionales como los productos lácteos refrigerados.^{60,62} Hedayati- Hajikand et al., Campus et al., Holz et al., y

Dhawan et al., Burton et al. y Cortés et al. reafirman este concepto, ya que realizaron estudios con resultados similares donde la suplementación con probióticos se realizó a través de tabletas/pastillas resultando efectiva sobre determinados predictores de riesgo relacionados con la caries dental y mostrando cambios estadísticamente significativos,^{74, 84, 85, 87-89}

El periodo de ingesta también puede correlacionarse con los resultados. En este contexto nuestros hallazgos pueden ser de interés ya que el periodo de intervención establecido a 3 meses obtuvo resultados parcialmente favorables, semejantes al estudio presentado por Burton et al,⁸⁸ además de mostrar un intervalo de tiempo mucho mayor que otros estudios recientes;^{78,80-87,89} sin embargo resulta ineludible que una proyección a mayor plazo resultaría conveniente.

Otro factor que pudo haber influido en el sesgo de los resultados es la abstención de cambios en los hábitos alimenticios o de higiene oral, ya que a pesar de ser altamente determinante, permitió evidenciar resultados parcialmente favorecedores. Estos resultados son similares al estudio presentado por Toiviainen et al., donde los sujetos participantes debían mantener su cepillado dental normal y hábitos alimenticios tras la ingesta de pastillas con *L. rhamnosus* GG ATCC 53103 y *B. lactis* BB-12 DSM15954 durante 4 semanas; donde se observó una disminución relevante del índice de biopelícula e inflamación gingival, sin embargo no se consiguió una diferencia estadísticamente significativa en la disminución del nivel de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus*.⁸²

Por último consideramos relevante señalar que nuestros resultados están ineludiblemente asociados a la sensibilidad y especificidad de los indicadores de riesgo empleados: los Índices ceod y O'Leary, cuya sensibilidad y especificidad oscilan en un 70-90% respectivamente; además se vinculan a preescolares sanos, cuyas prácticas de alimentación e higiene pueden variar entre los grupos étnicos y culturales a los que pertenecen, influenciados por factores como la ubicación geográfica, antecedentes genéticos, raza, costumbres sociales, relaciones interpersonales o estado socioeconómico.

IX. CONCLUSIONES

Hipótesis

*Considerando los estudios sobre el efecto positivo de la suplementación con probióticos en la prevalencia y predictores de riesgo de caries dental en humanos, suponemos que el consumo del probiótico *L. reuteri* DSM 17938 BioGaia®, ayudará a prevenir la caries dental en una población de preescolares, mostrando un efecto eficiente sobre determinados predictores de riesgo de caries dental; controlando la experiencia de caries dental, flujo y pH salival no estimulado, además de una disminución significativa en la presencia de biopelícula dental y recuento de *Streptococcus mutans* en saliva y *Lactobacillus* en biopelícula dental, en comparación con los grupos que no reciban dicho tratamiento.*

Conclusiones

- Se demostró que el consumo regular a corto plazo del probiótico *L. reuteri* DSM 17938 BioGaia® es efectivo en el mantenimiento de la salud oral en una población de preescolares, induciendo efectos de control sobre la biopelícula dental y disminución y recuento de UFC de *Streptococcus mutans*.

- El índice ceod incrementó después de la intervención, aunque el estado o severidad de las lesiones cariosas, no fue determinado.
- Nuestros hallazgos sugieren que la ingesta regular a corto plazo de esta cepa probiótica puede inducir el incremento en el recuento de UFC de *Lactobacillus spp.*, sin exponer efecto alguno sobre el pH y flujo salival no estimulado.
- Se secunda el uso de la terapia con probióticos a través de la cepa probiótica *L. reuteri DSM 17938 BioGaia®* como medida coadyuvante para prevenir el riesgo asociado a caries dental, ya que se observó puede influir en determinados predictores de riesgo esenciales en la prevención de esta patología.

X. LIMITACIONES

Dentro de las limitaciones del presente estudio estriba la dificultad para acceder a los infantes, ya que los padres o tutores legales suelen objetar su participación en este tipo de estudios a pesar de que no existe un riesgo para la salud de los participantes invitados, asimismo el marco jurídico de los Servicios educativos incorporados al Estado de México es riguroso de modo que la autorización y aprobación de licencias puede resultar enrevesada. Otro inconveniente fue el costo del estudio a largo plazo, ya que no permitió un seguimiento y proyección durante un periodo de tiempo mayor además de incidir en el tamaño de la muestra.

Por otra parte, las pruebas diagnósticas para el aislamiento, conteo y tipificación del *Streptococcus mutans* empleadas en nuestro estudio poseen ciertas limitaciones y pueden resultar dispendiosos. Asimismo, cabe mencionar la dificultad para evaluar la adherencia al tratamiento de un modo preciso y certero, ya que durante los días inhábiles y fines de semana el registro fue realizado por los padres/tutores de los preescolares, reduciendo así la fiabilidad de los resultados

XI. PERSPECTIVAS

Desde un panorama actual y moderno que engloba los recientes descubrimientos sobre la metagenómica y el microbioma humano, así como el empleo de los últimos avances tecnológicos en diferentes ciencias de la salud; se ha llegado a proponer que un mayor conocimiento del complejo sistema microbiano así como sus interacciones con el huésped podrían resultar vitales en el entendimiento de su rol en la salud humana y la enfermedad, siendo el primer paso para el diseño de estrategias preventivas para combatir múltiples enfermedades polimicrobianas como la caries dental.

Bajo esta perspectiva herramientas diagnósticas y terapéuticas como la terapia con Probióticos siguen analizándose, enunciando resultados prometedores como método preventivo y coadyuvante en diversas condiciones bucodentales, sin embargo, a pesar de que esta estrategia es emanada y respaldada por un vasto marco internacional, debe ser previamente ajustada y acreditada dentro del entorno mexicano, adoptando un marco reglamentario para su uso, rastreo, comercialización y manejo aplicable a cada población en particular.

Ante esta realidad y pese a que los estudios in vitro y clínicos siguen aumentando dentro todo el país, la evidencia mostrada hoy en día sigue siendo insuficiente, proyectando diversas interrogantes en torno a su empleo. Por ende, existe un amplio camino por recorrer en esta materia, ya que hoy por hoy, estos hallazgos

no son idóneos para amparar y recomendar totalmente su uso, manteniendo la expectativa de resultar una terapia relevante para la población mexicana.

