



UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

INSTITUTO SUPERIOR DE POSGRADO

**EFFECTO INHIBITORIO DE LOS PROBIÓTICOS PRESENTES EN
BIOYOGURT Y YOGURT A-B SOBRE *ESTREPTOCOCO MUTANS*.
ESTUDIO IN VITRO.**

Trabajo de Investigación presentado como previo a la obtención del Título de
Especialista en Odontopediatría

AUTORA: Andrea Cristina Villacís Sánchez

TUTOR: PhD. Dr. Gustavo Tello Meléndez

Quito, Septiembre 2017

DERECHOS DE AUTOR

Nosotros, Gustavo Tello Meléndez y Andrea Villacís Sánchez en calidad de autores del trabajo de Investigación: “**EFECTO INHIBITORIO DE LOS PROBIÓTICOS PRESENTES EN BIOYOGURT Y YOGURT A-B SOBRE *Streptococo mutans*. ESTUDIO IN VITRO**”, autorizamos a la Universidad Central del Ecuador a hacer uso de todos los contenidos que nos pertenecen o parte de los que contiene esta obra, con fines estrictamente académicos o de investigación.

Los derechos que como autores nos corresponden, con excepción de la presente autorización, seguirán vigentes a nuestro favor, de conformidad con lo establecido en los artículos 5, 6, 8, 19 y demás pertinentes de la Ley de Propiedad Intelectual y su Reglamento.

También, autorizamos a la Universidad Central del Ecuador a realizar la digitalización y publicación de este trabajo de Investigación en el repositorio virtual, de conformidad a los dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación Superior.

.....
TUTOR:

DR: GUSTAVO TELLO M.

CI 6209201

.....
ESTUDIANTE

Od: ANDREA VILLACÍS S.

CI: 171926732

AUTORIZACIÓN DEL TUTOR

Quito, DM 16 Junio 2017

Yo, Dr. PhD **Gustavo Tello Meléndez**, Docente de la Facultad de Odontología, una vez que he revisado el tema propuesto como proyecto de investigación de grado titulado: **EFEECTO INHIBITORIO DE LOS PROBIÓTICOS PRESENTES EN BIOYOGURT Y YOGURT A-B SOBRE *Streptococo mutans*. ESTUDIO IN VITRO**. PERTENECIENTE AL ÁREA DE CONOCIMIENTO: **CIENCIAS DE LA SALUD** SUBAREA: **ODONTOPEDIATRÍA** LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: **ODONTOPEDIATRÍA**, de la estudiante: **ANDREA CRISTINA VILLACÍS SÁNCHEZ CI. 171926773-2** me comprometo legalmente y asumo la responsabilidad de tutorear este proyecto de tesis, en todos sus aspectos: científico, ético, metodológico, semántico, estadístico y pertinente, el mismo que tendrá aporte investigativo adecuado a la carrera, que ha sido revisado en el banco de tesis y no tiene similitud a otros temas anteriormente presentados, al final del proceso se entregará el certificado del programa antiplagio, y un certificado de culminación de la investigación, de manera que el estudiante podrá continuar con su trámite administrativo correspondiente.

.....
TUTOR:

DR: GUSTAVO TELLO M.

CI 6209201

.....
ESTUDIANTE

Od: ANDREA VILLACÍS S.

CI: 171926732

APROBACIÓN DEL TRIBUNAL

“EFECTO INHIBITORIO DE LOS PROBIÓTICOS PRESENTES EN BIOYOGURT Y YOGURT A-B SOBRE *ESTREPTOCOCO MUTANS*. ESTUDIO IN VITRO”

Quito, del 2017

Dr. Alejandro Farfán

DIRECTOR DEL INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR

Presente

De mis consideraciones

Los de abajo firmantes miembros del Jurado Calificador APROBAMOS la tesis titulada **“EFECTO INHIBITORIO DE LOS PROBIÓTICOS PRESENTES EN BIOYOGURT Y YOGURT A-B SOBRE *ESTREPTOCOCO MUTANS*. ESTUDIO IN VITRO”**, cuyo AUTOR es la Od. Andrea Villacís Sánchez.

Dr. Alejandro Farfán
Presidente del Tribunal

Dr. Fernando Aguilera
Miembro del Tribunal

Dra. Grace Revelo
Miembro del Tribunal

DEDICATORIA

Dedicada con mucho cariño a mis padres, hermanos y mis dos angelitos
Martín y Emma. Gracias por su apoyo y amor incondicional.
A ti, gracias por iluminar mi vida te quiero.

AGRADECIMIENTO

A Dios, por permitirme llegar a este momento en mi vida. Por los momentos difíciles que me han enseñado a valorarlo cada día más

A mi madre, por estar a mi lado a lo largo de mi trayecto de vida estudiantil, todo te lo debo a ti.. te Amo

A la Universidad Central del Ecuador, mi alma mater donde me he formado como profesional gracias a todos mis docentes por sus conocimientos impartidos.

A mi tutor de tesis Dr. Gustavo Tello mil gracias por el apoyo, respaldo y paciencia que tuvo para conmigo en la elaboración de esta investigación, es un honor para mí haber sido guiada por usted en mi tesis, no me alcanzan las palabras para agradecer todo lo que hizo por mi, es usted una gran persona tiene mucha luz, anhelo que Dios nos permita trabajar juntos de nuevo.

Al Instituto Superior de Posgrado en especial a mi Doctor Alejandro Farfán amigo incondicional gracias por la oportunidad que me brindaron para poder cumplir con mi sueño de llegar a ser Especialista en Odontopediatría. Dios lo bendiga hoy y siempre.

A mis compañeros de Posgrado, fue un privilegio haber compartido con ustedes dos años de alegrías, sigamos adelante con nuestra vocación. Mi amistad incondicional siempre la tendrán.

A mi hermano Bq. Byron Villacís, ñaño gracias por toda tu ayuda te quiero mucho, juntos cumpliendo sueños.

ÍNDICE DE CONTENIDO

| | |
|---|------|
| DERECHOS DE AUTOR | ii |
| AUTORIZACIÓN DEL TUTOR | iii |
| APROBACIÓN DEL TRIBUNAL..... | iv |
| DEDICATORIA | v |
| AGRADECIMIENTO | vi |
| ÍNDICE DE CONTENIDO | vii |
| LISTA DE TABLAS | ix |
| LISTA DE FIGURAS..... | x |
| LISTA DE GRÁFICAS | xi |
| LISTA DE ANEXOS..... | xii |
| RESUMEN | xiii |
| ABSTRACT..... | xiv |
| INTRODUCCIÓN | 1 |
| MARCO TEÓRICO..... | 2 |
| 1.1. Caries dental..... | 2 |
| 1.2. Estreptococo mutans | 2 |
| 1.3. Productos que contienen probióticos | 3 |
| 1.3.1. Bioyogurt | 4 |
| 1.4. Probióticos | 4 |
| 1.4.1. Tipos de probióticos..... | 5 |
| 1.4.2. Mecanismo de acción de los probióticos | 8 |
| 1.4.3. Beneficios del uso de probióticos | 9 |
| 1.4.3.1. Organismo..... | 10 |
| 1.4.3.2. Cavidad oral | 12 |
| EL PROBLEMA..... | 19 |
| 2.1. Planteamiento del problema..... | 19 |
| 2.2. Hipótesis | 19 |
| 2.2.1. Hipótesis de investigación (H1)..... | 19 |
| 2.2.2. Hipótesis nula (H)..... | 19 |
| 2.4. Objetivos | 19 |
| 2.4.1. Objetivo general..... | 19 |
| 2.4.2. Objetivos específicos | 20 |
| 2.5. Justificación | 20 |
| METODOLOGÍA..... | 22 |
| 3.1. Diseño de la investigación | 22 |

| | |
|---|----|
| 3.2 Población de estudio y muestra..... | 22 |
| 3.3- Criterios de inclusión y exclusión | 23 |
| 3.3.1 Criterios de inclusión | 23 |
| 3.3.2 Criterios de exclusión | 23 |
| 3.4. Definición operacional de las variables | 23 |
| 3.5. Materiales y Métodos..... | 25 |
| 3.5.1. Equipos | 25 |
| 3.5.2. Materiales..... | 25 |
| 3.6. Procedimiento | 26 |
| 3.6.1. Cultivo..... | 26 |
| 3.6.2. Reactivación cepa Estreptococo mutans ATCC 25175 | 27 |
| 3.6.3. Determinación género y especie | 27 |
| 3.6.4. Distribución de bioyogurt, yogurt a-b y yogurt convencional..... | 28 |
| 3.6.5. Conteo unidades formadoras de colonias | 30 |
| 3.7. Forma y análisis para la obtención de los resultados..... | 32 |
| 3.8. Aspectos bioéticos | 32 |
| RESULTADOS..... | 34 |
| DISCUSIÓN | 40 |
| CONCLUSIONES | 44 |
| RECOMENDACIONES..... | 45 |
| REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS..... | 46 |
| ANEXOS | 53 |

LISTA DE TABLAS

| | |
|--|----|
| Tabla 1 Medidas Unidades formadoras de colina (UFC) por grupo..... | 34 |
| Tabla 2 Pruebas de Kolmogrov-Smirnov | 36 |
| Tabla 3 Resumen estadístico de las variables | 37 |
| Tabla 4 Análisis estadístico ANOVA | 38 |
| Tabla 5 Prueba de Tukey | 38 |

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1 Agar Chocolate..... | 26 |
| Figura 2 Reactivación Estreptococo mutans..... | 27 |
| Figura 3 Medio Stuart..... | 27 |
| Figura 4 Estreptococo mutans activado..... | 27 |
| Figura 5 Prueba bilis esculina..... | 28 |
| Figura 6 Prueba Manitol..... | 28 |
| Figura 7 Distribución Yogurt A-B, Bioyogurt y Yogurt convencional..... | 29 |
| Figura 8 Inoculación Estreptococo mutans en Yogurt..... | 29 |
| Figura 9 Incubación muestras..... | 30 |
| Figura 10 Siembra para posterior conteo de UFC..... | 31 |
| Figura 11 Conteo UFC..... | 31 |

LISTA DE GRÁFICAS

| | |
|---|----|
| Gráfica 1 Probabilidad Bioyogurt Lactobacillus GG..... | 35 |
| Gráfica 2 Probabilidad Yogurt A-B..... | 35 |
| Gráfica 3 Probabilidad Bioyogurt Bifidobacterium lactis | 35 |
| Gráfica 4 Probabilidad Yogurt convencional | 36 |
| Gráfica 5 Media Yogurts según su marca..... | 37 |
| Gráfica 6 Intervalos de Inhibición | 39 |

LISTA DE ANEXOS

| | |
|---|----|
| Anexo 1 Tabla cálculo unidades experimentales..... | 53 |
| Anexo 2 Plan de gestión de desechos sanitarios..... | 54 |

Tema: "Efecto inhibitorio de los probióticos presentes en bioyogurt y yogurt A-B sobre

Streptococo mutans. Estudio in vitro"

AUTOR: Od. Andrea Villacís Sánchez

TUTOR: Dr. PhD. Gustavo Tello Meléndez

RESUMEN

Las bacterias probióticas pueden ocasionar beneficios en la salud del huésped brindándole nutrientes, compitiendo directamente con los patógenos, interactuando con los factores de virulencia y estimulando la respuesta inmune del huésped. Algunos estudios mostraron que el consumo de probióticos puede causar una reducción significativa en las bacterias cariogénicas.

Objetivo: Determinar el efecto inhibitorio de los probióticos presentes en bioyogurt y yogurt A-B sobre el crecimiento de *Streptococo mutans* ATCC25175. **Materiales y métodos:** Es un estudio experimental in vitro, los resultados se obtuvieron a través de conteo de unidades formadoras de colonias (ufc). La muestra del estudio estará conformada por 60 cultivos divididos en 4 grupos de estudio: G1 grupo control yogurt convencional, G2: Bioyogurt Lactobacillus GG, G3: Bioyogurt Bifidobacterium lactis y G4: Bioyogurt AB. Se reactivó el *Streptococo mutans* ATCC 25175 en Agar Chocolate a la vez que se realizó pruebas bioquímicas específicas para identificación de género y especie, se procedió a realizar diluciones de la cepa en el yogurt, las mismas que fueron incubadas a una temperatura de 37°C por 48 horas. Después del período de incubación se realizó la última siembra para el conteo de UFC. Los datos se analizaron estadísticamente con las pruebas de ANOVA y Tukey con un nivel de significancia del 5%. **Resultados:** La media de inhibición fue de 78600, 17400, 34333, 3006 para los yogurts Convencional, Lactobacillus GG, Bifidobacterium lactis y A-B respectivamente. Se encontró diferencia significativa entre todos los grupos estudios ($p < 0.001$). **Conclusión:** El Yogurt A-B inhibe totalmente el crecimiento de *Streptococo mutans* ATCC25175 mientras que los 2 bioyogurts estudiados presentaron inhibición media.

PALABRAS CLAVE: Yogurt; caries dental, Odontología pediátrica, microbiología, promoción de salud.

Tema: “Inhibitory effect of probiotics on bio-yogurt and A-B yogurt on *Streptococcus mutans*. In vitro study”

AUTOR: Od. Andrea Villacís Sánchez

TUTOR: Dr. PhD. Gustavo Tello Meléndez

ABSTRACT

Probiotic bacteria can bring benefits to the host's health by providing nutrients, competing directly with pathogens, interacting with virulence factors, and stimulating the host's immune response. Some studies showed that consumption of probiotics may cause a significant reduction in cariogenic bacteria. **Objective:** Determine the inhibitory effect of probiotics present in bio-yogurt and A-B yogurt in *Streptococcus mutans* ATCC25175 growth. **Materials and methods:** This is an experimental study in vitro, the results will be obtained through counting of colony-forming units (cfu). The study sample will consist of 60 cultures divided into 4 study groups: G1 control group conventional yogurt, G2: Bioyogurt Lactobacillus GG, G3: Bioyogurt Bifidobacterium lactis and G4: Bioyogurt AB. *Streptococcus mutans* ATCC 25175 was reactivated in Chocolate Agar while specific biochemical tests were performed for genus and species identification, dilutions of the strain in the yogurt were performed and incubated at a temperature of 37 ° C for 48 hours. After the incubation period the last planting was done for the CFU count. Data were analyzed statistically with ANOVA and Tukey tests with a significance level of 5%. **Results:** Inhibition mean was 78600, 17400, 34333 and 3006 for conventional, Lactobacillus GG, Bifidobacterium lactis and A-B yogurts respectively. A significant difference was found between all the study groups ($p < 0.001$). **Conclusion:** A-B yogurt totally inhibits the growth of *Streptococcus mutans* ATCC25175 whereas the 2 bioyogurts studied showed medium inhibition.

