



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLÓGÍA
DEPARTAMENTO DE PRÓTESIS
ÁREA DE PRÓTESIS REMOVIBLE**

“Efecto del consumo de leche enriquecida con probióticos en las características salivales de adultos mayores portadores de prótesis removible con y sin estomatitis protésica asociada a candidiasis oral”

César Alejandro Vergara Guzmán

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE
CIRUJANO-DENTISTA**

TUTOR PRINCIPAL

Prof. Dra. Ximena Lee Muñoz

TUTORES ASOCIADOS

Prof. Dra. Carla Lozano Moraga

Prof. Dr. Juan Pablo Aitken

Dr. Cristian Vergara Nuñez

**Adscrito a Proyecto FONIS SA13I10116
Santiago – Chile
2015**

AGRADECIMIENTOS

A mi familia, mis padres Ángela y Marcelo, por su inmenso sacrificio, entrega y cariño a lo largo de mi vida, por formarme íntegramente y entregarme los valores que me definen como persona, a mi hermano Marcelo por acompañarme durante todo este proceso, brindándome su ayuda siempre que lo necesité.

A Montserrat, por su apoyo, compañía, comprensión y paciencia incondicional entregada día a día, hasta en los momentos mas difíciles.

A mis amigos, los de verdad, por todos los momentos vividos, recuerdos que me acompañarán durante toda mi vida.

A la Dra. Carla Lozano por su voluntad, disposición, paciencia y ayuda fundamental para llevar a cabo este proyecto.

Al Dr. Juan Pablo Aitken por su trabajo y colaboración, siempre con la mejor disposición.

A la Dra. Ximena Lee y Dr. Cristián Vergara por su ayuda, apoyo y consejo durante la investigación.

Al proyecto FONIS SA13I10116.

ÍNDICE

1. MARCO TEÓRICO.....	6
2. HIPÓTESIS.....	20
3. OBJETIVO GENERAL.....	20
4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	20
5. METODOLOGÍA.....	21
6. RESULTADOS.....	27
7. DISCUSIÓN.....	36
8. CONCLUSIONES.....	43
9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	45

RESUMEN

Introducción La población de adultos mayores ha presentado un importante incremento a nivel mundial. La patología oral mas prevalente en esta población es la estomatitis protésica (EP), proceso inflamatorio crónico de la mucosa masticatoria, asociado al uso de prótesis removible (PR). La etiología de la EP es multifactorial, pero se asocia fuertemente a levaduras del género *Candida*, infección conocida como candidiasis oral. La alteración de los parámetros salivales como pH, velocidad de flujo salival (VFS) y concentración total de proteínas en saliva ha sido relacionada con la enfermedad, pudiendo jugar un rol en la patogenia de la EP asociada a candidiasis. Los probióticos se definen como microorganismos vivos que al ser administrados en cantidades adecuadas, confieren beneficios al hospedero. El propósito de este estudio fue analizar el efecto del consumo de un producto lácteo enriquecido con probiótico o placebo en los parámetros salivales de adultos mayores portadores de PR con EP asociada a candidiasis oral y en adultos mayores sanos luego de 3 meses.

Metodología El presente estudio incluyó 66 voluntarios mayores de 60 años pertenecientes a un establecimiento de larga estadía para adultos mayores (ELEAM) y a la clínica de prótesis totales, de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, todos portadores de PR. La muestra se dividió en 4 grupos, pacientes con EP que consumieron el lácteo con probiótico, pacientes con EP que consumieron el lácteo con placebo, pacientes sanos que consumieron el lácteo con probiótico y pacientes sanos que consumieron el lácteo con placebo. Previa firma del consentimiento informado, la recolección de datos se realizó mediante una ficha clínica, se obtuvieron muestras salivales al inicio del estudio y luego de 3 meses de consumo del producto lácteo, las cuales fueron analizadas para determinar VFS, pH y concentración total de proteínas en la saliva.

Resultados Hubo diferencia estadística en la variable pH solo en aquellos pacientes que consumieron el lácteo con placebo. En cuanto a la VFS, solo hubo diferencia estadística en el grupo de pacientes portadores de PR con EP asociada a candidiasis oral que consumieron el lácteo con placebo. Al analizar la variable

concentración de proteínas en saliva hubo diferencias estadísticas en todos los grupos, excepto en el grupo sano que consumió el lácteo con probiótico.