Evidentemente podemos considerar que esta alternativa podría resultar relevante en un futuro no lejano; inclusive podría incluirse como una estrategia más de salud bucal promulgada en el país, de factible acceso y producción, implementada en facultades de Odontología, instituciones de salud pública y práctica privada, formando parte de una educación preventiva y eficaz para la población; ya que en México, los principales retos de la salud oral son mejorar las condiciones bucales de la población e incrementar la capacidad de respuesta y calidad en los servicios de salud, buscando consolidar acciones de promoción y prevención hacia los grupos más vulnerables como los infantes, ya que en los últimos años se ha reportado que la experiencia de enfermedades bucodentales en el entorno mexicano moderno no dejar de ser alta.

Sin lugar a dudas, esta terapia vislumbra un papel prometedor en la prevención de patologías bucales como la caries dental, por consiguiente, no puede resultar inadvertida, visualizándose como un enfoque novedoso y trascendente para las Ciencias Odontológicas, particularmente la Odontopediatría, ganando cada día mayor interés y un sólido respaldo científico.

XII.PROPUUESTAS

Existen diversas condiciones inherentes que podrían ser consideradas para subsiguientes estudios, surgiendo así nuevas sendas de investigación, por ejemplo, el empleo de otra especie o cepa probiótica o inclusive la conjugación de éstas podría resultar fructífera en vista de que la caries dental es una enfermedad polimicrobiana, por lo tanto el uso de una sola especie o cepa podría lograr un efecto reducido, además, la vastedad de especies probióticas permite un amplio sesgo de posibilidades terapéuticas. De igual modo, teniendo en cuenta los resultados obtenidos, podría considerarse la modificación del vehículo, presentación medicinal o comercial, así como un aumento en la concentración de UFC, que podría traducirse en un progreso de los resultados actualmente promisorios.

Asimismo, la terapia con probióticos podría aplicarse a grupos étnicos, de edad o ubicación geográfica diferentes, recordando siempre las pautas principales en torno a su empleo.

Incluso junto con la participación y colaboración de organizaciones nacionales públicas y privadas, podrían financiarse ensayos clínicos controlados de mayor escala y duración que permitan obtener evidencia sistemática más precisa, ayudando a esclarecer la eficacia y funcionamiento de esta terapia. Igualmente, cabe señalar que el estudiante-investigador puede participar y hacer uso de becas

de apoyo complementario a través de diversas instituciones como la UNAM, COMECYT y CONACYT en caso de no contar con las herramientas necesarias para la realización de trabajos de investigación como el presente estudio.

También puede ser posible la integración de mejoras en los hábitos de dieta e higiene oral durante el tratamiento con cepas probióticas, ya que algunos estudios sugieren un aumento en la efectividad de la terapia con probióticos cuando se aplica de manera simultánea con agentes quimioprolácticos o cambios en la alimentación.

Por último, el empleo de otros indicadores de riesgo con mayor sensibilidad y especificidad como el ICDAS, y la adición o aplicación de modernas herramientas metagenómicas como la prueba PCR o la secuenciación de ADN o ARNr lograría obtener perfiles bioquímicos de *Streptococcus mutans* más detallados y puntuales, adjudicando mayor profundidad y rigor científico a los resultados.

Por lo tanto, se exhorta a realizar más investigaciones a nivel nacional, tomando en cuenta las propuestas anteriormente mencionadas, ya que existe un arduo camino por recorrer en esta materia, demandando mayor investigación clínica que permita respaldar o refutar completamente su recomendación y uso con toda seguridad, para que resultados como los del presente estudio y de futuras intervenciones sean útiles y permitan dilucidar la aplicación de la terapia con probióticos como medida innovadora para la prevención de caries dental en la población mexicana.

XIII.REFERENCIAS

1. Pérez A. Estudio de la relación entre el recuento salival de cepas de Lactobacillus SP. y el índice COPD en adultos. Tesis para obtener el grado de Cirujano Dentista. Chile. Universidad de Talca. 2004. p.12.
2. González AM, González BA, González E. Salud dental: relación entre la caries dental y el consumo de alimentos. Nutrición hospitalaria. 2013; 28(4): 65.
3. Newbrun E. Cariología. México: Editorial Limusa; 1994. p. 39-43.
4. Gamboa FO. Identificación y caracterización microbiológica, fenotípica y genotípica del Streptococcus mutans: experiencias de investigación. Universitas Odontológica. 2014; 33(71): 65-73.
5. Chimenos-Küstner E, Giovannoni ML, Schemel-Suárez M. Disbiosis como factor determinante de enfermedad oral y sistémica: importancia del microbioma. Medicina Clínica. 2017; 149 (7): 305-309. DOI: 10.1016/j.rgmx.2013.04.004. Disponible en: <http://www.revistagastroenterologiamexico.org/es-microbiota-intestinal-salud-enfermedad-articulo-S0375090613001468>
6. Angarita M. Probióticos y su relación con el control de caries. Revisión de tema. Revista de la Facultad de Odontología Universidad de Antioquia. 2016; 28(1): 179-202. DOI: <http://dx.doi.org/10.17533/udea.rfo.v28n1a10>. Disponible en: <http://aprendeonline.udea.edu.co/revistas/index.php/odont/article/view/24941/20783951>
7. Giacaman RA, Muñoz C, Bravo E, Farfán P. Cuantificación de bacterias relacionadas con la caries dental en saliva de adultos y adultos mayores. Rev. Clín. Periodoncia Implantol. Rehabil. Oral. 2013; 6(2): 71-734. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0719-01072013000200004>. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0719-01072013000200004&lng=es&nrm=iso
8. Aguirre AA, Gamarra JC. Nivel de colonización de Streptococcus Mutans en Cavidad Oral de Neonatos según Vía de nacimiento. Oral. 2016; 17 (53): 1341-1345.
9. Teughels W, Quirynen M, Jakubovics N. Capítulo 23. Microbiología periodontal. En: Periodontología Clínica de Carranza. 11ª ed. México: AMOLCA. 2014. p.336-392.