KEYWORDS: Yogurt, dental caries, Pediatric dentistry, microbiology, health promotion

INTRODUCCIÓN

La caries dental es el principal problema de salud bucal que afecta a los seres humanos. En la cavidad oral, las presiones ecológicas que favorecen la caries, por ejemplo, una dieta rica en azúcar, condiciones de bajo pH o bajo flujo de saliva, facilitan la multiplicación excesiva de bacterias cariogénicas. Bajo estas presiones ecológicas, los patógenos dominarán en la microflora de la cavidad oral y dañarán el tejido dental, *Streptococo mutans* se ha implicado como agente etiológico primario de la caries dental y juega un papel decisivo en la formación de biofilm dental y en el desarrollo de caries. (5) Las medidas de tratamiento que apuntaban a aniquilar toda la flora oral podrían tener consecuencias negativas no deseadas. Por lo tanto, las investigaciones están dedicadas a la búsqueda de enfoques que pueden inhibir selectivamente a los patógenos orales en lugar de toda la comunidad microbiana. (6)

Los probióticos han sido ampliamente estudiados para la promoción de la salud, se desarrollaron para la prevención de las infecciones intestinales y se han establecido efectos positivos para su uso terapéutico en los últimos 100 años. Debido al hecho de que pueden competir con otras bacterias patógenas, han sido objeto de investigación en la prevención de las enfermedades bucodentales. (14)

Se ha sugerido que los probióticos deterioran o retardan la colonización bacteriana, seleccionando especies durante la formación de la biopelícula. La inhibición de *Streptococo mutans* es uno de los mecanismos más estudiados para poder conocer su potencial anticaries. Aunque la literatura muestra la asociación entre los probióticos y la salud oral, se necesitan más estudios para comprender tanto su nivel de eficacia como su mecanismo de acción. (19)

En Odontología, el uso de bacterias probióticas es relativamente nuevo, pero la evidencia de un impacto beneficioso sobre la ecología oral está emergiendo actualmente. Es por esta razón que el objetivo de este estudio es conocer la efectividad sobre el crecimiento de *Streptococo mutans* de diferentes yogurts enriquecidos con probióticos.

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1.1. Caries dental

La caries dental es una de las enfermedades microbianas más comunes en los países industrializados y tiene un enorme impacto social. El papel de las bacterias en la etiología de la caries está bien definido y, aunque las bacterias desempeñan un papel fundamental en el inicio de la enfermedad, la estrecha interacción entre la microbiota del hospedero y los factores ambientales, como los hábitos dietéticos y la higiene, determinan la gravedad y la progresión de la misma. (1)

Sería entonces la consecuencia de cambios ecológicos producto de un medio local perturbado, donde los microorganismos potencialmente patógenos tendrían una ventaja competitiva bajo condiciones apropiadas, pudiendo alcanzar, en ciertos lugares específicos, un número tal que predisponga el desarrollo de esta enfermedad. (2)

El desarrollo de la caries dental depende del equilibrio entre las cantidades de microorganismos cariogénicos y no cariogénicos, así como la interacción entre los agentes protectores y patológicos de la saliva y la placa dental. (3) Se caracteriza por la desintegración progresiva de los tejidos calcificados dentales, debido a la acción de los microorganismos sobre los carbohidratos fermentables provenientes de la dieta. Como resultado se produce la desmineralización de la porción mineral y la disgregación de su parte orgánica, referentes determinantes de la dolencia característica de esta enfermedad. (4)

1.2. *Streptococo mutans*

El *Streptococo mutans* es el agente causal principal de la caries dental y juega un papel decisivo en la formación del biofilm. (5)

Las células se caracterizan por ser cocos Gram positivos, presentan un diámetro de 0.5 a 0.75 milimicras y tienden a disponerse en forma de cadenas, características propias de este género. El *Streptococo mutans* es anaeróbico facultativo, pero su crecimiento óptimo ocurre bajo condiciones de anaerobiosis. Son los principales productores de ácido láctico en presencia

de la sacarosa siendo acidogénicos (productores de ácidos), acidófilos (tolerantes al ácido) propiedad necesaria para sobrevivir y desarrollarse en un pH bajo y acidúricos (capaces de producir ácido con un pH bajo). (6)

Se considera el microorganismo cariógeno por excelencia ya que pueden conseguir el pH crítico necesario para la desmineralización del esmalte más rápidamente que cualquier otro microorganismo del biofilm dental. Ciertos rasgos fenotípicos del grupo explican la especial virulencia de esta familia de bacterias, siendo una de ellas la capacidad de adherirse a las superficies del hospedero. (7)

1.3. Productos que contienen probióticos

El número de productos que contienen probióticos ha aumentado, aunque algunas especies contenidas en estos se asocian a la progresión de caries dental como los *Lactobacillus* sp., la capacidad amortiguadora de los productos lácteos que las contienen contrarresta la acidez protegiendo la superficie dental e inhibiendo la adhesión del *Streptococcus mutans*. (2)

Definidos como “probióticos médicos” (preparación microbiana) y “otros probióticos” (alimentos funcionales), los probióticos se ofrecen en productos en cuatro formas básicas:

- Como un cultivo concentrado añadido a una bebida o a un alimento (como un jugo de fruta).
- Inoculado en fibras prebióticas (ingredientes no digeribles que se encuentran en los alimentos que favorecen el crecimiento de los probióticos).
- Inoculado en alimentos lácteos (productos de consumo diario como leche, yogurt y queso).
- Como concentrado y envasado como suplementos dietéticos (productos que no son de consumo diario como cápsulas, tabletas de gelatina, presentación en polvo, gomas de mascar y gotas). (8)

El uso de probióticos en niños para mejorar la salud bucal puede conducir a que las bacterias no patógenas reemplacen las bacterias cariogénicas temprano en la vida y así disminuir el riesgo de caries. Los alimentos lácteos como el queso, el yogur y la leche se consideran vehículos útiles para las bacterias probióticas, pero un vehículo de administración ideal aún no se ha identificado. (9)

Los productos lácteos contienen nutrientes básicos para el crecimiento del niño también se consideran seguros para los dientes con posibles efectos beneficiosos sobre la composición microbiana salivar y la inhibición del desarrollo de caries debido a su contenido natural de caseína, calcio y fósforo. El vehículo probiótico debe ser adecuado para todas las edades y especialmente para los niños pequeños, ya que se ha sugerido que la exposición temprana en la vida puede facilitar una instalación permanente de las cepas promotoras de la salud. (10-11)

1.3.1. Bioyogurt

El bioyogurt es un producto lácteo de reciente comercialización que surgió con la intención de aportar microorganismos de la flora intestinal en estado viable, siendo por lo tanto un alimento probiótico. (12)

Básicamente es un yogur que además de los microorganismos que se emplean en la elaboración del mismo, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* y *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*, presenta microorganismos probióticos. Los microorganismos probióticos pueden ser: *Lactobacillus acidophilus*, mezclas de especies de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium spp.* o *Lactobacillus acidophilus* junto con alguna especie de *Bifidobacterium*, en esta última variante el bioyogur también se denomina yogur-AB siendo *Lactobacillus acidophilus* el cultivo-A y la especie del género *Bifidobacterium* el cultivo B. Para considerar que el producto presenta efecto terapéutico se exige un mínimo de 10^6 - 10^7 u.f.c./g de las especies probióticas que se emplee en el mismo. (13)

La viabilidad de las bacterias probióticas varía según las cepas, dicha pérdida obedece a los siguientes factores: pH, oxígeno disuelto, contenido de ácido láctico y acético, tiempo de fermentación y periodo de almacenamiento del producto. Debido a la pérdida de viabilidad se, suplementa la leche empleada en la elaboración de bioyogur con prebióticos que favorecen el crecimiento. La incubación se realiza a una temperatura entre 37 y 40°C que óptima para el desarrollo de los microorganismos probióticos. (12)

1.4. Probióticos

El término probiótico es una palabra que significa "para la vida" y actualmente se utiliza para nombrar bacterias asociadas con efectos beneficiosos para los seres humanos y animales. (14)

Fuller para señalar la naturaleza microbiana de los probióticos, redefinió la palabra como "un suplemento alimentario microbiano vivo que afecta de manera beneficiosa al hospdero mejorando su equilibrio intestinal". (15) Una definición similar fue propuesta por Havenaar y Huis "un cultivo viable, mono o mixto, de bacterias que cuando se aplican a animales o al hombre, benefician al hospedero mejorando las propiedades de la flora autóctona". (16)

La Organización de Alimentos y Agricultura de las Naciones Unidas (FAO - Food and Agriculture Organization) y la Organización Mundial de la Salud (WHO - World Health Organization) definieron en el año 2002 a los probióticos como: "microorganismos vivos que al ser administrados en cantidades suficientes promueven efectos fisiológicos beneficiosos sobre el hospedero" (17)

Los probióticos han sido catalogados dentro del grupo de alimentos funcionales. Los mismos que poseen no solo características nutricionales sino también cumplen una función específica que es mejorar la salud y reducir el riesgo de contraer enfermedades. (18)

En términos generales, los probióticos promueven la salud mediante la exclusión competitiva de las bacterias patógenas. (19) Generalmente se piensa que la exposición a bacterias probióticas en edades tempranas puede tener un mayor impacto en la salud general y oral. (19)

1.4.1. Tipos de probióticos

Los probióticos más comúnmente usados y estudiados son *Lactobacillus* spp. y *Bifidobacterium* spp., una de sus características generales incluye su origen humano, sin embargo, todos los probióticos no tienen la misma eficacia es necesario definir bien los efectos de las cepas probióticas antes de su uso. (20)

El género *Lactobacillus* pertenece a la Familia Lactobacillaceae y en la actualidad está constituido por 116 especies, algunas de las cuales son anaerobias estrictas. Morfológicamente estas bacterias Gram-positivas presentan forma de bastón cuyo tamaño varía entre: 0,5 a 1,2 μm por 1,0 a 10,0 μm ; pero también pueden encontrarse como cocobacilos, bastones curvados o coriniformes, que se suelen disponer en cadenas simples. (21)

Existen algunas especies que son móviles gracias a la presencia de flagelos, otra excepción es que ciertos miembros de este género pueden ser nitrato reductores. Con respecto a la temperatura óptima de crecimiento los *Lactobacillus* pueden ser mesófilos o termófilos, esta varía entre 10 y 45°C. (22)

En cuanto a la fermentación, pueden generar L-ácido láctico, D-ácido láctico o una mezcla de ambos isómeros, y se los distinguen en tres categorías: homofermentativos estrictos, heterofermentativos estrictos y heterofermentativos facultativos. En referencia al pH óptimo de crecimiento este oscila entre 4,5 y 6,2. Algunas especies pueden crecer a pH 3,2 y otras a pH 9.6. En la cavidad oral, los lactobacilos usualmente comprenden menos del 1% de la microbiota cultivable total, las especies comúnmente aisladas de muestras de saliva son *L. paracasei*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus* y *L. salivarius*. (22)

Signoretto et al; 2006 (23) Con el fin de evaluar si los *Lactobacillus* orales de origen natural tienen propiedades probióticas, aislaron *Lactobacillus* de saliva y placa de niños y adolescentes, con y sin lesiones de caries. Las capacidades de interferencia de estos *Lactobacillus* se investigaron frente a un panel de 13 cepas clínicas y cepas de referencia de *Streptococo mutans* y *Streptococo sobrinus*, así como contra los *Streptococos mutans* autólogos del sujeto, utilizando la técnica de agar-overlay. La inhibición mediada por *Lactobacillus* difirió significativamente entre los tres grupos de participantes (sin caries, caries detenidas o caries activas), demostrando una mayor inhibición en sujetos sin experiencia de caries presente en comparación con sujetos con caries detenidas o sujetos con lesiones. Los *Lactobacillus* de los sujetos que carecen de caries inhibieron el crecimiento de *Streptococos mutans* significativamente mejor que los *Lactobacillus* de sujetos colonizados. Además, los sujetos sin experiencia de caries abrigaban *Lactobacillus* que reprimían más eficazmente el crecimiento de sus *estreptococos mutans* autólogos. Veintitrés *Lactobacillus* spp. inhibieron completamente el crecimiento de todos los *Streptococos mutans* ensayados. Las especies con máxima capacidad de interferencia incluyeron *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus rhamnosus*.

Koñll et al; 2008 (1) el objetivo planteado fue caracterizar los *Lactobacillus* orales por sus posibles propiedades probióticas de acuerdo con las pautas internacionales para la evaluación de probióticos y seleccionar posibles cepas efectivas para la salud oral. Se

incluyeron 67 *Lactobacillus* salivares y 10 subgingivales, aislados de humanos sanos. La mayoría de las cepas suprimieron el crecimiento de *Aggregatibacter actinomycetomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* y *Streptococcus mutans*, pero ninguno inhibió *Candida albicans*. El pH más bajo tolerado después de 4 horas de incubación fue de pH 2,5, pero ninguna de las cepas creció con este pH. *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus salivarius* y *Lactobacillus rhamnosus* expresaron tanto una alta actividad antimicrobiana como una alta tolerancia al estrés ambiental. Estos resultados sugieren un potencial para que los *Lactobacillus* orales se utilicen como método preventivo para mejorar la salud oral.

Las bifidobacterias son un grupo de bacterias que normalmente viven en los intestinos. Pueden ser cultivadas fuera del cuerpo y luego se pueden tomar por vía oral, se producen sólo en cantidades diminutas en la biopelícula oral normal. *Bifidobacterium* es un género de bacterias gram-positivas, anaeróbicas, no móviles, con frecuencia ramificadas. Son uno de los mayores géneros de bacterias saprófitas de la flora intestinal, que residen en el colon. Ayudan en la digestión, y están asociadas con una menor incidencia epidemiológica de alergias y también previenen algunas formas de crecimiento de tumores. Se ha propuesto que este tipo de bacterias juegan un importante papel en el efecto beneficioso que ejerce el chocolate en el organismo. Según esta propuesta, este y otro tipo de bacterias convierten el chocolate en el estómago en potentes agentes antiinflamatorios, con especial beneficio para el corazón. Antes de los años 1960, las especies de *Bifidobacterium* eran denominadas colectivamente "*Lactobacillus bifidus*". (24)

Lactobacillus y *Bifidobacterium* son generalmente considerados cariogénicos, por lo que la idea de que los probióticos son beneficiosos desde un punto de vista dental puede parecer controversial. Sin embargo, los estudios clínicos existentes apoyan la idea de efectos beneficiosos y no perjudiciales para la salud oral. (25)

Al mismo tiempo los *Lactobacillus* han sido los de mayor interés en la investigación dental por varias décadas, desarrollándose modernas técnicas moleculares en las que estas bacterias se asocian más en las etapas tardías que al inicio del proceso de las lesiones de caries dental. (24)

Aparecen en la cavidad oral durante los primeros años de la vida de un niño y son bien conocidos para desempeñar un papel significativo dentro del ecosistema oral. Si bien se ha establecido una correlación entre el recuento de *Lactobacillus* saliva y la caries dental. (26) Los *Lactobacillus* también podría desempeñar un papel beneficioso en algunos casos, ya sea inhibiendo el crecimiento de algunas bacterias patógenas o su capacidad adhesiva, un importante factor patógeno. (27)

1.4.2. Mecanismo de acción de los probióticos

El conocimiento actual acerca de la importancia del papel de la microflora intestinal llevó a las estrategias para promover la salud a través de la manipulación de esta comunidad microbiana. La bacterioterapia es una manera alternativa de combatir las infecciones a través de la administración de bacterias inocuas que desplazan a los microorganismos patógenos. Las secreciones salival y gastrointestinal, así como la flora (probióticos) y suplementos fibrosos (prebióticos) son elementos importantes para la función normal de nuestro organismo. (8) Se han propuesto diversos mecanismos de acción para los probióticos, entre ellos destacan la competencia directa con bacterias patógenas, la inmunomodulación y mejora de la inmunidad. En general, se piensa que hay efectos combinados locales y sistémicos que implican adhesión, coagulación, inhibición competitiva, producción de ácidos orgánicos y compuestos similares a bacteriocinas. (20)