Conclusiones No es posible comprobar un efecto del probiótico en el pH salival o VFS, ya que estos parámetros se mantuvieron dentro de los valores normales, tanto en los pacientes que recibieron el probiótico como el placebo. Es posible relacionar el consumo de probiótico con un aumento en la concentración total de proteínas en saliva, sin embargo para comprobar esta correlación son necesarios futuros estudios cualitativos que establezcan un perfil proteico de cada grupo estudiado.

1. MARCO TEÓRICO

En los últimos años la población de adultos mayores (individuos sobre 60 años de edad) ha presentado un importante incremento a nivel mundial, esperando que para el año 2050 supere la cantidad de individuos jóvenes, aumentando en número de 600 a casi 2.000 millones (Organización de las Naciones Unidas, 2002). Esto se refleja en estudios demográficos del Instituto Nacional de Estadísticas de Chile y CASEN, los que señalan que en 1990 los adultos mayores alcanzaban el 10,1% de la población total; en el año 2011 el 15,6% y se estima que para el año 2050 esta población corresponderá al 21,6%, es decir, un paulatino envejecimiento de la población nacional (Ministerio de Desarrollo Social, 2011; Servicio Nacional de Estadísticas, 2008).

La realidad chilena indica una correlación con el escenario mundial encontrándose en el proceso demográfico de transición avanzada, con una baja tasa tanto de mortalidad como de natalidad (Ministerio de Salud, 2004). Estos datos además posicionan a Chile como el país con el índice de envejecimiento más alto de América Latina (Comisión Económica para América Latina y el Caribe, 2009).

Tomando en cuenta lo anterior, es primordial conocer las diversas complicaciones que afectan la calidad de vida de los adultos mayores. Un perfil epidemiológico de la población de adultos mayores en Chile fue determinado en la Primera Encuesta Nacional de Salud del año 2003, en la cual se vislumbraron mayores tasas de prevalencia de enfermedades crónicas no transmisibles como hipertensión arterial, diabetes e insuficiencia renal, entre otras, las que además se asocian a desigualdades de género y nivel educacional. Junto con esto, se reveló una mayor tendencia a compromisos cognitivos, discapacidad e invalidez. Adicionalmente, en el año 2007, la encuesta sobre vejez y calidad de vida develó la autopercepción de salud de los adultos mayores, donde el 62% de los encuestados menciona tener una mala percepción de su salud (Primera encuesta nacional sobre vejez y calidad de vida 2007).

Cuando se superan los 60 años de edad comienza la mayor expresión del envejecimiento, el cual se define como un proceso continuo, universal e

irreversible que determina una pérdida progresiva de la capacidad de adaptación, y afecta al organismo en su totalidad, incluidos los tejidos orales.

Los cambios tisulares a nivel oral se aprecian en: adelgazamiento epitelial, disminución en la vascularización tisular, reducción de tejido adiposo, pérdida de resistencia y elasticidad (Ministerio de Salud, 2007).

Otro aspecto comúnmente asociado al envejecimiento es el desdentamiento. Las encuestas nacionales de salud (2003 y 2009-2010) revelaron el estado de salud oral de la población de 65 años y más, indicando que el 75% son desdentados parciales (promedio de 7 dientes remanentes), de los cuales 37,1% porta prótesis removible (PR) en ambos maxilares, 25,3% en el maxilar superior y 0,8% en el inferior. En cuanto a la percepción de la necesidad de utilizar PR el 25,3% de las personas declaró necesitar el uso de prótesis dental, sin grandes diferencias entre hombre y mujeres, pero a medida que aumenta la edad, el porcentaje incrementa, alcanzando un 55,3% en el grupo de 65 años y más (Ministerio de Salud, 2003, 2009 y 2011).

Los tejidos orales del adulto mayor son más susceptibles a lesiones, tanto a nivel dental como en los tejidos de soporte dentario, destacando en frecuencia la caries dental y enfermedad periodontal (Guggenheimer y Moore, 2003). A nivel de la mucosa la prevalencia de las lesiones se distribuyen de la siguiente manera: estomatitis protésica (22,3%), seguido de hiperplasia irritativa (9,4%), varicosidades de la mucosa oral (9%), lesiones pigmentadas solitarias (4%), úlcera traumática (3,5%), queilitis angular (2,9%), lesiones pigmentadas múltiples (2,8%), hemangioma (2,3%), liquen plano (2,1%), leucoplasia (1,7%), estomatitis aftosa recurrente (1,4%), estomatitis nicotínica (1,3%), glositis romboidal media (0,9%), queilitis actínica (0,9%), granuloma piogénico (0,7%), papiloma escamoso oral (0,6%) y mucocele (0,2%) (Espinoza y cols., 2003). Por tanto, cabe resaltar que la lesión más prevalente fue la estomatitis protésica (EP), afectando al 22,3% de la muestra total y al 34% de los sujetos portadores de PR (Espinoza y cols., 2003).