10. Alonso MJ, Karakowsky L. Caries de la infancia temprana. *Perinatología y Reproducción humana*. 2009; 23 (2): 90-97.
11. Teng F, Yang F, Huang S, Bo C, Xu Z, Amir A, Knight R, et al. Prediction of Early Childhood Caries via Spatial-Temporal Variations of Oral Microbiota. *Cell Host & Microbe*. 2015; 18 (3): 296-306. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chom.2015.08.005>. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1931312815003339>
12. Pérez JA, Duque de Estrada J, Hidalgo I. Asociación del *Streptococcus mutans* y lactobacilos con la caries dental en niños. *Rev. Cubana Estomatología*. 2007; 44 (4): 8-21. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072007000400002
13. Kilian M, Hannig M, Marsh PD, Meuric V, Tonetti MS, Zaura E, Wade WG, et al. The oral microbiome - an update for oral healthcare professionals. *British Dental Journal*. 2016; 221(10): 657-666.
14. Tribble GD, Angelov N, Weltman R, Wang BY, Eswaran SV, Gay IC, Parthasarathy K, et al. Frequency of tongue cleaning impacts the human tongue microbiome composition and enterosalivary circulation of nitrate. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2019; 9 (39). DOI: <https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00039>. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6406172/>
15. Casariego ZJ. Inmunología de la mucosa oral: Revisión. *Avances en Odontoestomatología*. 2012; 28(5):239-248.
16. Foglio PL, Rocchetti V, Migliario M, Giannoni M. La halitosis: revisión de la literatura. Primera parte. *Avances en Odontoestomatología*. 2007; 23(6):375-386.
17. Negroni M. Capítulo 6. Crecimiento, nutrición y metabolismo bacteriano. En: Negroni M. *Microbiología estomatológica: Fundamentos y guía práctica*. 2ª ed. Buenos Aires: Médica Panamericana. 2009. p 45- 53.
18. Guarner F. Papel de la flora intestinal en la salud y en la enfermedad. *Nutrición hospitalaria*. 2007; 22(2): 14-19.
19. Sanz M, Beighton D, Curtis MA, Cury J, Dige I, Dommisch H, Ellwood R, et al. Role of microbial biofilms in the maintenance of oral health and in the development of dental caries and periodontal diseases. Consensus report of group 1 of the Joint EFP/ORCA workshop on the boundaries between caries and periodontal disease. *Journal of Clinical Periodontology*. 2017; 44(18): 5-11. DOI: [10.1111/jcpe.12682](https://doi.org/10.1111/jcpe.12682). Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jcpe.12682>

20. Caglar E, Kargul B, Tanboga I. Bacteriotherapy and probiotics' role on oral health. *Oral Diseases*. 2005; 11(3): 131-137.
21. Zambrano MA, Suárez L. Biofilms bacterianos: sus implicaciones en salud y enfermedad. *Universitas Odontológica*. 2006; 25(57):19-25.
22. Wasfi R, Abd El-Rahman OA, Zafer MM, Ashour HM. Probiotic *Lactobacillus* sp. Inhibit growth, biofilm formation and gene expression of caries- inducing *Streptococcus mutans*. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2018; 22(3): 1972-1983. DOI: [10.1111/jcmm.13496](https://doi.org/10.1111/jcmm.13496). Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jcmm.13496>
23. Moreno BJ. Efecto del consumo de leche con suplementos probióticos en la progresión de lesiones de caries en dientes temporales. Tesis para obtener el grado de Cirujano Dentista. Chile. Universidad de Chile. 2015. p.14.
24. García L, Tello G, Álvaro L, Perona G. Caries dental y microbiota. Revisión. *Rev. Cient. Odontol*. 2017; 5(1): 668 – 678.
25. Ojeda JC, Oviedo E, Salas LA. *Streptococcus mutans* and dental caries. *Revista CES Odontología*. 2013; 26(1): 44-56.
26. Figueroa M, Alonso G, Acevedo AM. Microorganismos presentes en las diferentes etapas de la progresión de la lesión de caries dental. *Acta Odontológica Venezolana*. 2009; 47(1): 227-240. Disponible en: <https://www.actaodontologica.com/ediciones/2009/1/art-27>
27. Linossier AC, Valenzuela CY, Soler ER, Contreras EM. Colonización de la cavidad oral por *Streptococcus* grupo mutans, según edad, evaluado en saliva por un método semi-cuantitativo. *Revista chilena de infectología*. 2011; 28(3): 230-237. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182011000300006>. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0716-10182011000300006
28. Hernández C, Meléndez CA, Sandoval ML, Navarro M, Ibarra Y. Niveles de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* spp. En saliva después del consumo de leche con xilitol en niños. *Oral*. 2016; 17 (54): 1370-1373.
29. Simón A, Guillen M, Mira A. Metatranscriptomics reveals overall active bacterial composition in caries lesions. *Journal of oral Microbiology*. 2014; 6(1): 25443. DOI: <http://dx.doi.org/10.3402/jom.v6.25443> Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4247497/>

30. Ahiwar SS, Gupta MK, Gupta G, Singh V. Screening, isolation and identification of Lactobacillus species de dental caries of children. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 2017; 6(1): 497-503. DOI: <http://dx.doi.org/10.20546/ijcmas.2017.601.059>. Disponible en: <https://www.ijcmas.com/abstractview.php?ID=1324&vol=6-1-2017&SNo=59>
31. Martínez MC, Morales SM, Martínez CM. Caries dental en adultos jóvenes en relación con características microbiológicas y fisicoquímicas de la saliva. Rev. Salud Pública. 2013; 15(6): 867-877.
32. Reyes E, Martín J, Yevenes I, Neira M, Palma P, Gordan V, Moncada G. Actividad y efectos de ureasa y arginina deiminasa en saliva y biopelícula oral humana. Rev. Fac. Odontolo Univ Antioq. 2012; 23(2): 343-352.
33. Gómez SI, Barrientos S. Antígenos usados en vacunas contra la caries dental. Rev. Univ. Odontol. 2013; 32(69): 73-82.
34. Téllez GA, Castaño JC. Péptidos antimicrobianos. Revista de Infectología. 2010; 14(1): 55-67.
35. Anusavice KJ. Present and future approaches for the control of caries. Journal of Dental Education. 2005; 69(5): 538-554.
36. Roa NS, Rodríguez A. Inmunidad celular y humoral frente a microorganismos cariogénicos y sus factores de virulencia en caries dental en humanos naturalmente sensibilizados. Universitas Odontológica. 2013; 32(69):61-72.
37. Joaquina L. Caries dental y el primer molar permanente. Gaceta Médica Espirituana. 2015; 17(2): 92-106.
38. Meyer-Lueckel H, Paris S, Ekstrand KR. Manejo de la caries. Ciencia y Práctica clínica. 1ª ed. México. AMOLCA; 2015. p. 157.
39. Gordan VV, Garvan CW, Ottenga ME, Schulte R, Harris PA, McEdward D, Magnusson I. Could alkali production be considered an approach for caries control?. Caries Research. 2010; 44(6): 547-554. DOI: [10.1159/000321139](https://doi.org/10.1159/000321139) Disponible en: <https://www.karger.com/Article/Abstract/321139>
40. Goswami Y, Mishra R, Agrawal LA, Agrawal AP. Probiotics: A review of natural way of treating periodontal diseases. International Journal of Science and Research. 2015; 4(4): 1672-1677.
41. Vistoso AP. Efecto del consumo de leche enriquecida con probióticos lactobacilos, en la incidencia de lesiones de caries en niños preescolares. Tesis para obtener el grado de Cirujano Dentista. Chile. Universidad de Chile. 2013. p.12.