La diversidad de beneficios producidos por la ingestión de probióticos ilustra la variedad de mecanismos que pueden estar involucrados en sus acciones y que algunos efectos son no sólo locales sino también sistémicos. Es probable que estos mecanismos varíen de acuerdo con la cepa específica o combinaciones de las cepas utilizadas, la presencia de prebióticos y la condición que está siendo tratada, así como la etapa del proceso de la enfermedad en la que se administra el probiótico. (28)

Los microorganismos probióticos compiten con los patógenos no sólo por los nutrientes sino también por el espacio físico. Algunas pueden inhibir la adherencia de los agentes patógenos a los sitios receptores por medio de un mecanismo de obstrucción estérica o bloqueo específico del receptor, con lo que se produce una prevención de la colonización de microorganismos patógenos por inhibición competitiva en los lugares de adhesión. (29-30)

Los potenciales mecanismos de acción de los probióticos contra bacterias patógenas son:

1. Co-agregación y la inhibición del crecimiento,
2. Producción de bacteriocina y de peróxido de hidrógeno,
3. Exclusión competitiva a través actividad antagónica sobre la adhesión y la nutrición.
4. Inmunomodulación. (24)

El mecanismo de acción probiótica en la cavidad oral no se entiende completamente, pero se explica comúnmente por una combinación de respuestas inmunitarias locales y sistémicas, así como mecanismos de defensa no inmunológicos. Los principales efectos de la salud son la mejora de la defensa inmune de la mucosa oral y la actividad de los macrófagos, así como elevaciones en el número de células T e interferones. Para tener un efecto beneficioso en la limitación o la prevención de la caries dental, un probiótico debe ser capaz de adherirse a las superficies dentales de manera prolongada y de integrarse en las comunidades bacterianas que forman la biopelícula dental. También debe competir con las bacterias cariogénicas y así evitar su proliferación. Por último, el metabolismo de los azúcares de uso alimentario por el probiótico debe dar lugar a la producción baja de ácido. (31)

Por consiguiente, la composición y la actividad metabólica de la biopelícula oral pueden ser modificadas temporalmente. Los efectos de las bacterias probióticas parecen ser específicos además hay que considerar el hecho de que las mismas cepas pueden tener un efecto diferente en cada individuo. (32)

Los probióticos son bacterias que no colonizan permanentemente el hospedero. Sin embargo, esta colonización permanente no es necesaria para que se produzca su acción. Estudios realizados en heces, biofilm dental y la saliva muestran claramente que las bacterias probióticas ingeridas se eliminan sólo hasta una semana después de haberlas consumido. (11)

1.4.3. Beneficios del uso de probióticos

1.4.3.1. Organismo

Los probióticos ejercen efectos que van desde el antagonismo directo contra patógenos hasta la influencia sobre el epitelio intestinal y el sistema inmune del organismo. (8) La mayoría de los beneficios de los probióticos se relacionan con condiciones gastrointestinales. Además existe evidencia no concluyente en relación a tratamiento de dermatitis atópica, candidiasis, infección gástrica por *Helicobacter Pylori*, enfermedad inflamatoria intestinal e infecciones respiratorias altas. (20)

Las primeras especies introducidas en la investigación probiótica fueron *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium bifidum*, y se les han atribuido varios beneficios potenciales para la salud, como la reducción de la susceptibilidad a infecciones, control de alergias, así como la regulación de la presión arterial y valores séricos de colesterol. (33)

La administración de probióticos junto terapia de hidratación oral reduce significativamente la duración de la diarrea infecciosa aguda en lactantes y niños provocada por rotavirus. Se cree que el aumento de la producción de IgA específica de rotavirus, la reducción de la permeabilidad de la mucosa intestinal y la normalización de la microbiota intestinal son los mecanismos detrás de este resultado favorable. (34) Un estudio en Europa, demostró que la administración simultánea de una solución hipotónica de hidratación oral y *Lactobacillus GG* redujo la duración de la diarrea y la estancia en el hospital. (35) Los datos actualmente disponibles demuestran que los probióticos son más eficaces en la prevención de las enfermedades inflamatorias intestinales que en la supresión de la enfermedad activa. (36)

Michail et al; 2006 (37) informaron que el mayor beneficio en niños se ha obtenido en el tratamiento de diarrea infecciosa aguda, la prevención de diarrea asociada con antibióticos y prevención y tratamiento de las manifestaciones alérgicas. En general, el uso de probióticos es beneficioso y sus efectos adversos son extremadamente raros.

Hatakka et al; 2001 (38) examinaron si el consumo a largo plazo de una leche con *Lactobacillus GG* podría reducir las infecciones gastrointestinales y respiratorias participaron 571 niños sanos de 1-6 años: 282 en el grupo de intervención y 289 en el grupo de control. El consumo diario de leche en ambos grupos fue de 260 ml. Los niños del grupo de intervención hubo una reducción relativa del 17% de infecciones respiratorias con complicaciones e

infecciones de las vías respiratorias inferiores y una reducción relativa del 19% en los tratamientos con antibióticos. Concluyeron que el *Lactobacillus GG* puede reducir las infecciones respiratorias y su gravedad.

La ingestión de leche fermentada con bifidobacterias conduce a su aumento en las heces y lleva a una disminución de la actividad de la β -glucuronidasa. (39)

En un estudio piloto se investigó el posible efecto de *Lactobacillus GG* en niños con enfermedad de Crohn activa. En cuanto a los resultados clínicos, los pacientes mostraron una mejora significativa, por lo tanto, *Lactobacillus GG* parece ser efectivo para mejorar el estado clínico de los niños con esta enfermedad. (40)

Aunque algunos de los denominados productos probióticos se declaran útiles para tratar y prevenir las infecciones del tracto urinario, su comercialización no está respaldada por estudios humanos debidamente realizados. En un estudio a pequeña escala, la aplicación vaginal de *Lactobacillus rhamnosus* en combinación con cepas de *Lactobacillus reuteri* parece prevenir las infecciones del tracto urogenital. Otros estudios con administración oral de *Lactobacillus rhamnosus GG*, *Lactobacillus rhamnosus GR1* y *Lactobacillus reuteri RC-14* tampoco mostraron, o mostraron sólo indirectamente, una posible reducción del riesgo de infección. (41)

Una reciente revisión se centró en el efecto de los probióticos en la prevención de las infecciones del tracto urogenital en mujeres embarazadas o en mujeres que planean el embarazo. Aunque los estudios eran demasiado pequeños para sacar conclusiones firmes, los resultados agrupados mostraron una reducción del 81% en el riesgo de infección genital con el uso de probióticos. (42)

Twetman et al;2009 (43) encontraron una disminución en el porcentaje de infecciones respiratorias en los niños que recibieron *Lactobacillus GG* en la leche, en comparación con los que recibieron placebo. Otro estudio, elaborado por Rooss et al; 2001 (44) utilizaron un innovador aerosol constituido por cepas de estreptococos alfa hemolíticos, previamente seleccionadas por su actividad inhibitoria frente a los patógenos implicados. La aplicación del aerosol junto con el tratamiento antimicrobiano resultó en una reducción de la incidencia de recaídas y por tanto redujo la necesidad de tratamiento antimicrobiano.

1.4.3.2. Cavidad oral

El uso de probióticos en cavidad oral, para el control y/o prevención de enfermedades infecciosas, requieren bacterias con gran potencial de competir por el sitio, inhibiendo el crecimiento de los microorganismos patógenos y permaneciendo en el sitio de la cavidad bucal, además de tener influencia positiva en la respuesta del sistema inmunológico. (18)

Existe un concepto en el que estos microorganismos "benéficos" pueden habitar una biopelícula y proteger realmente el tejido oral de la enfermedad. Un estudio in vitro sugiere que *Lactobacillus rhamnosus GG* (LGG) puede inhibir la colonización de *Streptococcus sobrinus*, reduciendo así la incidencia de caries en los niños. (45)

Soëderling et al; 2011 (25) compararon los efectos de cepas de *Lactobacillus* sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans*. Las cepas bacterianas utilizadas incluyeron 4 cepas de *Streptococcus mutans* y 3 cepas probióticas: *Lactobacillus rhamnosus GG*, *L. plantarum* *L. reuteri*. La capacidad del *Streptococo mutans* para adherirse y crecer en una superficie lo que refleja la formación de biofilm, se estudió en presencia de los *Lactobacillus* (LB). También se estudió el efecto de los *Lactobacillus* sobre la viabilidad de *Streptococos mutans*. Todos los LB inhibieron la formación de *Streptococos mutans*: *L. plantarum* y *L. reuteri* mostraron una inhibición más débil en comparación con *L. rhamnosus GG*. En conclusión, los resultados demostraron que los probióticos de uso común interfieren en el crecimiento de *Streptococo mutans*.

Rebolledo et al; 2013 (46) se plantearon como objetivo medir el efecto de las cepas probióticas *Lactobacillus casei* variedad *rhamnosus* (LCR32) y *Lactobacillus johnsonii* (LA1) sobre el crecimiento in vitro de *Streptococo mutans*. Ambos probióticos en las dos concentraciones más altas no obtuvieron diferencias significativas en relación a los halos de inhibición. Sin embargo, el probiótico con la cepa *Lactobacillus casei* variedad *rhamnosus* (LCR35), mostró halos de inhibición más significativos en comparación a la cepa *Lactobacillus johnsonii* (LA1).

Sing et al; 2007 (47) realizaron un estudio con el objetivo de comparar los niveles de *Streptococos mutans* salivares y *lactobacillus* en niños de 12-14 años sin caries, antes y después del consumo de probióticos presente en helado. Los niños seleccionados fueron

asignados al azar en dos grupos I y II, después de un período inicial de 1 semana, los niños recibieron los helados 'A' y 'B', respectivamente, durante 10 días. Al ser un estudio cruzado, los helados se intercambiaron en los dos grupos después de un período de lavado de 2 semanas. En la evaluación estadística, observaron que el helado probiótico produjo una reducción estadísticamente significativa ($p = 0,003$) en los niveles de *Streptococcus mutans* sin efecto significativo sobre los niveles de lactobacilos.

Näse et al, 2001 (48) examinaron los efectos del consumo prolongado de *Lactobacillus rhamnosus GG* en la salud de los niños. Participaron 594 niños, de 1 a 6 años. Los niños bebieron leche que contenía concentraciones bastante bajas de *Lactobacillus rhamnosus GG* 5 días a la semana durante 7 meses. La leche probiótica mostró una tendencia muy moderada a reducir los niveles de *Streptococcus mutans*, que se detectaron en una muestra de placa de saliva agrupada. El estudio no mostró una reducción significativa en la prevalencia de caries entre el grupo prueba y el control. Sin embargo, se observó una tendencia a un menor desarrollo de caries en niños de 3-4 años de edad. Esto podría reflejar una "ventana de infectividad" para *Lactobacillus rhamnosus GG*, aunque no se determinó la colonización oral de esta especie. Se concluyó que el uso de leche que contenga la bacteria probiótica LGG brinda efectos benéficos en la salud oral.

Ahola et al; 2002 (49) examinaron si el consumo a corto plazo de queso que contenía *Lactobacillus rhamnosus GG* y *Lactobacillus rhamnosus LC 705* afectaría de manera beneficiosa a la flora microbiológica cariogénica oral de adultos jóvenes en comparación con el consumo de queso regular. Durante el período de intervención de 3 semanas, los 74 sujetos adultos (edad 18-35 años) comieron el queso probiótico o el queso de control. La dosis diaria era de 15 g fraccionado 5 veces al día. Los resultados mostraron que el queso con probióticos era beneficioso, incluso durante una intervención tan corta, en la reducción de *Streptococcus mutans*. En el grupo de probióticos el recuento de *Streptococcus mutans* disminuyó durante las 3 semanas posteriores al tratamiento, en comparación con las muestras tomadas después de la intervención. Los resultados del presente estudio muestran que este tipo de intervención probiótica podría ser beneficioso para aquellos con los altos recuentos de *Streptococcus mutans*.

KavalogluCildir et al; 2009 (50) se realizó con 24 adolescentes sanos de 12 - 16 años sometidos a tratamiento de ortodoncia; los sujetos ingirieron 200 g de yogur de frutas que contiene *Bifidobacterium animalis subsp. Lactis* una vez al día y un yogur control. Se observó

una reducción estadísticamente significativa de *Streptococcus mutans* salivales después del consumo de yogur probiótico. Por lo que se concluyó, que el consumo diario a corto plazo de yogur que contiene *Bifidobacterium animalis subsp. lactis* puede reducir los niveles de *Streptococcus mutans* en la saliva durante el tratamiento de ortodoncia.

Quispe D. G; 2012 (51) realizó un estudio para evaluar el efecto inhibitorio in vitro de un bioyogur con cepas probióticas sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). Se usó un bioyogur con cepas de *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium*. Así mismo se usó un yogur natural como control. El efecto inhibitorio comparando ambos yogurts establece una diferencia altamente significativa del yogur probiótico sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* $p < 0,05$.

Geldres E; 2013 (52) en un ensayo clínico controlado, que se realizó en un total de 27 niños de 3 y 4 años sin lesiones cariosas, analizó el efecto inhibitorio de un bioyogur comercial con cepas probióticas sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans*, los sujetos ingirieron 25 ml diarios de yogur sin probióticos durante 1 mes, luego de un periodo de blanqueo de 15 días, se les dio yogur con cepas probióticas durante el mismo periodo (1 mes). Se obtuvo como resultados una mayor disminución en el recuento de *Streptococcus mutans* luego de la ingesta de yogur con probióticos.

Stecksén-Blicks et al; 2009 (53) El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la leche suplementada con bacterias probióticas y fluoruro sobre el desarrollo de la caries en niños preescolares. En el estudio participaron niños de 1-5 años. Los centros fueron asignados aleatoriamente a dos grupos paralelos: los niños del grupo de intervención consumieron 150 ml de leche suplementada con *Lactobacillus rhamnosus* y 2,5 mg de fluoruro por litro durante el almuerzo, mientras que el grupo control recibió leche estándar. Se concluye que el consumo diario de leche que contiene bacterias probióticas y el fluoruro reducen la caries en niños preescolares en un 75%.

Nikawa, et al; 2011 (54) el objetivo que se plantearon fue encontrar el probiótico, que tiene el potencial de inhibir in vitro patógenos cariogénicos. Se examinaron 42 probióticos, de los cuales *Lactobacillus rhamnosus* mostraba el potencial para inhibir patógenos cariogénicos, se realizó un ensayo controlado con placebo y cohorte con 50 participantes. El yogur comestible que contiene *Lactobacillus rhamnosus* redujo significativamente *Streptococcus*

mutans ($P < 0,01$). Estos resultados sugieren que el yogur con *Lactobacillus rhamnosus* podría reducir el riesgo de caries dental.