Estomatitis protésica

La EP se define como un proceso inflamatorio crónico de la mucosa de soporte protésico, en sujetos parcial o totalmente desdentados portadores de PR generalmente en mal estado (Figueiral y cols., 2007). Se aprecia con mayor frecuencia a nivel maxilar (Udita y cols., 2003) y su sintomatología varía desde asintomática hasta dolor y/o ardor de diversa intensidad (Felton y cols., 2011).

Newton clasificó la EP en 3 tipos, según severidad clínica (Koeck, 2007):

- *Tipo I*: lesión inflamatoria simple y localizada (eritema puntiforme).
- *Tipo II*: lesión inflamatoria simple generalizada (eritema difuso de mucosa en contacto con la PR).
- *Tipo III*: lesión inflamatoria crónica con hiperplasia papilar granulomatosa.

Algunos autores han definido 3 grupos de factores que modifican el microambiente oral, participando en la etiología de la EP y en la proliferación de LGC (Aguirre, 2002; Salerno y cols., 2011):

A) Factores dependientes del hospedero

Se pueden identificar factores predisponentes de tipo locales y sistémicos (Wilson, 1998).

a.1) Locales:

Uso continuo de PR dentales:

El uso continuo de PR, especialmente aquellas en mal estado y/o desajustadas, genera un trauma mecánico a nivel de la mucosa oral, lo que causa una disminución del pH y flujo salival, dificultando la llegada de anticuerpos salivales y favoreciendo la proliferación de ciertos microorganismos, especialmente aquellos

anaerobios facultativos que sobreviven en un microambiente ácido (Emami y cols., 2012), dentro de los cuales se encuentran las levaduras del género *Candida* (LGC) (Aguirre, 2002). Dicho escenario se ve favorecido además por el uso protésico nocturno, relacionándose con un alto riesgo de desarrollar EP asociada a candidiasis (Altarawneh y cols., 2013). Cabe destacar que las PR acrílicas por su porosidad y mayor cobertura de tejido oral, presentan una mayor tendencia a la proliferación de microorganismos que las prótesis metálicas, ya que estas últimas poseen una superficie lisa y abarcan una menor superficie mucodentaria, de hecho, la EP tipo III es 5 veces más frecuente en pacientes portadores de prótesis acrílicas que metálicas (Udita y cols., 2010).

Deficiente higiene oral y protésica:

Cuando la PR no es correctamente higienizada, las comunidades microbianas forman un biofilm estructurado dentro de una matriz extracelular, el que se compone de bacterias y hongos como *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bacteroides* y *Candida*, entre otros, capaces de colonizar los tejidos orales (Kulak-Ozkan y cols., 2002), siendo los responsables de la inflamación producida durante la EP (Gendreau y Loewy, 2011). Respecto a lo anterior, un estudio del año 2013 develó la estrecha relación existente entre LGC y presencia de EP, asociando un alto recuento de LGC a una mayor severidad clínica de EP, predominando la especie *Candida albicans* sobre las otras especies del mismo género (Lee y cols., 2013). *C. albicans* es la especie de *Candida* con mayor capacidad de adhesión a las células epiteliales bucales, siendo el mayor colonizador de las mucosas humanas (Salerno y cols., 2011). Su rol en el desarrollo de EP se relaciona con el cambio de esta levadura desde un estado comensal a patógeno, proliferando sobre la superficie protésica y la mucosa oral, causando la posterior infección de dichos tejidos, proceso conocido como Candidiasis Oral (Salerno y cols., 2011). Otras especies del género, tales como, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis* son levaduras comunes en la cavidad oral, sin embargo, se encuentran

en menor proporción que *C. albicans* y no se ha demostrado que posean un rol patológico en la EP (Gendreau y Loewy, 2011).

Alteraciones salivales:

El principal mecanismo de defensa contra los factores traumáticos e infecciosos descritos previamente recae en la saliva, fluido biológico compuesto de moléculas que protegen los tejidos bucales, evitando la desecación y la agresión medioambiental, lubrica la cavidad oral, regula los procesos de desmineralización/remineralización y mantiene el equilibrio bioecológico oral (Zárate y Leyva, 2004).