42. Muñoz K, Alarcón M. Efecto de los probióticos en las condiciones periodontales. *Rev.Clin. Periodoncia Implantol. Rehabil. Oral.* 2010; 3(3):136-139.
43. Choudhari S, Mopagar V, Sakhare S, Patil N. Probiotic way of dental caries prevention. *Int. Journal of Contemporary Dentistry.* 2011; 2(1):59-64.
44. FAO, OMS. Probióticos en los alimentos. Propiedades saludables y nutricionales y directrices para la evaluación. Roma: FAO y OMS; 2006. Informe No.:85
45. Fierro C, Aguayo C, Lillo F, Riveros F. Rol de los probióticos como Bacterioterapia en Odontología. Revisión de la literatura. *Odontoestomatología.* 2017; 19(30): 4-13.
46. Twetman S. Are we ready for caries prevention through bacteriotherapy?. *Brazilian oral research.* 2012; 26(1): 64-70.
47. Borrell C. Estudio experimental del uso de *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 y ATCC PTA 5289 sobre índices de salud bucodental en una población escolar. Tesis para obtener el grado de Doctor. España. Universidad Cardenal Herrera-CEU. 2015. p.14, 22.
48. Arribas MB. Probióticos: una nueva estrategia en la modulación del sistema inmune. Tesis para obtener el grado de Doctor en Farmacia. España. Universidad de Granada. 2009. p.31-32.
49. Villanueva R. Probióticos: una alternativa para la industria de alimentos. *Ingeniería Industrial.* 2015; 0(33): 265-275.
50. Armendáriz DI. Impacto de *Lactobacillus casei* Shirota en el desarrollo de *Streptococcus mutans* en pacientes con aparatología ortodóntica. Tesis para obtener el grado de Maestría en Ciencias Odontológicas en el área de Odontopediatría. México. Universidad Autónoma de Nuevo León. 2014. p.20, 22.
51. Cervantes GA. Probióticos y salud humana. Trabajo monográfico de actualización. Tesis para obtener el grado de Químico de alimentos. México. Universidad Nacional Autónoma de México. 2014. p.13-14.
52. Sánchez EA. Efecto inhibitorio de los probióticos: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus reuteri*, sobre el crecimiento in vitro de *Porphyromona gingivalis*, microorganismo predominante en la enfermedad periodontal destructiva crónica. Tesis para obtener el grado de Odontólogo General. Ecuador. Universidad Central del Ecuador. 2016. p.11.

53. Menon AM. Implications of Probiotics on Oral Health: Past to present. Journal of Dental Research and Review. 2016; 3(1): 36-41. DOI: [10.4103/2348-2915.180118](https://doi.org/10.4103/2348-2915.180118). Disponible en: <http://www.jdr.org/article.asp?issn=2348-2915;year=2016;volume=3;issue=1;spage=36;epage=41;aualast=Menon;type=0>
54. Bizzini B, Pizzo G, Scapagnini G, Nuzzo D, Vasto S. Probiotics and Oral Health. Current Pharmaceutical Design. 2012; 18(34): 5522-5531. DOI:[10.2174/138161212803307473](https://doi.org/10.2174/138161212803307473). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22632388>
55. Mendoza K. Situación actual y perspectivas de las aplicaciones de los probióticos en la industria alimentaria y sus efectos en la salud humana. Tesis para obtener el grado de Ingeniero Agroindustrial. Perú. Universidad César Vallejo. 2015. p.9-10.
56. Acharya S. Probiotics: Current knowledge update. International Journal of Pedodontic Rehabilitation. 2016; 1(2):79-83. DOI: 10.4103/2468-8932.196493. Disponible en: <http://www.ijpedor.org/article.asp?issn=2468-8932;year=2016;volume=1;issue=2;spage=79;epage=83;aualast=Acharya>
57. Anusha RL, Umar D, Basheer B, Baroudi K. The magic of magic bugs in oral cavity: Probiotics. Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research. 2015; 6(2): 43-47. DOI: 10.4103/2468-8932.196493. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/311845511_Probiotics_Current_knowledge_update
58. Pandya D. Benefits of Probiotics in oral cavity- A Detailed Review. Annals of International Medical and Dental Research. 2016; 2(5): 10-17. DOI: [10.21276/aimdr.2016.2.5.DE3](https://doi.org/10.21276/aimdr.2016.2.5.DE3). Disponible en: http://www.aimdrjournal.com/pdf/vol2Issue5/DE3_RA_Divya_2_5_46C.pdf
59. Rondon L, Añez RM, Salvatierra A, Meneses RT, Heredia MT. Probióticos: Generalidades. Archivos Venezolanos de Puericultura y Pediatría. 2015; 78(4):123-128.
60. Zuñiga GA. Desarrollo de un helado funcional con adición de prebióticos y bacterias probióticas. Tesis para obtener el grado de Maestra en Gestión de calidad y seguridad alimentaria. Ecuador. Universidad del Azuay. 2017. p.9.
61. Bhat S, Bhat VS, Hedge SK, Palit MC. Intelligent nutrition: Oral health promotion by probiotics. Archives of Medicine and Health Sciences. 2013; 1(2):140-144. DOI: 10.4103/2321-4848.123027. Disponible en: <http://www.amhsjournal.org/article.asp?issn=2321-4848;year=2013;volume=1;issue=2;spage=140;epage=144;aualast=Bhat>