Pinto et al; 2013 (55) evaluaron cómo el consumo de yogur que contiene *Bifidobacterium animalis subsp. Lactis* durante un período de 2 semanas afecta a los *Streptococos mutans* y *Lactobacillus* de saliva y biofilm dental en pacientes sometidos a tratamiento ortodóncico. Participaron 26 voluntarios que ingirieron yogur diariamente durante 2 semanas. No hubo diferencia entre el yogur que contenía probiótico y el yogur testigo para cualquiera de las variables estudiadas ($p > 0,05$). Se observó una reducción en los recuentos de microorganismos cultivables totales en el biofilm dental después de la ingestión de yogures (ambos $p < 0,05$ vs. basal), pero no en la saliva ($p < 0,05$). Como conclusión determinaron que la ingesta diaria de yogur con o sin probióticos durante un período de 2 semanas fue beneficiosa para reducir los recuentos microbianos totales en la placa dental. Por lo tanto, no se obtuvieron beneficios adicionales por el uso de la cepa probiótica probada.

Caglar et al; 2005 (56) el objetivo que se plantearon fue examinar si el consumo a corto plazo de yogur que contenía bifidobacterias afectaría los niveles salivales de *Streptococos mutans* y *Lactobacillus* en adultos jóvenes. Participaron 21 sujetos sanos durante cuatro períodos, ingerieron 200 g de yogur que contenía *Bifidobacterium* una vez al día o yogur de control sin bacterias viables. Se registró una reducción estadísticamente significativa ($p < 0,05$) de *Streptococos mutans* después del consumo de yogur probiótico. Una tendencia similar se observó para los *Lactobacillus*, pero esta disminución no alcanzó diferencia estadísticamente significativa. En conclusión, las Bifidobacterias probióticas en el yogur pueden reducir los niveles de microorganismos asociados a la caries dental.

Rodriguez. et al; 2016 (57) el objetivo fue comparar leche suplementada con lactobacilos probióticos con leche estándar, en el incremento de caries en niños preescolares después de 10 meses de la intervención. Participaron niños de 2 y 3 años ($n = 261$) los niños del grupo intervención recibieron 150 mL de leche suplementada con *Lactobacillus rhamnosus*, mientras que los niños del grupo de control recibieron leche estándar. No se detectaron diferencias en la prevalencia de caries entre los grupos al inicio ($P = 0,68$). Después de 10 meses de ingesta probiótica, la prevalencia de caries fue del 54,4% en el grupo probiótico y del 65,8% en el grupo control. El porcentaje de nuevos individuos que desarrollaron lesiones cavitadas en el grupo control (24,3%) fue significativamente mayor que en el grupo probiótico

(9,7%). En el nivel de las lesiones cavitadas, el incremento de nuevas lesiones de caries dentro de los grupos mostró 1,13 nuevas lesiones por niño en el grupo probiótico en comparación con 1,75 lesiones en el grupo control ($P < 0,05$). El grupo probiótico mostró un incremento de $0,58 \pm 1,17$ nuevas lesiones en comparación con $1,08 \pm 1,70$ nuevas lesiones observadas en el grupo control. En conclusión, la ingesta regular a largo plazo de leche suplementada con probióticos puede reducir el desarrollo de la caries en niños en edad preescolar.

Taipale et al; 2012 (58) evaluaron el efecto de la administración temprana del probiótico *Bifidobacterium animalis subespecie lactis* sobre *Streptococcus mutans* en 106 recién nacidos. Los sujetos recibieron bacterias probióticas, xilitol o sorbitol desde la edad de 1-2 meses hasta la edad de 2 años, dos veces al día. La concentración de *Streptococcus mutans* en la placa de las madres al inicio del estudio fue alta y similar en todos los sujetos, sin diferencias significativas. Al final del estudio, los niños mostraron un porcentaje de colonización de *Streptococcus mutans* bastante bajo. A la edad de 4 años, los mismos niños fueron reevaluados para analizar el nivel de *Streptococcus mutans* en la placa y la aparición de caries dental. No se observaron diferencias en ambos parámetros.

Cildir et al; 2009 (59) el objetivo fue examinar si el consumo a corto plazo de yogur que contiene Bifidobacterias probióticas afectaría los niveles de *Streptococcus mutans* y Lactobacillus en pacientes con aparatos ortodónticos. Participaron 24 adolescentes sanos (12-16 años) con tratamiento ortodóntico, ingerieron 200 g de yogur que contenía *Bifidobacterium animalis subsp. Lactis* una vez al día o un yogur de control sin bacterias viables. Se registró una reducción estadísticamente significativa de los *Streptococcus mutans* después del consumo de yogur probiótico ($P < 0,05$), lo que contrastaba con el yogur testigo. No se observaron alteraciones significativas de los recuentos de Lactobacillus salivales. El consumo diario a corto plazo de yogur de frutas que contiene *Bifidobacterium animalis subsp. Lactis* DN-173010 puede reducir los niveles de *Streptococcus mutans* en la saliva durante el tratamiento ortodóntico.

Ríos et al; 2013 (60) Su objetivo fue determinar el efecto inhibitorio in vitro, de un bioyogurt con cepas probióticas sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Se utilizaron dos sistemas: sistema 1 constituido por bioyogurt sin cepas probióticas y sistema 2 constituido por yogurt con cepas probióticas, ambos fueron inoculados con la suspensión de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, evaluándose mediante recuento bacteriano a los 0, 4, 8,

12, 16, 20, y 24 horas. El bioyogurt comercial con cepas probióticas, produjo una inhibición del crecimiento de *Streptococo mutans* de $1,4 \times 10^9$ UFC/ml a $0,083 \times 10^9$ UFC/ml ($p < 0,001$). El bioyogur que contiene las cepas *Lactobacillus acidophilus*, y *Bifidobacterium* tiene efecto inhibitorio “in vitro” sobre el crecimiento de *Streptococos mutans* ATCC 25175, mostrando una alta significancia $p < 0,001$, por lo que puede ser beneficioso en la prevención de la caries.

Hedayati, et al; 2015 (19) evaluaron el efecto de chicles con probióticos sobre el desarrollo de la caries en la en niños de edad preescolar. El grupo de estudio consistió en 138 niños sanos de 2 a 3 años de edad, fueron asignados al azar al grupo prueba o al grupo placebo. Los padres del grupo de prueba recibieron instrucciones de dar a su hijo un comprimido de mascar al día que contenía tres cepas de probióticas vivas (ProBiora3®) y el grupo placebo recibió tabletas idénticas sin bacterias. La duración fue de un año y la prevalencia y el incremento de lesiones cariosas iniciales y manifiestas se examinó al inicio y al seguimiento. El incremento de caries fue significativamente menor en el grupo de prueba cuando se comparó con el grupo placebo, 0,2 frente a 0,8 ($p < 0,05$). La reducción del riesgo fue de 0,47 (IC 95% 0,24-0,98). Los resultados sugirieron que el desarrollo de caries en la primera infancia podría reducirse mediante la administración de estos comprimidos probióticos como complemento al uso diario de pasta de dientes con flúor en niños en edad preescolar.

Richa et al; 2011 (61) compararon los niveles de *Streptococos mutans* y Lactobacilos en saliva de niños, antes y después del consumo de probióticos. Realizaron un ensayo doble ciego, cruzado, controlado con placebo en 40 niños de 12 a 14 años, sin caries clínicamente detectables. Los niños seleccionados fueron asignados al azar en dos grupos I y II. Después de un período inicial de 1 semana, los niños del grupo I y II recibieron los helados 'A' y 'B', respectivamente, durante 10 días. Al ser un estudio cruzado, los helados se intercambiaron en los dos grupos después de un período de lavado de 2 semanas. En la evaluación estadística, se observó que el helado probiótico produjo una reducción estadísticamente significativa ($p = 0,003$) en los niveles de estreptococos salivares sin efecto significativo en los niveles de lactobacilos. El helado probiótico que contiene *Bifidobacterium lactis* Bb-12 ATCC27536 y *Lactobacillus acidophilus* La-5 reduce los niveles de microorganismos asociados a caries.

Ashwin et al; 2015 (62) evaluaron el riesgo de caries basado en los niveles de *Streptococos mutans* en niños de 6-12 años antes y después del consumo de helado probiótico que contenía *Bifidobacterium lactis* Bb-12 y *Lactobacillus acidophilus* La-5. Realizaron un

ensayo doble ciego controlado con placebo en 60 niños de edades comprendidas entre los 6 y los 12 años con dientes cariados, faltantes y llenos (DMFT). Se dividieron aleatoriamente en dos grupos iguales. Durante los siguientes siete días se les dio a ambos grupos helados marcados con A y B. Se recogieron muestras de saliva después del consumo de helado al final del período de estudio y también después de un período de lavado de 30 días y de nuevo después de seis meses. Las muestras se inocularon y se contaron las colonias. En la evaluación estadística realizada por los estudiantes de la prueba t, el helado probiótico trajo una reducción significativa en el recuento de *Streptococo mutans* después de siete días de ingestión de helado ($p > 0,001$) y también después de 30 días de lavado ($p < 0,001$). No hubo una reducción significativa ($p = 0,076$) por el consumo normal de helado. Después de seis meses del período de estudio en ambos grupos, los niveles salivales de *Streptococos mutans* eran similares a la línea de base. El helado probiótico que contiene *Bifidobacterium lactis* Bb-12 y *Lactobacillus acidophilus* La-5 puede causar una reducción del organismo causante de caries. La dosificación de los organismos probióticos a largo plazo sobre la salud bucal sigue siendo necesario

Asif et al; 2015 (63) evaluaron la eficacia de los probióticos en polvo liofilizado en el recuento de *Streptococos mutans* en escolares de 12 a 15 años. El estudio se realizó en dos fases del estudio in vitro (fase I) e in vivo (fase II), que fue un ensayo clínico doble ciego, aleatorizado y controlado con placebo. Un total de 33 escolares entre 12-15 años fueron incluidos en el estudio. Fueron asignados en tres grupos. El grupo A incluye 11 niños que usan *Lactobacillus acidophilus* liofilizado, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium bifidum* y *Bifidobacterium lactis*. El grupo B incluyó a 11 niños usando bacilo de ácido láctico liofilizado solamente. El grupo C incluyó a 11 niños que usaron polvo de placebo. El estudio se realizó durante un período de tres semanas y el examen y el muestreo de los sujetos se realizaron en los días siete, 14 y 21. Para ambos grupos de intervención A y B, se registró una reducción estadísticamente significativa ($P < 0,05$) en los recuentos de *Streptococos mutans*. La administración oral de probióticos mostró un efecto a corto plazo sobre la reducción del recuento de *Streptococos mutans* y mostró un papel preventivo en el desarrollo de la caries.

CAPÍTULO II

EL PROBLEMA

2.1. Planteamiento del problema

A pesar del empleo del flúor y de otros métodos preventivos, la caries dental continúa siendo una de las enfermedades orales más frecuentes que afecta a la gran mayoría de la población mundial. Debido a esto, las investigaciones en los últimos años se han enfocado sobre el control de los microorganismos orales patógenos a través de la bacterioterapia con el uso de probióticos, existiendo aún controversias en cuanto al beneficio de estos microorganismos sobre la prevención de la caries dental.

Por lo tanto, fue planteado el siguiente problema de investigación ¿Cuál es el efecto de los probióticos presentes en bioyogurt y yogurt A-B sobre el crecimiento de *Streptococo mutans* ATCC25175 microorganismo responsable del desarrollo de caries dental?

2.2. Hipótesis

2.2.1. Hipótesis de investigación (H1)

El yogurt A-B inhibe significativamente el crecimiento de *Streptococo mutans* ATCC25175 comparado con los bioyogurt.

2.2.2. Hipótesis nula (H)

El yogurt A-B no inhibe significativamente el crecimiento de *Streptococo mutans* ATCC25175 comparado con los bioyogurt.

2.4. Objetivos

2.4.1. Objetivo general

- Determinar el efecto inhibitorio de los probióticos presentes en bioyogurt y yogurt A-B sobre el crecimiento de *Streptococo mutans* ATCC25175.

2.4.2. Objetivos específicos

- Determinar el efecto inhibitorio del probiótico *Lactobacillus GG* sobre el crecimiento de *Streptococo mutans* ATCC25175.
- Determinar el efecto inhibitorio del probiótico *Bifidobacterium Lactis* sobre el crecimiento de *Streptococo mutans* ATCC25175.
- Determinar el efecto inhibitorio de los probióticos *Lactobacillus acidophilus* *Bifidobacterium* sobre el crecimiento de *Streptococo mutans* ATCC25175.
- Determinar el efecto inhibitorio del yogurt convencional sobre el crecimiento de *Streptococo mutans* ATCC25175.
- Comparar cuál de los bioyogurt presenta mayor capacidad de inhibición sobre *Streptococo mutans* ATCC25175.

2.5. Justificación

Cada día, el ser humano consume un gran número de microorganismos vivos, predominantemente bacterias. Aunque estos organismos están presentes naturalmente en los alimentos y el agua, también se pueden añadir deliberadamente durante su procesamiento. Desde hace varias décadas, las bacterias llamadas probióticas han sido añadidas a algunos alimentos debido a sus efectos benéficos para la salud humana. El yogurt y los productos lácteos constituyen la fuente más importante de los probióticos para los seres humanos.

Tradicionalmente, los probióticos se han asociado con la salud intestinal, y la mayor parte del interés clínico se ha centrado en la prevención o el tratamiento de infecciones y enfermedades gastrointestinales; Sin embargo, varios investigadores también han sugerido efectos de los probióticos en la salud bucal.

La caries de la infancia temprana es una de las condiciones de salud más graves entre los niños, es importante investigar nuevas estrategias preventivas.

Las medidas de tratamiento que apuntaban a aniquilar toda la flora oral podrían tener consecuencias negativas no deseadas. Por lo tanto, cada vez más esfuerzos en la investigación de la caries están dedicados a la búsqueda de enfoques que pueden inhibir selectivamente a los patógenos orales en lugar de toda la comunidad microbiana. Hoy en día los cultivos probióticos

poseen gran relevancia a nivel mundial, debido a que mediante numerosos estudios se ha logrado demostrar diversos efectos benéficos para el ser humano, tales como el favorecimiento del equilibrio de la microflora intestinal, estimulación del sistema inmune, competencia contra patógenos, entre otros.

Existen razones para considerar que el mecanismo de acción de los probióticos en la boca sea similar a lo que acontece en el tracto gastrointestinal. Sin embargo, las investigaciones sobre la acción de los probióticos en la cavidad oral aún son limitadas. Se requiere de mayor investigación respecto a la colonización de las especies probióticas y de sus posibles efectos sobre la biopelícula oral.

Debido a que no existe ningún estudio en el Ecuador que vea la efectividad de los probióticos comercializados en el país y su acción sobre *Streptococcus mutans* se realizó este estudio considerando la importancia de este conocimiento para la planificación de estrategias de prevención de caries en niños y adolescentes.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1. Diseño de la investigación

Es un estudio de modelo experimental in vitro, los resultados se obtuvieron a través de conteo de unidades formadoras de colonias de *Streptococo mutans* ATCC25175.

Contando con la aprobación del Comité de Investigación de la Facultad de Odontología de la Universidad Central del Ecuador, se procedió con la ejecución de la investigación, el análisis y la obtención de los resultados fueron realizados en VILLALAB Laboratorios Especializados que se encuentran ubicados en la ciudad de Quito.