Las alteraciones a nivel salival se han asociado con la aparición de EP, a través de procesos como la disminución del flujo salival (hiposalivación) y la mantención de un pH ácido en la cavidad bucal (Figueiral y cols., 2007). Esta asociación se describe en el estudio de Pereira-Cenci y cols. (2008), donde se observó un mayor recuento de LGC en pacientes con velocidad de flujo salival (VFS) disminuida, en relación a los pacientes con VFS normal, lo que se produciría por la mermada concentración y acción de moléculas defensivas salivales como lisozimas, histatinas, lactoferrinas e inmunoglobulinas. Además, cualquier alteración en la integridad de estas proteínas favorecería la adhesión e invasión de levaduras (Aguirre, 2002).

Dieta alta en hidratos de carbono:

Una dieta alta en hidratos de carbono genera una fuente adicional de nutrientes para las LGC (Salerno y cols., 2011) y una disminución en el pH salival. Esto debido a los ácidos producidos durante el metabolismo fermentativo de estos nutrientes por los microorganismos orales (Preshaw y cols., 2011), contribuyendo a la colonización e invasión de la levadura (Campisi y cols., 2008). Se ha demostrado que estos carbohidratos ayudan en la formación del biofilm de *C.*

albicans, especialmente sobre material acrílico (Samaranayake y McFarlane, 1990).

Uso de fármacos locales:

Los medicamentos de uso local que pueden tener efectos directos en la microbiota oral, son jarabes para la tos que contienen azúcar, y que pueden fomentar la proliferación de ciertos microorganismos orales. Por ejemplo, el estudio de Beighton y cols. (1999) demostró que en pacientes mayores de 60 años tratados con fármacos ricos en sacarosa, el contenido salival de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* y levaduras era significativamente mayor que en aquellos pacientes cuyos medicamentos no contenían azúcares.

a.2) Sistémicos:

En cuanto a los factores sistémicos, destacan las alteraciones metabólicas y componentes dietéticos. Con respecto al primero, una de las más estudiadas es la diabetes mellitus tipo II, ya que la mantención de altos niveles de glucosa salival y cambios de tipo cualitativos en receptores epiteliales, característicos en esta patología, promueven el crecimiento y adhesión de LGC (Farah y cols., 2008). En relación a lo anterior, Yuen y cols. (2009) encontraron un mayor recuento de colonias de estas levaduras en la superficie de PR de pacientes diabéticos en relación a quienes portan PR y no padecen esta enfermedad.

Estudios del año 2011 indican que el aumento en el peso corporal de los adultos mayores portadores de PR, se debió a la alta ingesta de hidratos de carbono disminuyendo el pH salival producto del metabolismo fermentativo de estos nutrientes por parte de los microorganismos orales (Preshaw y cols., 2011). Este bajo pH, favorece la adhesión de LGC y fortalecen sus factores de virulencia, aumentando la actividad enzimática de ciertas proteínas extracelulares, favoreciendo a la vez la mantención de un microambiente ácido (Salerno y cols., 2011).

Adicionalmente, las deficiencias nutricionales intervienen como factores predisponentes para el inicio de candidiasis oral; la deficiencia de hierro produce alteraciones en el epitelio y en la respuesta inmune; la hipovitaminosis A, B1, B2, B12 y C produce cambios degenerativos en la mucosa oral, favoreciendo la aparición de la patología (Aguirre, 2002; Williams y Lewis, 2011).

Por otro lado, las alteraciones inmunológicas hacen recurrentes las infecciones causadas por microorganismos oportunistas, como las LGC, especialmente en pacientes sometidos a radioterapia de cabeza y cuello, en tratamiento farmacológico con corticoides o pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), situaciones que hacen a los pacientes susceptibles a infecciones bacterianas o fúngicas. Más aún, la candidiasis oral se encuentra como la manifestación oral más frecuente en pacientes positivos para VIH (Egusa y cols., 2008; Soysa y cols., 2008).

Por último, una condición sistémica que favorece la colonización por LGC es el uso indiscriminado o en tratamientos de larga data de antibióticos de amplio espectro, disminuyendo la microbiota comensal de la cavidad oral, las cuales previenen el sobrecrecimiento de *Candida* a través de la competencia nutricional y la capacidad para inhibir la adherencia de los hongos a las mucosas orales (Soysa y cols., 2008).