62. Caicedo YM. Estudio de la viabilidad de la incorporación de bacterias probióticas micro encapsuladas en helados. Tesis para obtener el grado de Especialista en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Colombia. Universidad Nacional de Colombia. 2010.p.9
63. Vázquez R. Utilidad de los probióticos en pediatría. Revista Gastrohnutp. 2013; 15(1) supl 2: S60-S65.
64. Román E, Álvarez G. Empleo de probióticos en pediatría. Nutrición hospitalaria. 2013; 28(1): 42-45.
65. Marín ND, Saavedra JS, Zuñiga LF, Salguero C. Los probióticos: microorganismos vivos que previenen enfermedades en adultos y niños. Revista Medicina. 2016; 38(3): 247-263.
66. Medina EA, Espinosa SE, Camacho LC, Carvajal KG. El uso de probióticos y los beneficios sobre el sistema inmune. Revista de Educación Bioquímica. 2014; 33(3): 77-85.
67. Versalovic J. El microbioma humano y los probióticos: implicaciones para la pediatría. Annals of Nutrition and Metabolism. 2013; 63(2): 42-52. DOI: <https://doi.org/10.1159/000354899>. Disponible en: <https://www.karger.com/Article/FullText/354899>
68. Sugunan BN, Nair RC. The promise of Probiotics in dentistry. Archives of Oral Research. 2013; 9(1):61-73. DOI: <http://dx.doi.org/10.7213/archivesoforalresearch.09.001.AR02>. Disponible en: <https://periodicos.pucpr.br/index.php/oralresearch/article/view/23027>
69. Terai T, Okumura T, Imai S, Nakao M, Yamaji K, Ito M, Nagata T, et al. Screening of Probiotic candidates in human oral bacteria for the prevention of dental disease. PloS one. 2015; 10(6):1-20. DOI:10.1371/journal.pone.0128657. Disponible en: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0128657>
70. Pujia AM, Costacurta M, Fortunato L, Merra G, Cascapera S, Calvani M, Gratteri S. The Probiotics in dentistry: a narrative review. European Review for Medical and Pharmacological Sciences. 2017; 21(6): 1405-1412.
71. Jindal G, Pandey RK, Singh RK, Pandey N. Can early exposure to probiotics in children prevent dental caries? A current perspective. Journal of Oral Biology and Craniofacial Research. 2012; 2(2):110-115. DOI: doi: [10.1016/j.jobcr.2012.05.001](https://doi.org/10.1016/j.jobcr.2012.05.001). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3942020/>

72. Villavicencio J, Villegas LM, Arango MC, Arias S, Triana F. Effects of a food enriched with probiotics on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* spp. Salivary counts in preschool children: a cluster randomized trial. *Journal of Applied Oral Science*. 2017; 26(e20170318.): 1-9. DOI: <http://dx.doi.org/10.1590/1678-7757-2017-0318>. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1678-77572018000100454&script=sci_arttext .
73. Rodríguez G, Ruiz B, Faleiros S, Vistoso A, Marró ML, Sánchez J, Urzúa I, et al. Probiotic compared with standard milk for high-caries children: A cluster randomized trial. *Journal of Dental Research*. 2016; 95(4): 402-407. DOI: 10.1177/0022034515623935. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26747421>
74. Hedayati-Hajikand T, Lundberg U, Eldh C, Twetman S. Effect of probiotic chewing tablets on early childhood caries- a randomized controlled trial. *BMC Oral Health*. 2015; 15(1):2-5 DOI: <https://doi.org/10.1186/s12903-015-0096-5>. Disponible en: <https://bmcoralhealth.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12903-015-0096-5>
75. Cagetti MG, Mastroberardino S, Milia E, Cocco F, Lingstrom P, Campus G. The use of probiotic strains in caries prevention: A systematic review. *Nutrients*. 2013; 5(7): 2530-2550. DOI: [10.3390/nu5072530](https://doi.org/10.3390/nu5072530). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23857225>
76. Coqueiro AY, Bonvini A, Raizel R, Tirapegui J, Rogero MM. Probiotic supplementation in dental caries: is it possible to replace conventional treatment?. *Nutrire*. 2018; 43(1):1-9 DOI: <https://doi.org/10.1186/s41110-018-0064-3>. Disponible en: <https://nutrirejournal.biomedcentral.com/articles/10.1186/s41110-018-0064-3>
77. Jorgensen MR, Castiblanco G, Twetman S, Keller MK. Prevention of caries with probiotic bacteria during early childhood. Promising but inconsistent findings. *American Journal of Dentistry*. 2016; 29(3): 127-131.
78. Srivastava S, Saha S, Kumari M, Mohd S. Effect of probiotic curd on salivary pH and *Streptococcus mutans*: A double blind parallel randomized controlled trial. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2016; 10(2):13-16. DOI: [10.7860/JCDR/2016/15530.7178](https://doi.org/10.7860/JCDR/2016/15530.7178). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27042577>
79. Teanpaisan R, Piwat S, Tianviwat S, Sophatha B, Kampoo T. Effect of long-term consumption of *Lactobacillus paracasei* SD1 on reducing Mutans streptococci and caries risk: A randomized Placebo- Controlled Trial. *Dentistry Journal*. 2015; 3(2): 43-54. DOI: [10.3390/dj3020043](https://doi.org/10.3390/dj3020043). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29567924>