3.2 Población de estudio y muestra

Cálculo del número de unidades experimentales:

Se quiere obtener una muestra balanceada ($n_1=n_2=n_3=n_4$), con los siguientes parámetros:

- Nivel de confiabilidad ($1-\alpha$) del 95%, por lo que $\alpha = 5\%$.
- Nivel de Potencia ($1-\beta$) de 90%. (64)

Error máximo permitido (expresados en desviaciones estándar) $\Delta=1$; es decir, que el error máximo será igual a una desviación estándar de los datos. (64)

Con estos parámetros, se encuentra en la tabla (Anexo 1) el valor de $\lambda=14,18$. Por lo que la muestra de cada grupo es de: (64)

$$n = \frac{\lambda}{\Delta} = \frac{14,18}{1} = 14,18 \approx 15.$$

De manera que el número total de unidades experimentales es 60, que se divide en cuatro grupos de 15 unidades cada una.

- **Grupo Control G1:** 15 cajas Petri con el cultivo de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 inoculado en el yogurt convencional el cuál no contiene cepas probióticas.
- **Grupo Problema G2:** 15 cajas Petri con el cultivo de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 inoculado en el bioyogurt con cepas probióticas *Lactobacillus GG*.
- **Grupo Problema G3:** 15 cajas Petri con el cultivo de *Streptococcus mutans* ATCC inoculado en el bioyogurt con cepas probióticas *Bifidobacterium Lactis*.
- **Grupo Problema G4:** 15 cajas Petri con el cultivo de *Streptococcus mutans* ATCC inoculado en el yogurt A-B con cepas probióticas *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium*.

3.3- Criterios de inclusión y exclusión

3.3.1 Criterios de inclusión

- Bioyogurt, Yogurt A-B y Yogurt convencional de sabor frutilla y venta libre en territorio ecuatoriano

3.3.2 Criterios de exclusión

- Muestras en las que se observe deficiencia en la manipulación y crecimiento Bacteriano

3.4. Definición operacional de las variables

Las variables que intervienen en el presente proyecto de investigación se describen a continuación en el siguiente cuadro:

| VARIABLE | DEFINICION OPERACIONAL | TIPO | CLASIFICACION | INDICADOR CATEGORICO | ESCALA DE MEDIDA |
|---------------------------|--|---------------|--------------------------|---------------------------------|--|
| <i>Streptococo mutans</i> | Es una bacteria Gram positiva, anaerobia facultativa, es acidófilo ya que vive en medio con pH bajo, acidogénico por metabolizar los azúcares a ácidos y acidúrico por sintetizar ácidos | Dependiente | Cuantitativa Continúa | Unidades Formadoras de Colonias | ≤ 10.000 ufc/ml = 0 20.000 - 50.000 ufc/ml = 1 >50.000 ufc/ml = 2 |
| Yogurt convencional | Es un producto que se obtiene de la fermentación de la leche, utilizando un cultivo mixto formado por bacterias | Independiente | Cualitativa Nominal | Yogurt G1 | 0= inhibición total 1= inhibición media 2= no |
| Bioyogurt | Es yogur con cultivos vivos y activos que posee bacterias probióticas que incrementan el valor terapéutico del mismo aportando beneficios adicionales a la salud. 112 | Independiente | Cualitativa Nominal | Bioyogurt G2 Bioyogurt G3 | 0= inhibición total 1= inhibición media 2= no |

| | | | | | |
|-------------|--|---------------|---------------------|-----------|---|
| Yogurth A-B | Se denomina yogur-AB siendo Lactobacillus acidophilus el cultivo-A y la especie del género Bifidobacterium el cultivo B. | Independiente | Cualitativa Nominal | Yogurt G4 | 0= inhibición total 1= inhibición media 2= no |
|-------------|--|---------------|---------------------|-----------|---|

3.5. Materiales y Métodos

El procedimiento experimental se realizó en el laboratorio de Análisis Clínico y Bacteriológico VILLALAB, bajo la supervisión del Bioquímico Clínico Byron Villacís.

La cepa de *Streptococo mutans* ATCC 25175 fue adquirida en el Instituto de Salud Pública INSPI.

Los Equipos, materiales e instrumentales para la evaluación microbiológica son los siguientes:

3.5.1. Equipos

- Refrigeradora.
- Incubadora.
- Termómetro
- Computadora.
- Cámara profesional.

3.5.2. Materiales

- Agar Chocolate.
- Cepa crio preservada *Streptococo mutans* ATCC 25175.
- Cajas petri.
- Tubos de ensayo.
- Probetas.
- Mechero.

- Yogurt A-B
- Bioyogurt
- Yogurt convencional
- Gradilla
- Asa calibrada.
- Guantes.
- Mascarilla.
- Hisopos estériles.
- Gorro desechable.
- Lapiceros.
- Esferos.
- Gafas protectoras.

3.6. Procedimiento

3.6.1. Cultivo

El medio de cultivo usado fue Agar Chocolate, recomendado para el aislamiento y desarrollo de *Streptococcus mutans*. Medio de cultivo enriquecido. (65)

Figura 1 Agar Chocolate



3.6.2. Reactivación cepa *Streptococo mutans* ATCC 25175

La cepa de *Streptococo mutans* ATCC 25175 utilizada se mantuvo bajo refrigeración en medio de transporte Stuart entre 2 y 8°C, previo a la siembra se ambientó la cepa a temperatura ambiente para luego proceder a la siembra en agar chocolate por medio del hisopo portador de la cepa, la técnica empleada fue un estriado en tres tiempos finalmente se incubó por 48 horas a una temperatura de 37°C. (65)

Figura 3 Medio Stuart



Figura 2 Reactivación *Streptococo mutans*

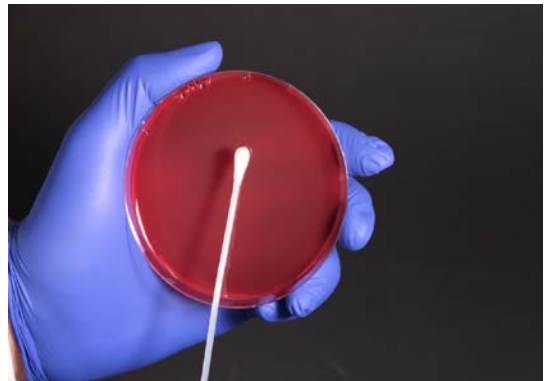
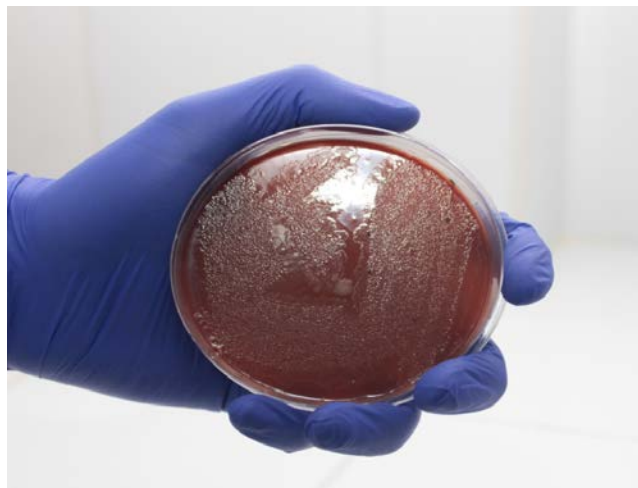


Figura 4 *Streptococo mutans* activado



3.6.3. Determinación género y especie

Para la validación de resultados se verificará el género y especie por medio de pruebas específicas para *Streptococo mutans*. Se realizaron las siguientes:

- Para género tinción Gram cuyo resultado es Cocos gram positivos dispuestos en cadenas, a más de la prueba de Catalasa misma que deberá dar un resultado negativo.
- Manitol y Bilis Esculina pruebas para determinar especie que deberán dar un resultado positivo. (65)

Figura 6 Prueba Manitol

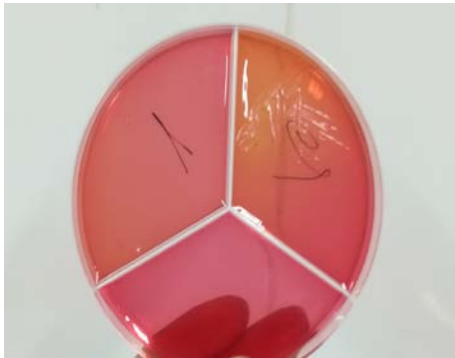


Figura 5 Prueba bilis esculina



3.6.4. Distribución de bioyogurt, yogurt a-b y yogurt convencional

Se distribuirán 6ml de cada uno de los Yogurts en tubos de ensayo para proceder a la inoculación de la cepa de *Streptococo mutans* antes verificada. Una vez realizada lo homogenización será incubada a una temperatura de 37°C por 48 horas. (65)

Serán una totalidad de 15 muestras para cada uno de los grupos de estudio que se encuentran distribuidos de la siguiente manera:

- G1: Yogurt convencional
- G2: Bioyogurt Lactobacillus GG
- G3: Bioyogurt Bifidobacterium lactis
- G4: Yogurt A-B

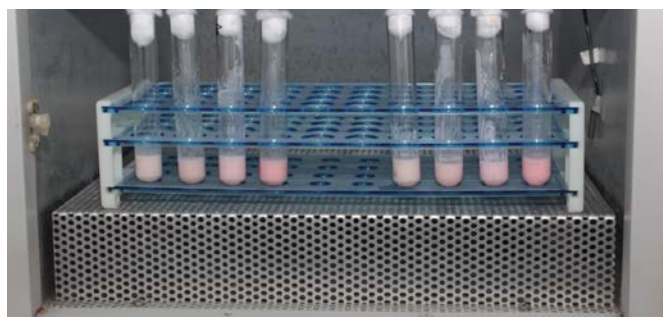
Figura 7 Distribución Yogurt A-B, Bioyogurt y Yogurt convencional



Figura 8 Inoculación Estreptococo mutans en Yogurt



Figura 9 Incubación muestras



3.6.5. Conteo unidades formadoras de colonias

Para el conteo se tomará la mezcla previamente incubada, por medio de un aza estéril, esto se realizará en el medio de elección para el crecimiento de *Streptococo mutans* Agar Chocolate. La siembra se realizará siguiendo la técnica de estriado con la finalidad de cubrir la totalidad de la superficie de la caja Petri para poder obtener resultados acertados. (65)

Se procede a la incubación de la siembra con la finalidad de observar que tipo de crecimiento se presentará, se incubará durante 24 horas a una temperatura de 37°C. (65)

Una vez obtenidas las muestras se procederá a realizar el conteo de UFC, procedimiento que será realizado por el BQ. Byron Villacís M.S.c. Los resultados serán guiados por medio de las siguientes escalas de medida:

- 0 = ≤ 10.000 ufc
- 1= 10.000 a 50.000 ufc
- 2= > 50.000 ufc

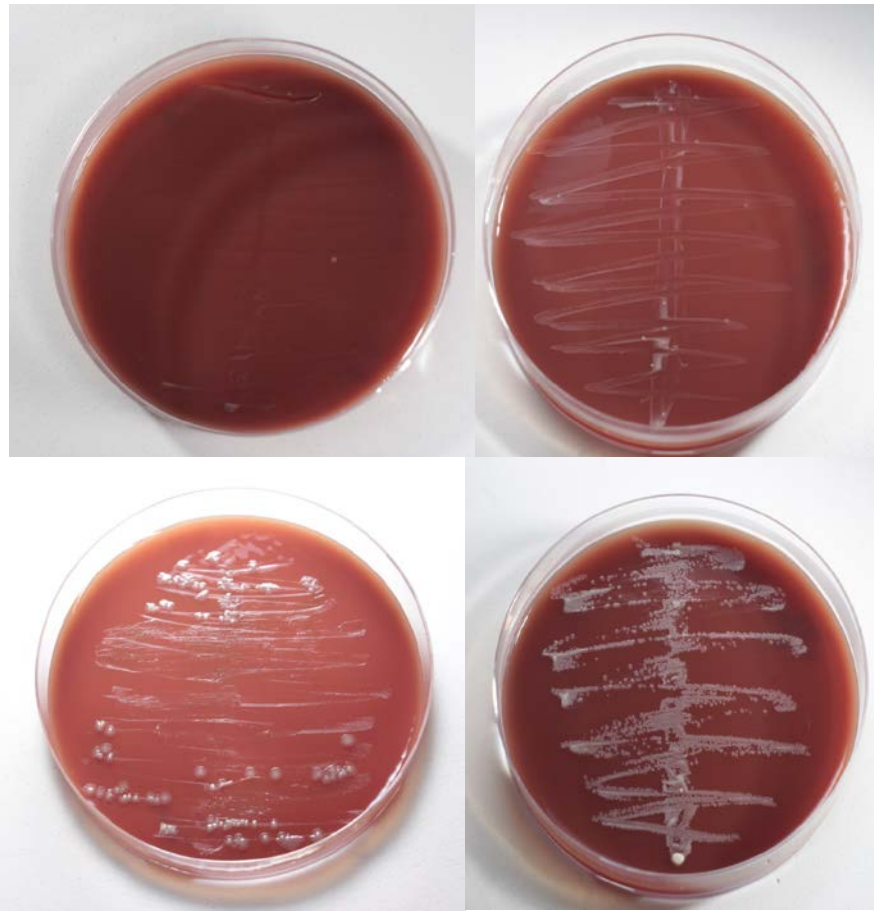
Resultados equivalentes a la escala de medida:

- 0= inhibición total
- 1= inhibición media
- 2= no inhibe

Figura 10 Siembra para posterior conteo de UFC



Figura 11 Conteo UFC



3.7. Forma y análisis para la obtención de los resultados

Los datos de medición de unidades formadoras de colonias se organizarán en una planilla de Microsoft Excel identificando cada uno de los grupos de estudio. Los datos serán transportados al programa SPSS 21. Versión 22 y MINITAB version 16. Se realizará una estadística descriptiva y se procederá con la aplicación de una prueba ANOVA con un nivel de significancia de 5%. (66) (67)

3.8. Aspectos bioéticos

En referencia a los aspectos bioéticos, la investigación no consideró en su muestra la participación de seres humanos, lo que se utilizó son bebidas lácteas: Bioyogurt Tony y Regeneris, Yogurt A-B y Yogurt convencional Pura crema y colonias de microorganismos (*Streptococos mutans* ATCC 25175)

Bajo esta consideración:

- a) Se busca contribuir con medidas preventivas para evitar el desarrollo de caries en edades tempranas a través del consumo de probióticos presentes en yogurt, los resultados aportarían sobre todo al área Odontopediátrica.
- b) La investigación no se realizó en seres humanos por lo que el consentimiento informado no aplica
- c) La investigación no exige medidas de protección de derechos, seguridad, libre participación, entre otros.
- d) Al no trabajar con seres vivos no existieron riesgos, ni exposición peligrosa.

- **Beneficencia**

La finalidad del presente estudio fue dar a conocer la inhibición de la cepa *Streptococo mutans* usando Bioyogurt, Yogurt A-B, con la finalidad de aportar nuevas medidas preventivas.

- **Confidencialidad**

La investigación no se realizó en seres humanos por lo que la confidencialidad no aplica

- **Protección de la población vulnerable**

La investigación no se realizó en seres humanos por lo que la protección de la población vulnerable no aplica

- **Riesgos potenciales**

Manejo de desechos: Se realizó según protocolos de eliminación de desechos del Laboratorio Bacteriológico VillaLab. (Anexo 2)

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

La medida de unidades formadoras de colonias se organizó haciendo notar el número de muestra y el grupo al que pertenecía, tal como se observa en la tabla 1.