80. Deo PN, Deshmukh R. Evaluation of salivary levels of Streptococcus mutans pre-and post- probiotics use. Journal of Advanced Clinical & Research Insights. 2015; 2(3): 112-115.
81. Ashwin D, Ke V, Taranath M, Ramagoni NK, Nara A, Sarpangala M. Effect of Probiotic containing ice-cream on salivary mutans Streptococci (SMS) levels in children of 6-12 years of age: A randomized Controlled double blind study with six-months follow up. Journal of Clinical and Diagnostic Research. 2015; 9(2): 6-9. DOI: [10.7860/JCDR/2015/10942.5532](https://doi.org/10.7860/JCDR/2015/10942.5532). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4378797/>
82. Toiviainen A, Jalasvuori H, Lahti E, Gursoy U, Salminen S, Fontana M, Flannagan S, et al. Impact of orally administered lozenges with *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Bifidobacterium animalis* subsp. *Lactis* BB-12 on the number of salivary mutans streptococci, amount of plaque, gingival inflammation and the oral microbiome in healthy adults. Clinical Oral investigations. 2015; 19(1): 77-83. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00784-014-1221-6>. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24638207>
83. Javid AZ, Amerian E, Basir L, Ekrami A, Haghighi-zadeh MH. Effects of Short-term Consumption of Probiotic Yogurt on Streptococcus Mutans and lactobacilli Levels in 18-30 Years Old Students with Initial Stages of Dental Caries in Ahvaz City. Nutrition and Food Sciences Research. 2015; 2(2), 7-12.
84. Campus G, Cocco F, Carta G, Cagetti MG, Simark-Mattson C, Strohmenger L, Lingstrom P. Effect of a daily dose of Lactobacillus brevis CD2 lozenges in high caries risk schoolchildren. Clinical Oral Investigations. 2014; 18(2): 555-561. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00784-013-0980-9>. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00784-013-0980-9>
85. Holz C, Alexander C, Balcke C, Moré M, Auinger A, Bauer M, Junker L, et al. *Lactobacillus paracasei* DSMZ16671 reduces Mutans Streptococci: A short-Term pilot study. Probiotics & Antimicrobial proteins. 2013; 5(4): 259-263. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12602-013-9148-9>. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s12602-013-9148-9>
86. Thakkar PK, Imranulla M, Naveen Kumar PG, Prashant GM, Sakeenabi B, Sushanth VH. Effect of probiotic mouthrinse on dental plaque accumulation: A randomized controlled trial. Dentistry and Medical Research. 2013; 1(1):7-12.

87. Dhawan R, Dhawan S. Role of probiotics on oral health: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Journal of Interdisciplinary Dentistry*. 2013; 3(2): 71-78. DOI: [DOI:10.4103/2229-5194.126862](https://doi.org/10.4103/2229-5194.126862). Disponible en: <http://www.jidonline.com/article.asp?issn=2229-5194;year=2013;volume=3;issue=2;spage=71;epage=78;aualst=>
88. Burton JP, Drummond BK, Chilcott CN, Tagg JR, Thomson WM, Hale JD, Wescombe PA. Influence of the probiotic *Streptococcus salivarius* strain M18 on indices of dental health in children: a randomized double-blind, placebo-controlled trial. *Journal of Medical Microbiology*. 2013; 62(6): 875-884. DOI: [10.1099/jmm.0.056663-0](https://doi.org/10.1099/jmm.0.056663-0). Disponible en: <https://www.microbiologyresearch.org/content/journal/jmm/10.1099/jmm.0.056663-0>
89. Cortés N, Ruíz MS, Karakowsky L, Garrocho JA, Sánchez LO, Pozos AJ. Probiotics and their effect on oral bacteria count in children: a pilot study. *European Journal of Paediatric Dentistry*. 2015; 16(1): 56-60.
90. Stensson M, Koch G, Coric S, Abrahamsson TR, Jeanmalm MC, Birkhed D, Wendt LK. Oral administration of *Lactobacillus reuteri* during the first year of life reduces caries prevalence in the primary dentition at 9 years of age. *Caries Research*. 2014; 48(2): 111-7. DOI: <http://dx.doi.org/10.1159/000354412>. Disponible en: <https://www.karger.com/Article/Abstract/354412>
91. Keller MK, Nohr I, Karlsson I, Tweetman S. Effect of tablets containing probiotic bacteria (*Lactobacillus reuteri*) on early caries lesions in adolescents: a pilot study. *Beneficial Microbes*. 2014; 5(4): 403-407. DOI: <https://doi.org/10.3920/BM2013.0089>. Disponible en: <https://www.wageningenacademic.com/doi/10.3920/BM2013.0089>
92. Shetty MS, Shetty YS. Probiotics and oral health: myth or reality?. *Nitte University Journal of Health Science*. 2015; 5(3): p. 40-42.
93. Haukioja A. Probiotics and oral health. *European Journal of Dentistry*. 2010; 4(3): 348-355.
94. Keller MK, Bardow A, Jensdottir T, Lykkeaa J, Twetman S. Effect of chewing gums containing the probiotic bacterium *Lactobacillus reuteri* on oral malodour. *Acta Odontologica Scandinavica*. 2012; 70(3): 246-50. DOI: [10.3109/00016357.2011.640281](https://doi.org/10.3109/00016357.2011.640281). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22182258>
95. Alok A, Singh ID, Singh S, Kishore M, Jha PC, Iqbal MA. Probiotics: A new era of Biotherapy. *Advanced Biomedical Research*. 2017; 6(1):31. DOI: [10.4103/2277-9175.192625](https://doi.org/10.4103/2277-9175.192625) Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5360003/>

96. Gomes R, Miyazak M, Zotarelli IJ. Action of Probiotics on oral pathogens: Efficacy and controversies. *Dental, Oral and Craniofacial Research*. 2015; 1(4): 121-125.
97. Bhatia V, Sidhu GK. Probiotics and Periodontal Disease – An Update. *Journal of Advanced Medical and Dental Sciences Research*. 2014; 2(3):91-96.
98. Pandit N, Pandit IK, Bali D, Oberi S. Probiotics and Periodontal diseases: The link. *Indian Journal of Oral Sciences*. 2013; 4(3): 114-119. DOI: 10.4103/0976-6944.122953. Disponible en: <http://www.indjos.com/article.asp?issn=0976-6944;year=2013;volume=4;issue=3;spage=114;epage=119;aulast=Pandit>
99. Bhardwaj A, Bhardwaj SV. Role of probiotics in dental and Periodontal disease. *Archives of Clinical Experimental Surgery*. 2012; 1(1):45-49.
100. Kour S, Verma VK, Sachan A, Singh K, Arora A, Kaur G. Role of Probiotics in Orthodontics. *Rama University Journal & Dental Sciences*. 2015; 2(3): 26-31.
101. Cildir SK, Germec D, Sandalli N, Ozdemir FI, Arun T, Twetman S, Caglar E. Reduction of salivary mutans streptococci in orthodontic patients during daily consumption of yoghurt containing probiotic bacteria. *European Journal of Orthodontics*. 2009; 31 (4): 407-411. DOI: 10.1093/ejo/cjn108. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19193706>
102. Espín B. Probióticos: luces y sombras. En: AEPap. Curso de actualización Pediatría 2018. Madrid: Lúa Ediciones 3.0; 2018. p. 191-200.
103. Iniesta M, Zurbriggen M, Montero E, Herrera D. Los probióticos y sus beneficios terapéuticos. *Periodoncia y Osteointegración*. 2011; 21(3): 171-179.
104. Panisello J. Nutrición e inversión en salud: microbioma y probióticos (los probióticos en la prevención y el tratamiento de enfermedades pediátricas; evidencias científicas). *Rev. Pediatría Atención Primaria*. 2011; 13(20): 25-41.
105. Pérez A. Probióticos: Una nueva alternativa en la prevención de la caries dental? *Revista Estomatológica Herediana*. 2008; 18(1): 65-69.
106. Barrios CE, Vila VG, Martínez SE, Encina Tutuy AJ. La saliva, flujo y Ph en relación a la actividad cariogénica. *Revista de la Facultad de Odontología*. 2015; 8 (1): 32-37.
107. Aguirre AA, Narro FG. Perfil salival y su relación con el índice CEOD en niños de 5 años. *Revista Odontológica Mexicana*. 2016; 20(3): 159-165.
108. Murrieta F, López Y, Juárez L, Linares C, Zurita V. Índices epidemiológicos de morbilidad bucal. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, Universidad