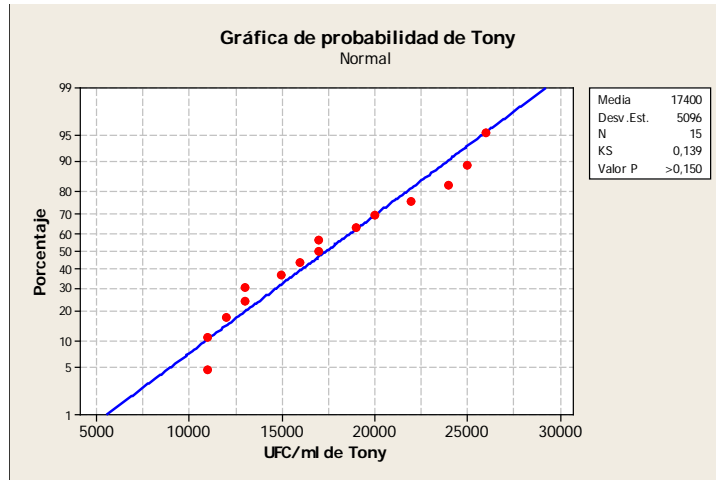
Tabla 1 Medidas Unidades formadoras de colina (UFC) por grupo

| MUESTRAS | PURA CREMA | BIOYOGURT TONY | BIOYOGURT REGENERIS | YOGURT A-B CHIVERIA |
|----------|---------------------|---------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| 1 | 83000 ufc/ml | 17000 ufc/ml | 26000 ufc/ml | 1000 ufc/ml |
| 2 | 75000 ufc/ml | 26000 ufc/ml | 42000 ufc/ml | 3500 ufc/ml |
| 3 | 75000 ufc/ml | 11000 ufc/ml | 30000 ufc/ml | 1100 ufc/ml |
| 4 | 72000 ufc/ml | 20000 ufc/ml | 38000 ufc/ml | 2000 ufc/ml |
| 5 | 83000 ufc/ml | 13000 ufc/ml | 29000 ufc/ml | 4000 ufc/ml |
| 6 | 77000 ufc/ml | 19000 ufc/ml | 31000 ufc/ml | 8000 ufc/ml |
| 7 | 88000 ufc/ml | 22000 ufc/ml | 40000 ufc/ml | 4500 ufc/ml |
| 8 | 80000 ufc/ml | 24000 ufc/ml | 36000 ufc/ml | 6000 ufc/ml |
| 9 | 82000 ufc/ml | 11000 ufc/ml | 28000 ufc/ml | 3000 ufc/ml |
| 10 | 76000 ufc/ml | 13000 ufc/ml | 39000 ufc/ml | 2000 ufc/ml |
| 11 | 79000 ufc/ml | 17000 ufc/ml | 33000 ufc/ml | 1000 ufc/ml |
| 12 | 85000 ufc/ml | 25000 ufc/ml | 41000 ufc/ml | 2000 ufc/ml |
| 13 | 70000 ufc/ml | 12000 ufc/ml | 36000 ufc/ml | 4000 ufc/ml |
| 14 | 81000 ufc/ml | 16000 ufc/ml | 38000 ufc/ml | 1000 ufc/ml |
| 15 | 73000 ufc/ml | 15000 ufc/ml | 28000 ufc/ml | 2000 ufc/ml |
| MEDIA | 78600 ufc/ml | 17400 ufc/ml | 34333,33333 ufc/ml | 3006,666667 ufc/ml |

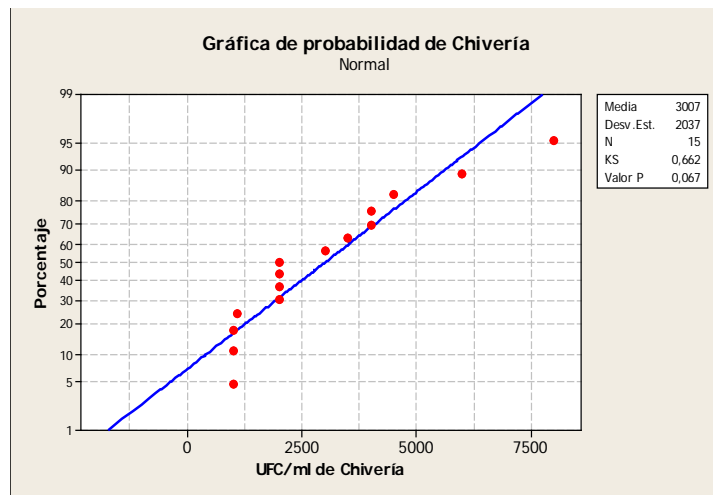
- **Prueba de normalidad**

Para determinar si los datos correspondientes a las mediciones de la inhibición de cada marca siguen una ley de distribución normal se emplearon pruebas de Kolmogorov-Smirnov (KS) (66) (67), con los siguientes resultados:

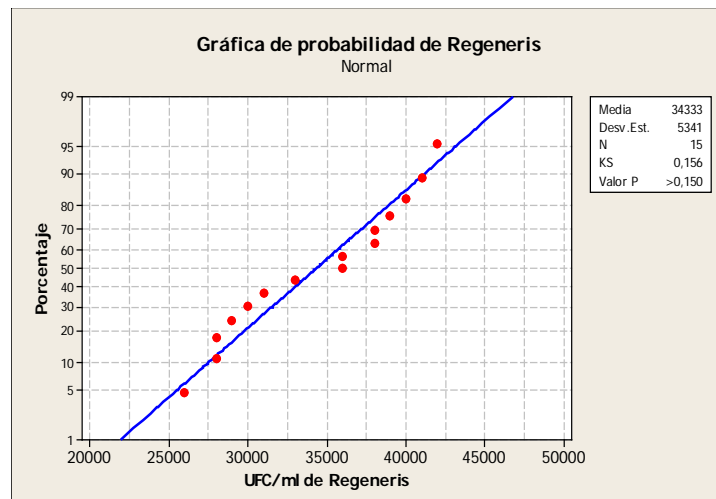
Gráfica 1 Probabilidad Bioyogurt Lactobacillus GG



Gráfica 2 Probabilidad Yogurt A-B



Gráfica 3 Probabilidad Bioyogurt Bifidobacterium lactis



Gráfica 4 Probabilidad Yogurt convencional

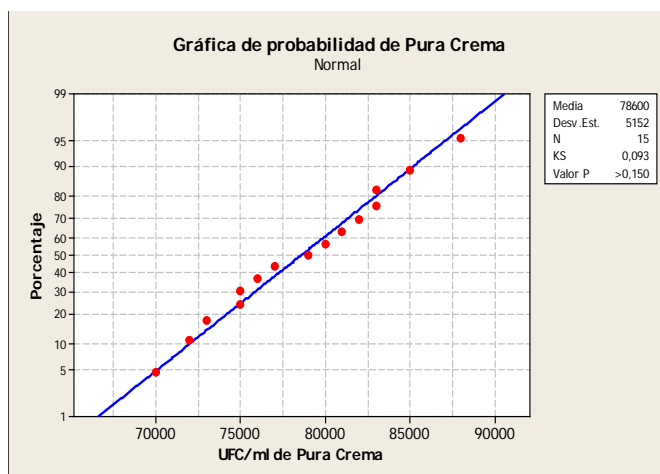


Tabla 2 Pruebas de Kolmogorov-Smirnov

| Pruebas de Kolmogorov-Smirnov | | |
|-------------------------------|-------------|---------------|
| Marca de yogurt | Estadístico | Significación |
| Pura Crema | 0.093 | >0.150 |
| Tony | 0.139 | >0.150 |
| Regeneris | 0.156 | >0.150 |
| Chivería | 0.662 | 0.067 |

En todos los casos, el nivel de significación de cada prueba tiene un valor mayor a 0.05; por lo que podemos concluir que siguen una ley de distribución normal. (66) (67)

A partir de estos análisis podemos emplear pruebas paramétricas como ANOVA para realizar las comparaciones entre los niveles de inhibición de las distintas marcas de yogurt.

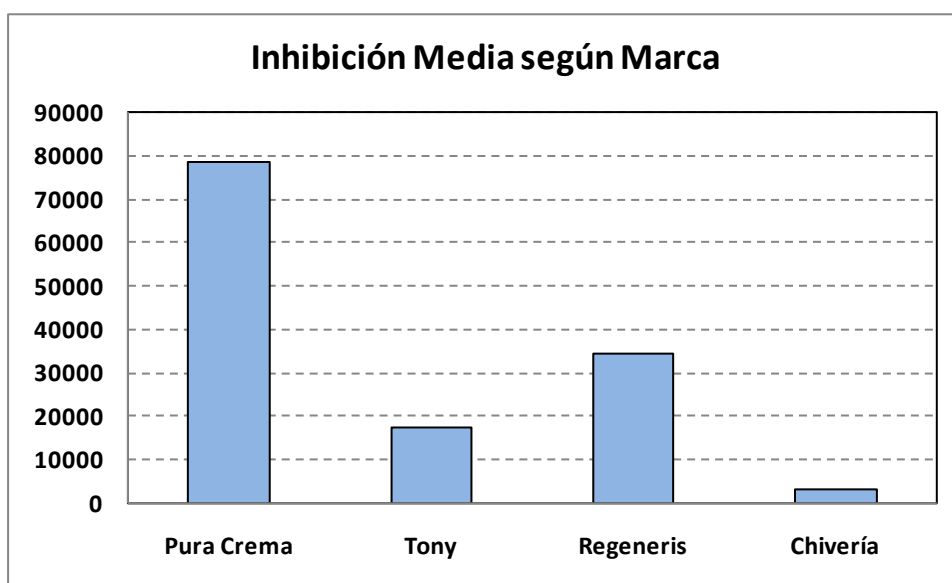
- **Análisis descriptivo de las variables**

Se realizó un resumen estadístico de los valores obtenidos del conteo de UFC/ml, de acuerdo a la marca de yogurt con probióticos.

Tabla 3 Resumen estadístico de las variables

| Inhibición (UFC/ml) | | | | |
|---------------------|----------|---------------------|-------|-------|
| Marca de yogurt | Media | Desviación estándar | Min | Max. |
| Pura Crema | 78600.00 | 5151.98 | 70000 | 88000 |
| Tony | 17400.00 | 5096.22 | 11000 | 26000 |
| Regeneris | 34333.33 | 5340.77 | 26000 | 42000 |
| Chivería | 3006.67 | 2037.32 | 1000 | 8000 |
| Total | 33335.00 | 28979.06 | 1000 | 88000 |

Gráfica 5 Media Yogurts según su marca



- **Prueba de comparación de medias ANOVA**

Se comparó las medias de inhibición de los 4 conjuntos de datos, para determinar si existen diferencias estadísticamente significativas entre ellas. Se realizó mediante una prueba ANOVA. (66) (67)

Tabla 4 Análisis estadístico ANOVA

| Tabla de ANOVA | | | | | |
|------------------|-------------------|----|------------------|-------|------|
| | Suma de cuadrados | gl | Media cuadrática | F | Sig. |
| Entre grupos | 48.354.733.833 | 3 | 16.118.244.611 | 756,8 | 0,00 |
| Dentro de grupos | 1.192.642.667 | 56 | 21.297.190 | | |
| Total | 49.547.376.500 | 59 | | | |

Al analizar los resultados se obtuvo un valor de **Sig.** Igual a 0,00 cifra menor a < 0.05 , por lo tanto, se acepta la hipótesis de investigación, la misma que indica que uno de los grupos de investigación presenta una mayor capacidad de inhibición.

- **Evaluación de las diferencias**

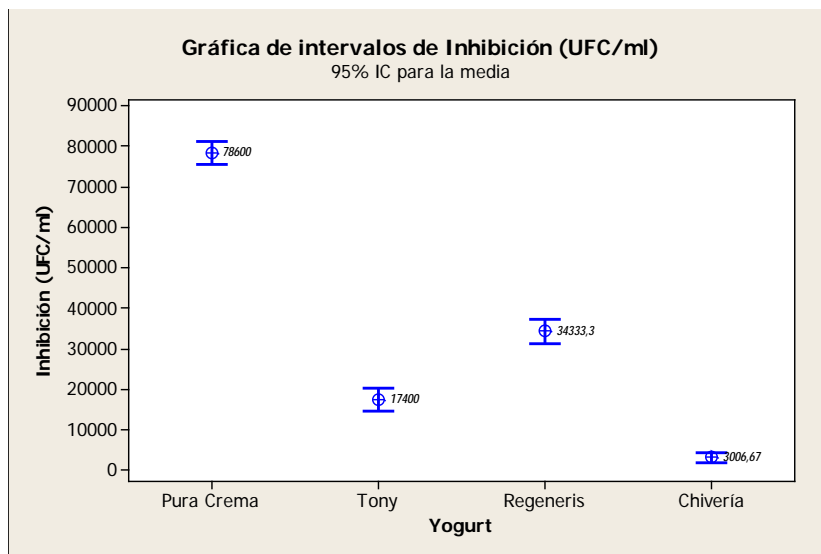
Para determinar cómo se producen las diferencias en las medidas de los niveles de inhibición se empleará la prueba de diferencias de Tukey.

Tabla 5 Prueba de Tukey

| Comparaciones múltiples mediante la prueba de Tukey | | | |
|---|-----------|----------------------------|------|
| Marca de yogurt | | Diferencia de medias (I-J) | Sig. |
| Pura Crema | Tony | 61200.00 | 0.00 |
| | Regeneris | 44266.67 | 0.00 |
| | Chivería | 75593.33 | 0.00 |
| Tony | Regeneris | -16933.33 | 0.00 |
| | Chivería | 14393.33 | 0.00 |
| Regeneris | Chivería | 31326.67 | 0.00 |

Puesto que en todas las parejas de comparaciones, presentan una **Sig.** = $0.00 < 0.05$, aceptamos la hipótesis alternativa, por lo tanto, podemos afirmar que todas las marcas generan niveles de inhibición significativamente diferentes entre sí.

Gráfica 6 Intervalos de Inhibición



- **Interpretación general**

En atención a los resultados se determinó que los niveles de inhibición que produjeron las distintas marcas de yogurt analizadas fueron diferentes entre sí. Se probó estadísticamente que el yogurt convencional no produjo inhibición de *Streptococo mutans*.

Bioyogurt con *Bifidobacterium lactis* presentó un grado de inhibición medio de *Streptococo mutans*, mientras que el Bioyogurt con *Lactobacillus GG* a pesar de presentar una grado de inhibición media tiene una mejor capacidad de inhibición al compararlo con el Bioyogurt Regeneris.

Yogurt A-B presentó un grado de inhibición total en el crecimiento de *Streptococo mutans*, resultando la bebida probiótica más efectiva para la prevención de caries dental.

CAPITULO V DISCUSIÓN

El ser humano ingiere un gran número de microorganismos vivos, predominantemente bacterias. Aunque estos organismos están presentes naturalmente en los alimentos y el agua, también se pueden añadir deliberadamente durante el procesamiento de alimentos tales como queso, yogurt y productos lácteos fermentados. Desde hace varias décadas, las bacterias llamadas probióticos han sido añadidas a algunos alimentos debido a sus efectos beneficiosos para la salud humana. La literatura muestra la asociación entre los probióticos y la salud oral, siendo una interesante herramienta terapéutica a considerar. (5).

La caries de la infancia temprana es una de las condiciones de salud más graves y costosas en nuestra población, debido a su alta prevalencia es importante investigar nuevas estrategias preventivas autoadministradas eficaces que puedan ser agregadas a las recomendaciones existentes basadas en la evidencia. (7)

Richa et al; 2011 (61) concluyó que el helado probiótico que contiene *Bifidobacterium lactis* y *Lactobacillus acidophilus* reduce los niveles de *Streptococo mutans*., siendo corroborado por Ashwin et al; 2015 (62) quienes evaluaron el riesgo de caries basado en los niveles de *Streptococos mutans* en niños de 6-12 años antes y después del consumo de helado probiótico que contenía *Bifidobacterium lactis* y *Lactobacillus acidophilus*, indicando que causa una reducción del organismo causante de caries, a su vez recomendando que la dosificación de los probióticos a largo plazo es necesario ya que después de seis meses del período de estudio mostraron niveles de *Streptococos mutans* similares al grupo control, Asif et al; 2015 (63) indica que la administración oral de probióticos muestra un efecto a corto plazo sobre la reducción del recuento de *Streptococos mutans*. (63)

So ðerling et al; 2011 (25) demostró que el probiótico de uso común *Lactobacillus GG* interfiere en el crecimiento de *Streptococo mutans*, al obtener los resultados del nuestro estudio se observó que este probiótico inhibe el crecimiento de *Streptococo mutans* de una manera efectiva, pero en menor capacidad al compararlo con un Yogurt A-B.

Schwendicke et al.; 2017 (68) examinaron 8 probióticos y evaluaron la inhibición en la formación de *Streptococo mutans* determinando que *Lactobacillus acidophilus* presentó una

mayor inhibición en el crecimiento, dato relevante en la reducción de la cariogenicidad. Lo que puede explicar nuestros resultados ya que el yogurt A-B que presentó inhibición total de *Streptococo mutans* en su composición presenta este probiótico.

Stecksén-Blicks et al; 2009 (53); concluye que el consumo diario de leche que contiene *Lactobacillus rhamnosus GG* y fluoruro reducen el riesgo de desarrollo de caries en un 75%., mientras que Nikawa, et al; 2011 (54); indica que el yogurt que contiene *Lactobacillus rhamnosus* reduce significativamente *Streptococos mutans* sugiriendo que su consumo podría reducir el riesgo de caries dental, a su vez Rodriguez. et al; 2016 (57); indica que la ingesta regular a largo plazo de leche suplementada con *Lactobacillus GG* puede reducir el desarrollo de la caries en niños, lo que podemos confirmar con los resultados de la presente investigación ya que *Lactobacillus GG* muestra una inhibición media del crecimiento de *Streptococo mutans*, siendo mejor al comprarlo con el bioyogurt Regeneris que contiene *Bifidobacterium lactis*.

En contraposición Näse et al.; determinó que la bacteria probiótica *Lactobacillus GG* no mostró una reducción significativa en la prevalencia de caries. (48) Concordando con esto Fernández et al.; determinó que existe falta de actividad de *Lactobacillus GG* sobre cariogenicidad de *Streptococo mutans* ya que esta persistió incluso cuando se probó una concentración 105 veces mayor de probiótico. Por lo tanto, los resultados sugieren que no reduce la cariogenicidad. (69), siendo diferente a los resultados obtenidos en la investigación ya que *Lactobacillus GG* mostró una inhibición media.

Además, la presente investigación evaluó el efecto inhibitorio del probiótico *Bifidobacterium lactis* presente en bioyogurt Regeneris, al obtener los resultados pudimos comprobar que presenta una capacidad reducida en la inhibición del crecimiento de *Streptococo mutans*, dato corroborado por Pinto et al; 2013 (55) evaluaron cómo el consumo de yogurt que contiene *Bifidobacterium animalis subsp. Lactis* no afecta el crecimiento de *Streptococos mutans* y no ofrece beneficios en la prevención de caries, acompañando a estos resultados Nozari et al; 2015 (70) determina que el consumo diario a corto plazo de yogurt probiótico que contiene *Bifidobacterium lactis* no reduce los niveles de *Streptococo mutans*. Taipale, et al; 2013 (71) concuerda con lo antes mencionado indicando que la administración de *Bifidobacterium lactis* en la infancia no parece aumentar o disminuir la aparición de caries.

Por lo cual, con los resultados obtenidos en la literatura y en la presente investigación este probiótico debe ser el menos recomendado para la prevención de caries.

Caglar et al; 2005 (56) examinó si el consumo a corto plazo de yogurt que contiene *Bifidobacterium lactis* afectaría los niveles salivales de *Streptococcus mutans* concluyendo que las bacterias probióticas en el yogurt pueden reducir los niveles de microorganismos asociados a la caries dental, estos resultados pueden deberse a que el *Bifidobacterium lactis* fue comparado con un yogurt convencional, razón por la cual se encontró inhibición de *Streptococo mutans*.

Este estudio comparó la efectividad del Yogurt convencional, Bioyogurt y Yogurt A-B sobre el crecimiento de *Streptococo mutans*, bebidas lácteas enriquecidas con distintos probióticos de venta libre en territorio ecuatoriano. Los resultados obtenidos demostraron que el Yogurt A-B enriquecido con dos tipos distintos de cepas probióticas (*Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium*) presentó mayor efectividad en el crecimiento de *Streptococo mutans* comparados con los otros probioticos y el grupo control, resultados que concuerdan con el estudio de Quispe D. G; 2012 (51) & Ríos et al; 2013 (60) quienes concluyeron que el Yogurt A-B con cepas de *Lactobacillus acidophilus* y *Bifidobacterium*, inhiben el crecimiento de *Streptococo mutans* al compararlo con un Yogurt convencional, determinando que es beneficioso en la prevención caries.

Haukioja et al; 2008 (72) concluye que todas las bacterias probióticas asociadas a la glucosa provocan una caída de pH, dato relevante para la recomendación de bebidas lácteas con alto nivel de azúcar ya que puede contribuir a un ambiente óptimo para el desarrollo de caries, la cantidad de glucosa presente en los yogurts con probioticos puede crear un medio favorable para el desarrollo de ácidos, por lo tanto, debe recomendarse el uso de aquellos con menos contenido de glucosa o con sustitutos de azúcar en su composición. Además, los efectos generales de promoción de la salud de los productos enriquecidos con probióticos no pueden ser cuestionados y su uso continuo puede recomendarse.

Una reciente revisión sistemática mostró que el consumo de yogurt actúa como un factor de protección contra erosión dentaria, dato importante a considerar ya que en la actualidad se observa un cambio en los estilos de vida y aumento en la prevalencia de desgaste dentario erosivo en diferentes países (73), además la presencia de proteínas en el yogurt como

la caseína podría contribuir al efecto protector que presenta la película salival. (74). Por lo citado anteriormente se recomienda el consumo de bioyogurt en la prevención de caries y erosión dental.

CAPITULO VI

CONCLUSIONES

- El Bioyogurt con Lactobacillus GG presentó una media de 17400, por lo tanto, presentó una Inhibición media del crecimiento de *Streptococo mutans* ATCC 25175.
- El Bioyogurt Bifidobacterium lactis presentó una media de 34333,3, por lo tanto, presentó una Inhibición media del crecimiento de *Streptococo mutans* ATCC 25175.
- El Yogurt A-B presentó una media de 3006,6, por lo tanto, presentó una Inhibición total del crecimiento de *Streptococo mutans* ATCC 25175.
- El Yogurt convencional presentó una media de 78600, por lo tanto, presentó una Inhibición nula del crecimiento de *Streptococo mutans* ATCC 25175.
- El Yogurt A-B mostró un efecto superior en la inhibición del crecimiento de *Streptococo mutans* ATCC 25175 al compararlo con el Bioyogurt Tony y Regeneris.

RECOMENDACIONES

- Implementar como medida de Salud Pública el consumo de bebidas lácteas enriquecidas con probióticos como método preventivo, evitando así el desarrollo de caries dental en edades tempranas.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Kõll, P., Mañdar, R., Marcotte, H. et al. Characterization of oral lactobacilli as potential probiotics for oral health. *Oral Microbiologia Immunología*, 2008; 23: 139–147
2. Pérez, A. Probióticos: Una nueva alternativa en la prevención de la caries dental. *Rev Estomatol Herediana*, 2008: 65-68.
3. Featherstone J. The continuum of dental caries evidence for a dynamic disease process. *J Dent Res*, 2004; 83: 39–42
4. Henostroza, G. *Estética en la Odontología Restauradora*. 2000
5. Loesche WJ. Role of *Streptococcus mutans* in human dental decay. *Microbiol Rev*, 1986; 50 (3): 53–80
6. Seif, T. *Prevención, diagnóstico y tratamiento contemporáneo de la caries dental*. 1999
7. Organización mundial de la salud. OMS. Centro de prensa. Febrero 2007
8. Caglar E, Kargul B, Tanboga I. Bacteriotherapy and probiotics role on oral health. *Oral Diseases*, 2005; 11: 131-7
9. Selwitz R., Ismail A., Pitts N. Dental caries. *Lancet*, 2007; 369: 51-9
10. Meurman JH. Probiotics: do they have a role in oral medicine and dentistry? *Eur J Oral Sci*, 2005; 113: 188-196.
11. Yli-Knuuttila H, Snäll J, Kari K, Meurman JH. Colonization of *Lactobacillus rhamnosus* GG in the oral cavity. *Oral Microbiol Immunol*, 2006; 21(2):129-31.
12. Sanz, Y., Collado, M.C. and Dalmau, J. Probióticos: criterios de calidad y orientaciones para el consumo. *Acta Pediatr. Esp.*, 2003; 61): 476-482.
13. Akin, M.S. and Güler, M.B. Effect of different incubation temperatures on the microflora, chemical composition and sensory characteristics of bio-yogurt. *Ital. J. Food Sci.*, 2005; 17(1): 67-74.
14. Metchnikoff E: Lactic acid as inhibiting intestinal putrefaction. In: *The prolongation of life: Optimistic studies*. W. Heinemann, London, 1907: 161-183

15. Havenaar R, Huis in't Veld JHJ: Probiotics: A general view. In: Wood BJB: The Lactic Acid Bacteria, Vol. 1: The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease Chapman & Hall, 1992: 209–224.
16. Guarner F, Schaafsma GJ (1998): Probiotics. *Int J Food Microbiol*, 39: 237-238.
17. Araya, M.; Morelli, L.; Reid, G.; Sanders, M. E.; Stanton, C.; Pineiro, M. & Ben Embarek, P. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of a Joint FAO/ WHO Working Group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food, London, Ontario, Canada. Rome, Geneva, Food and Agriculture Organization of the United Nations and World Health Organization, 2002.
18. Elizari, Z & Fernandez, F. Empleo de probióticos en odontología. *Nutr Hosp*, 2013
19. Hedayati, T, Lundberg, U. Effect of probiotic chewing tablets on early childhood caries a randomized controlled trial. Hedayati-Hajikand et al. *BMC Oral Health*, 2015
20. Sazawal S, Hiremath G, Dhingra U, Malik P, Deb S, Black RE. Efficacy of probiotics in prevention of acute diarrhoea: a meta-analysis of masked, randomised, placebo controlled trials. *Lancet Infect Dis*, 2006; 6(6): 374-382.
21. Samot, J, Lebreton, J & Badet, C. Adherence capacities of oral lactobacilli for potential probiotic purposes. Elsevier, 2011: 69- 72
22. Amores, R., Calvo, A., Maestre, J.R. y Martínez, D. 2004. Probióticos. Revisión. *Rev. Esp. Quimioterap.*, Vol.17, No2, 131-139.
23. Signoretto C, Burlacchini G, Bjanchi F, Cavalleri G, Caneparil P. Differences in microbiological composition of saliva and dental plaque in subjects with different drinking habits. *New Microbiol*. 2006; (29): 293- 302
24. Twetman, S. & Stecksén-Blicks, C. Probiotics and oral health effects in children. *Int. J. Paediatr. Dent.*, 2008; 18(1): 3-10.
25. Soðerling, E, Marttinen, A & Haukioja, A. Probiotic Lactobacilli Interfere with *Streptococcus mutans* Biofilm Formation In Vitro. *Curr Microbiologia*, 2011: 618–622

26. Vadillo-Rodriguez V, Busscher HJ, van der Mei HC, de Vries J, Norde W. Role of lactobacillus cell surface hydrophobicity as probed by AFM in adhesion to surfaces at low and high ionic strength. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 2005; 41: 33-41
27. Chung J, Ha ES, Park HR, Kim S. Isolation and characterization of Lactobacillus species inhibiting the formation of Streptococcus mutans biofilm. *Oral Microbiol Immunol*, 2004; 19: 214-6.
28. Deirdre A. Devine, Philip D. Marsh. Prospects for the development of probiotics and prebiotics for oral applications. *Journal of Oral Microbiology*, 2009; 1(10): 2000-2297.
29. Chauvière, G., Coconnier, M.H., Kerneis, S., Darfeuille-Michaud, A., Joly, B., Servin, A.L. Competitive exclusion of diarrheagenic Escherichia coli (ETEC) from human enterocyte like Caco 2 cells by heat killed Lactobacillus. *FEMS Microbiol Lett*, 1992; 70: 213-7
30. Brook, I. Bacterial interference. *Crit Rev Microbiol*, 1999; 25: 155-172
31. Laetitia Bonifait, Fatiha Chandad, Daniel Grenier. Probiotics for Oral Health: Myth or Reality? *Journal of the Canadian Dental Association*, 2009; 75(8): 1488-2159
32. Köll-Klais P, Mandar R, Leibur E, Marcotte H, Hammarström L, Mikelsaar M. Oral lactobacilli in chronic periodontitis and periodontal health: species composition and antimicrobial activity. *Oral Microbiol Immunol*, 2005; 20(6):354-361
33. Savino F, Pelle E, Palumeri E, Oggero R, Miniero R. Lactobacillus reuteri (American Type Culture Collection strain 55730) versus simethicone in the treatment of infantile colic. A prospective randomized study. *Pediatrics*, 2007; 1: 124 –130
34. Huang JS, Bousvaros A, Lee JW, Diaz A, Davidson EJ. Efficacy of probiotic use in acute diarrhoea in children: a meta-analysis. *Dig Dis Sci*, 2002; 47: 2625–2634.
35. Guandalini, S., Pensabene, L., Zikri, M.A. Lactobacillus GG administered in oral rehydration solution to children with acute diarrhea: A multicenter European study. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2000; 30: 54-60.
36. Bohm SK, Kruis W. Probiotics: do they help to control intestinal inflammation? *Ann N Y Acad Sci*, 2006; 72 (10): 339–350

37. Michail S, Sylvester F, Fuchs G, Issenman R. Clinical efficacy of probiotics: review of the evidence with focus on children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 2006; 43: 550– 7
38. Hatakka, K., Savilahti, E., Pönkä, A. et al. Effect of long term consumption of probiotic milk on infections in children attending day care centres: double blind, randomised trial. Foundation for Nutrition Research, 2001
39. Langhendries, J.P., Detry, J., Van Hees, J., Lamboray, J.M. Effect of a fermented infant formula containing viable bifidobacteria on the fecal flora composition and pH of healthy full-term infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*, 1995; 21: 177-181
40. Guandalini, S. Use of *Lactobacillus*-GG in paediatric Crohns disease. *Dig Liver Dis*, 2002; 34 (2): 63-5.
41. Baerheim A, Larsen E, Digranes A. Vaginal application of lactobacilli in the prophylaxis of recurrent lower urinary tract infection in women. *Scand J Prim Health Care*, 1994; 12: 239–243.
42. Othman M, Neilson JP, Alfirevic Z. Probiotics for preventing preterm labour. *Cochrane Database Syst Rev*, 2007.
43. Twetman, L, Ulla Larsen, Nils-Erik Fiehn, Christina Stecksén-Blicks & Svante Twetman. Coaggregation between probiotic bacteria and caries associated strains: An in vitro study, *Acta Odontologica Scandinavica*, 2009; 67 (5), 284-288, DOI: 10.1080/00016350902984237
44. Roos, K., Grahn Hakansson, E., Holm, S. Effect of recolonisation with interfering streptococci on recurrences of acute and secretory otitis media in children: Randomised placebo controlled trial. *BMJ*, 2001; 322: 1-4
45. Meurman JH, Antila H, Korhonen A Et al. Effect of *Lactobacillus rhamnosus* strain GG (ATCC 53103) on the growth of *Streptococcus sobrinus* in vitro. *Eur J Oral Sci*, 1995; 103: 253–8.
46. Rebolledo, M.; Rojas, E. & Salgado, F. Efecto de dos probioticos que contienen cepas de *Lactobacillus casei* variedad *rhamnosus* y *Lactobacillus johnsonii* sobre el crecimiento in vitro de *Streptococcus mutans*. *Int. J. Odontostomat.*, 2013; 7(3):415-9.