- Nacional Autónoma de México. México: Gamma editores; 2006. p.41-51, 71,80-91.
109. Asociación Médica Mundial. Declaración de Helsinki de la AMM. Principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos: Fortaleza, Brasil: AMM; octubre 2013. 64ª Asamblea General.
 110. Ley General de Salud. Diario Oficial de la Federación. 7 de Febrero de 1984. Actualización 2018.
 111. Norma Oficial Mexicana NOM-013-SSA2-2015, Para la prevención y control de enfermedades bucales. Diario Oficial de la Nación. Publicación 23-11- 2016.
 112. Norma Oficial Mexicana NOM-031-SSA2-1999, Para la atención a la salud del niño. Diario Oficial de la Nación. Publicación 15-06-2012. Diario Oficial de la Federación. Publicación 14- 09-2005
 113. Norma Oficial Mexicana NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental - Salud ambiental - Residuos peligrosos biológico-infecciosos - Clasificación y especificaciones de manejo.
 114. Reglamento interno de higiene y seguridad de la Carrera de Química Farmacéutico Biológica, de la Facultad de Estudios Superiores Zaragoza, UNAM.
 115. Martins S, Álvarez E, Abanto J, Cabrera A, López RA, Masoli C, Echeverría SA, et al. Epidemiología de la caries dental en América Latina. Revista de Odontopediatría Latinoamericana. 2014; 4(2): 1-8.
 116. Secretaría de Salud. Resultados del Sistema de Vigilancia Epidemiológica de Patologías Bucles (SIVEPAB) 2017: SSA, Dirección de Información Epidemiológica; 2019. Informe Anual: 2017.
 117. Velasco BG. Asociación entre el consumo de probióticos que contienen Bifidobacterium bifidus y la disminución de biopelícula dental en una población Preescolar de 3-5 años. Tesis para obtener el grado de Especialista en Estomatología del Niño y del Adolescente. México. UNAM. 2017. p.61.

XIV. ANEXOS

XIV.1 Consentimiento informado No. 1

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA
Especialización en Estomatología del Niño y del Adolescente

CONSENTIMIENTO BAJO INFORMACIÓN

Yo _____ como tutor legal de _____ hago constar que con fecha _____ permito a la Dra. Angulo Muñoz Janet Stephanie, con Cédula Profesional 09145997, para que realice una valoración del estado de salud bucal de mi hijo.

Entiendo que la revisión dental se llevará a cabo en el Jardín de Niños _____ bajo la supervisión y autorización de las autoridades institucionales pertinentes, por lo que una vez leída esta forma, AUTORIZO y ACEPTO que la Dra. realice los procedimientos necesarios para su revisión.

AUTORIZACIÓN Del padre o tutor:

Si

No

NOMBRE Y FIRMA DEL PADRE O TUTOR _____

Nombre y firma

BENEFICIOS DE PARTICIPAR

- Detección del nivel de riesgo a padecer caries que tiene tu hijo.
- Intervención completamente gratis, no generará ningún costo para ti...
- Kit de higiene dental



¿DUDAS?....



UNAM

ESPECIALIZACIÓN EN ESTOMATOLOGÍA DEL NIÑO Y DEL ADOLESCENTE

C.D. JANET ANGULO M.

Teléfono: 55 36 50 81 93.
Estas interesado?
jangulomunoz@gmail.com

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO

Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

Efectividad de un probiótico en la prevención de caries dental



C.D. Janet Angulo

FELICIDADES! TU HIJO ESTA LIBRE DE CARIES!!

¿SABÍAS QUÉ?

La caries es una de las enfermedades con mayor prevalencia en el mundo?



En países como México la caries afecta a alrededor del 95% de los niños menores de ocho años de edad y al 99% de los adultos



REPERCUSIONES DE LA CARIES DENTAL EN TU HIJO (A)

- Dolores dentales constantes
- Infecciones bucales
- Sangrado de encías
- Infecciones de vías respiratorias y gastrointestinales frecuentes
- Aumento de sensibilidad
- Bajo peso
- Ausencia escolar

Existen diversas formas de prevenir la aparición de caries:

- Flúor
- Cepillado, uso de hilo dental y enjuagues
- Reducir consumo de alimentos azucarados



Otra alternativa actual y sencilla es la Terapia con probióticos. Los probióticos bucales han demostrado acciones benéficas en la prevención de la caries dental, existiendo diversos estudios en todo el mundo acerca de su uso.

INVITACIÓN AL ESTUDIO

- Una toma diaria de la tableta masticable de Biogaia® con *L. reuteri* DSM 17938 durante 3 meses, misma que será proporcionará al llegar a la escuela.
- 3 Revisiones de placa dentobacteriana y 3 muestras de saliva al inicio, durante y finalizar el consumo del probiótico.



ESTAS INTERESADO?

El mejor regalo que le puedes dar a tu hijo es la prevención, aprovecha esta oportunidad!!!