47. Meurman JH, Stamatova I. Probiotics: contributions to oral health. *Oral Dis*, 2007; 13: 443–51.
48. Nase L, Hatakka K, Savilahti E, Saxelin M, Ponka A, Poussa T, et al. Effect of long term consumption of a probiotic bacterium, *Lactobacillus rhamnosus* GG, in milk on dental caries and caries risk in children. *Caries Res*, 2001; 35(6):412
49. Ahola AJ, Yli – Knuutila H, Suomalainen T, Poussa T, Ahlstrom A, Meurman JH, et al. Short-term consumption of probiotic containing cheese and its effects on dental caries risk factors. *Arch Oral Biol*, 2002; 47(11):799-804
50. Kavaloglu Cildi S, Germec D, Sandalli N, IsikOzdemir F, 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; 31:407–411
51. Quispe DG. Efecto inhibitorio in vitro de un yogur con cepas probióticas sobre el crecimiento de streptococcus mutans ATCC 25175. Universidad Nacional de Trujillo Escuela de Estomatología; 2012.
52. Geldres EM. Efecto de un bioyogur comercial con probióticos sobre el crecimiento de streptococcus mutans en saliva en niños de 3 y 4 años de edad de un centro de educación inicial de Trujillo. Universidad Nacional de Trujillo. Escuela de Estomatología; 2013
53. Stecksén-Blicks, C., Sjöström, I & Twetman, S. Effect of Long Term Consumption of Milk Supplemented with Probiotic Lactobacilli and Fluoride on Dental Caries and General Health in Preschool Children: A Cluster-Randomized Study. *Caries Research*, 2009
54. Nikawa, H.; Tomiyama, Y; Hiramatsu, M. et al. Bovine milk fermented with *Lactobacillus rhamnosus* L8020 decreases the oral carriage of mutans streptococci and the burden of periodontal pathogens. *Journal of Investigative and Clinical Dentistry*, 2011; 2: 187–196
55. Pinto, G., Cenci, M., Azevedo, M. et al. Effect of Yogurt Containing *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* DN-173010 Probiotic on Dental Plaque and Saliva in Orthodontic Patients. *Caries Research*, 2013

56. Caglar, E, Sadalli, N, et al. Effect of yogurt with Bifidobacterium DN-173 010 on salivary mutans streptococci and lactobacilli in young adults. *Acta Odontologica Scandinavica*, 2005: 317–320
57. Rodriguez, G., Ruiz, B., Faleiros, S. et al. Probiotic Compared with Standard Milk for High Caries Children: A Cluster Randomized Trial. *Journal of Dental Research*, 2016
58. Taipale, T.; Pienihäkkinen, K.; Salminen, S.; Jokela, J.; Söderling, E. Bifidobacterium animalis subsp. lactis BB-12 administration in early childhood: A randomized clinical trial of effects on oral colonization by mutans streptococci and the probiotic. *Caries Res*, 2012; 46: 69–77
59. Cildir, S. Germec, D., Sandalli, N. et al. Reduction of salivary mutans streptococci in orthodontic patients during daily consumption of yoghurt containing probiotic bacteria. *European Journal of Orthodontics*, 2009: 407–411
60. Rios, T., Quispe, G Efecto inhibitorio in vitro de bioyogut con cepas probioticas sobre el crecimiento de streptococcus mutans ATCC 2517. *Vis.dent*, 2013: 16
61. Richa, S, Satyawan G & Amrita Chawla. Salivary mutans streptococci and lactobacilli modulations in young children on consumption of probiotic ice-cream containing Bifidobacterium lactis Bb12 and Lactobacillus acidophilus La5. *Acta Odontologica Scandinavica*. 2011, 69: 389-394. DOI: 10.3109/00016357.2011.572289
62. Ashwin, D, Vijayaprasad, K, Mahanthesh, T, et al. 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.
63. Asif, Y, Anup, N, Shravani, G, et al. Comparative Evaluation of Commercially Available Freeze Dried Powdered Probiotics on Mutans Streptococci Count: A Randomized, Double Blind, Clinical Study. *Journal of Dentistry, Tehran University of Medical Sciences*. 2015, 12 (10): 729-738.
64. Chow, S., Shao, J. & Wang, H. “Sample Size Calculations in Clinical Research”, Marcel Dekker Inc.: New York.

65. Alvarez M BE. Manual de Técnicas en Microbiología Clínica. 1st ed. Quito: Graficart Ltda.; 1995.
66. Galindo, E. “Estadística: Métodos y aplicaciones”. Quito: Prociencia. 2016, 3.
67. Zar, J. “Biostatistical Analysis”, Pearson: New Jersey. 2010.
68. Schwendicke, F, Franziska, K, Christof, D, et al. Inhibition of Streptococcus mutans Growth and Biofilm Formation by Probiotics in vitro. Caries Research. 2017, 51:87–95
69. Fernández, C, Giacaman, R, Tenuta, L, et al. Effect of the Probiotic Lactobacillus rhamnosus LB21 on the Cariogenicity of Streptococcus mutans UA159 in a Dual-Species Biofilm Model. Caries Research. 2015; 49: 583–590
70. Nozari, A, Motamedifar, M, Seifi, N, et al. The effect of Iranian customary used Probiotic Yogurt on the Childrens Salivary Cariogenic Microflora. J Dent Shiraz Univ Med Sci. 2015; 16(2): 81-6.
71. Taipale, T, Pienihäkkinen, K, Alanen, P, et al. Administration of Bifidobacterium animalis subsp. lactis BB-12 in Early Childhood: A Post-Trial Effect on Caries Occurrence at Four Years of Age. Caries Research. 2013; 47: 364–372.
72. Haukioja, A, Söderling, E & Tenovu, J. Acid Production from Sugars and Sugar Alcohols by Probiotic Lactobacilli and Bifidobacteria in vitro. Caries Research. 2008; 42: 449–453
73. White, A., Gracia, L. & Barbour, M. Inhibition of Dental Erosion by Casein and Casein-Derived Proteins. Caries Research. 201, 45: 13–20
74. Salas, M., Nascimento, F., Vargas-Ferreira et al. Diet influenced tooth erosion prevalence in children and adolescents: Results of a meta-analysis and meta-regression. journal of dentistry. 2015, 43: 865 – 875

ANEXOS

Anexo 1 Tabla cálculo unidades experimentales

Table 3.4.1: λ Values Satisfying $\chi_{k-1}^2(\chi_{\alpha, k-1}^2 | \lambda) = \beta$

| k | $1 - \beta = 0.80$ | | $1 - \beta = 0.90$ | |
|-----|--------------------|-----------------|--------------------|-----------------|
| | $\alpha = 0.01$ | $\alpha = 0.05$ | $\alpha = 0.01$ | $\alpha = 0.05$ |
| 2 | 11.68 | 7.85 | 14.88 | 10.51 |
| 3 | 13.89 | 9.64 | 17.43 | 12.66 |
| 4 | 15.46 | 10.91 | 19.25 | 14.18 |
| 5 | 16.75 | 11.94 | 20.74 | 15.41 |
| 6 | 17.87 | 12.83 | 22.03 | 16.47 |
| 7 | 18.88 | 13.63 | 23.19 | 17.42 |
| 8 | 19.79 | 14.36 | 24.24 | 18.29 |
| 9 | 20.64 | 15.03 | 25.22 | 19.09 |
| 10 | 21.43 | 15.65 | 26.13 | 19.83 |
| 11 | 22.18 | 16.25 | 26.99 | 20.54 |
| 12 | 22.89 | 16.81 | 27.80 | 21.20 |
| 13 | 23.57 | 17.34 | 28.58 | 21.84 |
| 14 | 24.22 | 17.85 | 29.32 | 22.44 |
| 15 | 24.84 | 18.34 | 30.04 | 23.03 |
| 16 | 25.44 | 18.82 | 30.73 | 23.59 |
| 17 | 26.02 | 19.27 | 31.39 | 24.13 |
| 18 | 26.58 | 19.71 | 32.04 | 24.65 |
| 19 | 27.12 | 20.14 | 32.66 | 25.16 |
| 20 | 27.65 | 20.56 | 33.27 | 25.66 |

Chow, S., Shao, J. & Wang, H. "Sample Size Calculations in Clinical Research", Marcel Dekker Inc.: New York.

PLAN DE GESTIÓN DE DESECHOS SANITARIOS



ELABORADO POR: Bioq. Diana Portilla

REVISADO POR: Byron Villacís
Magíster en Seguridad y Prevención de Riesgos del Trabajo

OBJETO

Establecer el plan de gestión de desechos sanitarios en las distintas áreas que existen en las instalaciones de VILLA-LAB.

ALCANCE

El plan de gestión de desechos sanitarios se hace extensible al personal que opera en el laboratorio clínico VILLA-LAB.

RESPONSABILIDADES

VILLA-LAB es el responsable de proveer los recursos para el cumplimiento del presente plan de desechos sanitarios; el personal operativo tiene la responsabilidad individual de conocer el presente documento y colaborar con el mismo.

PROCEDIMIENTOS QUE SE DESARROLLAN EN EL ESTABLECIMIENTO

| SERVICIOS | PROCEDIMIENTOS |
|--|--|
| Remisión de muestras | Registro de remisión. |
| Preparación del paciente y toma de muestra | Obtención de la muestra en el propio laboratorio o recepción de la muestra |
| Aspectos especiales por tipo de muestra | Extracción sanguínea Recolección de muestras de orina Recolección de muestras de heces Recolección de muestras de semen |
| Análisis de laboratorio | Laboratorio clínico general: Coprología / Hematología y coagulación / Química / Uroanálisis |
| Gestión integral de desechos sanitarios, especiales y peligrosos | Separación Recolección Transporte Almacenamiento Entrega a gestores autorizados |

GESTIÓN INTERNA Y EXTERNA DEL ESTABLECIMIENTO

GESTIÓN INTERNA

5.1.1. Generación de desechos:

A continuación, se indica la cantidad promedio (diaria, en kilogramos) de desechos según su tipo: VILLA-LAB genera un promedio mensual de aproximadamente 6 kg de desechos sanitarios, equivalentes a alrededor de 0.26 kg / día de desechos sanitarios.

| TIPO | CANTIDAD GENERADA (Kg/mes) | CANTIDAD GENERADA (Kg/día) |
|---|----------------------------|----------------------------|
| Infecciosos (biosanitarios, derivados de sangre) | 2.4 | 0.12 |
| Cortopunzantes (agujas, hisopos, puntas, entre otros) | 1.6 | 0.08 |
| Especiales (frascos de reactivos de laboratorio) | 0.3 | 0.015 |
| Líquidos (desechos líquidos) | 0.9 | 0.045 |

5.1.2 Almacenamiento primario:

CLASIFICACIÓN Y ALMACENAMIENTO PRIMARIO DE LOS DESECHOS:

Previo al almacenamiento primario de los desechos, se realiza la clasificación, el acondicionamiento y el etiquetado según corresponda:

| TIPO | SEPARACIÓN | MANTENIMIENTO |
|---------------------------------|---|--|
| DESECHO COMÚN | La separación de los residuos comunes se aplica en todas las áreas y secciones en que se generen. | Se recolecta la basura en el respectivo tacho, debidamente rotulado con la leyenda: “DESECHOS COMUNES” con una funda plástica de color negro en su interior. |
| DESECHO BIOPELIGROSO INFECCIOSO | La separación de los desechos biopeligrosos infecciosos se aplica en todas las áreas y secciones en que se generen o manipulen | Se recolecta el residuo biopeligroso infeccioso en el tacho respectivo, debidamente rotulado con la leyenda: “DESECHOS INFECCIOSOS”, con una funda plástica de color rojo en su interior. |
| DESECHO CORTOPUNZANTE | La separación de los desechos cortopunzantes se aplica en todas las áreas y secciones en que se generen o manipulen | Se recolecta el desechocorto-punzante en los respectivos recipientes de plástico rígidos debidamente rotulados con la leyenda de: “DESECHOS CORTOPUNZANTES”. Este tipo de recipientes no requieren de una funda plástica en su interior. Una vez introducido el desecho corto-punzante en el recipiente de plástico rígido se procede a taparlo. |
| OTROS DESECHOS | La separación de otros desechos (no clasificados según los criterios anteriores) se aplica en todas las áreas y secciones en que se generen o manipulen | Se recolecta el residuo reciclable o desecho especial en tachos, cajas de cartón (focos, lámparas fluorescentes) o recipientes rígidos de plástico, debidamente rotulados con la leyenda: “RESIDUOS RECICLABLES” “DESECHOS ESPECIALES” |

RECIPIENTES PARA RECOLECCIÓN DE LOS DESECHOS:

A continuación se indica el detalle de los recursos de recolección (tachos) que dispone el laboratorio en cada área o sección:

| INVENTARIO DE CONTENEDORES DE DESECHOS COMUNES E INFECCIOSOS | | | | |
|---|------------------|--------------|------------------|--------------------|
| CONTENEDOR | CAPACIDAD | COLOR | UBICACIÓN | RESPONSABLE |
| BASURA COMÚN | 8 LITROS | BEIGE | RECEPCIÓN | DIANA PORTILLA |
| BASURA COMÚN | 4 LITROS | BLANCO | TOMA DE MUESTRAS | DIANA PORTILLA |
| BASURA INFECCIOSA | 4 LITROS | ROJO | TOMA DE MUESTRAS | DIANA PORTILLA |
| BASURA CORTOPUNZANTE | 4 LITROS | ROJO | TOMA DE MUESTRAS | DIANA PORTILLA |
| BASURA INFECCIOSA | 8 LITROS | CAFÉ | BAÑO COMÚN | DIANA PORTILLA |
| BASURA COMÚN | 8 LITROS | BEIGE | ÁREA ANALÍTICA | DIANA PORTILLA |
| BASURA INFECCIOSA | 8 LITROS | ROJO | ÁREA ANALÍTICA | DIANA PORTILLA |
| BASURA CORTOPUNZANTE | 2 LITROS | BLANCO | ÁREA ANALÍTICA | DIANA PORTILLA |