Ayuda a tu hijo a seguir siendo parte de ese pequeño grupo de niños "libres de caries"!!!

XIV.3 Consentimiento informado No. 2

FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA INVESTIGACIÓN

TÍTULO: Efectividad de un probiótico con *L. reuteri DSM 17938* en la prevención de caries en una población de niños preescolares. Estudio piloto

INVESTIGADOR: Dra. Angulo Muñoz Janet Stephanie

INSTITUCIÓN: Universidad Nacional Autónoma de México. Facultad de Estudios Superiores Zaragoza

INTRODUCCIÓN

Este formulario de consentimiento informado tiene la finalidad de ayudarle a tomar la decisión de participar (o permitir participar a su hijo/hija, familiar o representado) en el estudio de investigación. Tómese su tiempo, lea este formulario minuciosamente y discuta cualquier inquietud que usted tenga con el investigador principal a cargo del estudio o a algún miembro de su personal, para asegurarse de que entienda los procedimientos del estudio, incluyendo los riesgos y beneficios.

PROPÓSITO DEL ESTUDIO

El propósito de este estudio es determinar/evaluar la efectividad del probiótico *L. reuteri DSM 17938 BioGaia®* en la prevención de caries en una población de niños preescolares.

PARTICIPANTES DEL ESTUDIO

El estudio es completamente voluntario. Usted puede participar o abandonar el estudio en cualquier momento sin ser penalizado ni perder los beneficios. El motivo por el cual su hijo(a) o representado legal ha sido elegido es porque se encuentra libre de caries y presenta conducta cooperadora, motivos principales que hacen idónea su participación.

PROCEDIMIENTOS

Al participar en este estudio, usted está de acuerdo en la administración de una tableta diaria del probiótico *L. reuteri DSM 17938 BioGaia®* durante tres meses, así como a los siguientes procedimientos a los que será sometido su hijo(a), familiar o representado legal: revisión dental, identificación de biopelícula dental y recolección de muestra salival y de biopelícula dental al inicio, durante y al finalizar el tratamiento.

RIESGOS O INCOMODIDADES

No existe ningún riesgo o incomodidad asociado a las revisiones y procedimientos; son indoloros y rápidos de realizar. El consumo de probióticos no representa riesgo agregado para la salud, pero podría presentarse alergia a alguno de los componentes.

BENEFICIOS

Debe quedar claro que usted no recibirá ningún beneficio económico por participar en este estudio. Su participación es para contribución para el desarrollo de la ciencia y el conocimiento, y solo con la contribución solidaria de muchas personas como usted será posible comprender mejor los efectos de los probióticos como una medida de prevención de caries, misma que podría resultar beneficiosa para futuras generaciones.

PRIVACIDAD Y CONFIDENCIALIDAD

La información personal que usted dará a nuestros investigadores en este estudio permanecerá secreto y no será proporcionada a ninguna persona diferente a usted bajo ninguna circunstancia. Los resultados de esta investigación pueden ser publicados en revistas científicas o ser presentados en reuniones científicas, pero la identidad de su hijo(a) no será divulgada o revelada, tomándose todas las medidas necesarias para proteger la confidencialidad de sus datos clínicos y experimentales.

DERECHO A RETIRARSE DEL ESTUDIO DE LA INVESTIGACIÓN

Usted puede retirarse del estudio en cualquier momento. Sin embargo, los datos obtenidos hasta ese momento seguirán formando parte del estudio. Usted podrá rehusarse de participar o retirar a su hijo/hija, familiar o representado de la investigación en cualquier momento sin ser obligado(a) a dar razones y sin que esto perjudique su calidad de paciente o usuario(a). Deberá informar al investigador responsable al momento de su retiro.

ESTUDIOS FUTUROS

Nuestros planes de investigación aparecen resumidos en el formato de consentimiento. Como se mencionó anteriormente, los resultados podrán ser publicados en revistas de literatura científica garantizando que la identificación de los participantes no aparecerá en estas publicaciones. Es posible que en el futuro los resultados de su evaluación sean utilizadas para otras investigaciones cuyos objetivos y propósitos no aparecen especificados en el formato de consentimiento que usted firmará. Si esto llega a suceder, toda su información será entregada de manera codificada para garantizar que no se revelará su nombre, es decir, su identificación no saldrá fuera de la base de datos de nuestro proyecto de investigación.

CONSENTIMIENTO

Al firmar a continuación acepto que: 1) He leído este formulario de consentimiento, 2) Se me ha explicado los riesgos y beneficios de este estudio, 3) Firmo este documento voluntariamente, sin ser forzado a hacerlo y 4) Estoy de acuerdo en autorizar que la información de los resultados de mi representado legal o hijo sea utilizada en otras investigaciones en el futuro.

Fecha: _____

Nombre del participante:

Nombre y firma del padre, madre o tutor legal del menor de edad:

Firma del investigador principal/ o profesional responsable:



XIV.4 Ficha de datos generales y cuestionario base



Ficha de datos generales

1.- Nombre _____

2.- Grupo _____

3.- Femenino _____ Masculino _____

4.- Edad _____

Cuestionario

5.- ¿A los cuántos años comenzó a llevar a cabo el cepillado dental de su hijo(a)?

6.- ¿Cuántas veces al día cepilla los dientes de su hijo(a)?

7.- ¿Su hijo(a) es alérgico a algún medicamento, alimento o sustancia?

8.- ¿Su hijo(a) presenta alguna enfermedad sistémica?

9.- ¿Su hijo (a) consume con frecuencia algún antibiótico? Si es así, cuántas veces al año?

10.- ¿Su hijo(a) consume con frecuencia productos lácteos o algún otro tipo de probiótico? Si es así, cuántas veces a la semana?

11.- ¿Su hijo(a) consume algún antiséptico oral o coadyuvante de salud oral? Si es así, cuántas veces a la semana?

Nombre y firma del padre o tutor _____

XIV.5 Administración de BioGaia® y registro de observaciones

Alumno: _____

1. Mes 1

	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7	Observaciones
Semana 1								
Semana 2								
Semana 3								
Semana 4								

2. Mes 2

	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7	Observaciones
Semana 1								
Semana 2								
Semana 3								
Semana 4								

3. Mes 3

	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5	Día 6	Día 7	Observaciones
Semana 1								
Semana 2								
Semana 3								
Semana 4								