B) Factores dependientes del hongo

Dependen de la capacidad de *C. albicans* para expresar factores de virulencia como la producción de enzimas extracelulares como proteinasas y fosfolipasas, evadiendo los mecanismos de defensa del hospedero, lesionando células y tejidos (Aguirre, 2002). Además, se describe la transición del estado levaduriforme a hifa. Existen estudios que reportan una presencia significativamente mayor de hifas de

C. albicans en pacientes con EP comparado con pacientes sanos portadores de PR (Bilhan y cols., 2009).

C) Factores que modifican el microambiente de la cavidad oral

Como fue mencionado previamente, el uso continuo de PR, especialmente aquellas en mal estado promueven un microambiente ácido y anaerobio, asociado a una mayor severidad cuando se cuenta con el uso protésico nocturno (Emami y cols., 2012; Altarawneh y cols., 2013).

Parámetros salivales alterados y su posible relación con EP

La saliva produce un efecto de limpieza mecánica de las mucosas y tejidos orales, además contiene moléculas de primera línea de defensa, como lisozimas, histatinas, lactoferrina, calprotectina e Inmunoglobulina A (IgA), que le confieren propiedades antimicrobianas. Debido a esto, las alteraciones cuantitativas y/o cualitativas en la saliva, pueden tener efectos adversos locales como el desarrollo de caries dental, dificultades masticatorias e infecciones orales (Fenoll-Palomares y cols., 2004).

Diversos estudios postulan que alteraciones en la velocidad de flujo salival y pH, podrían contribuir al desarrollo y persistencia de la EP asociada a candidiasis oral (Aguirre, 2002; Fenoll-Palomares y cols., 2004; Gendreau y Loewy, 2011; Altarawneh y cols., 2013). Ambos parámetros salivales los analizaremos a continuación.

pH salival:

El pH salival se describe como factor predisponente relacionado con la génesis de EP asociada a candidiasis (Altarawneh y cols., 2013). Un microambiente ácido,

generado por la mantención de un pH salival bajo, proporciona un medio óptimo para la actividad enzimática de proteinasas y fosfolipasas secretadas por *Candida*. Estas enzimas poseen efectos citotóxicos y citolíticos, favoreciendo la adhesión, proliferación y posterior infección de estas levaduras sobre las superficies orales y protésicas (Aguirre, 2002; Salerno y cols., 2011; Chopde y cols., 2012), y por ende desarrollar EP asociada a candidiasis. Estas levaduras, al ser microorganismos fermentativos, metabolizan los hidratos de carbono, contribuyendo en la acidificación del microambiente oral. Acorde con esto, se ha comprobado que pacientes con EP asociada a candidiasis oral presentan un pH salival más bajo que los pacientes que no presentan esta condición (Chopde y cols., 2012).

Además de lo mencionado anteriormente, en la literatura se describe la capacidad tamponante de la saliva, mediada principalmente por la concentración de bicarbonato, lo cual influye directamente en el pH salival (Fenoll-Palomares y cols., 2004).

El estudio de Chopde y cols. (2012), si bien observó que un ambiente ácido favorece la colonización por *C. albicans* y que el pH salival fue menor en pacientes con EP asociada a esta levadura, el estudio de Kôhler y cols. (2012), por otro lado, indica que el ácido láctico producido por algunas cepas probióticas disminuiría el pH salival sin favorecer la expresión de EP asociada a candidiasis, interfiriendo con el crecimiento de las levaduras y además, disminuyendo la expresión en ellas de los genes involucrados en la resistencia a fluconazol.

Velocidad de flujo salival (VFS)

La velocidad de flujo salival se describe como la secreción salival durante un periodo de tiempo y dicho flujo es variable durante el día. Numerosos estudios proponen valores normales de VFS, considerándose éste de 0,3 a 0,4 mL/min y valores de 0,1 a 0,2 mL/min son clasificados como hiposalivación (hiposialia) (Navazesh, 1993; Glazar y cols., 2010).

Se pueden diferenciar dos tipos de flujos salivales, la saliva no estimulada y la saliva estimulada (Rudney, 1995). La saliva total no estimulada, basal o de reposo,

es la secreción basal proveniente de las glándulas salivales menores en respuesta a neurotransmisores liberados en forma continua en ausencia de estímulos exógenos como saborizantes o masticación, es decir, la que está presente la mayor parte del día y principal responsable de la protección de los tejidos bucales (Dawes, 1996). En cambio, la saliva estimulada proviene de las glándulas salivales mayores, y como su nombre lo indica, es producida ante estímulos, principalmente masticatorios, por estos motivos y la localización de estas glándulas, se hace de mayor dificultad su obtención (Mandel y Wotman, 1976).

La disminución del flujo salival se ha relacionado con la ingesta de fármacos, principalmente como una reacción adversa, también a radioterapias de cabeza y cuello y a enfermedades autoinmunes, siendo la más característica el síndrome de Sjogren`s (Guggenheimer y Moore, 2003; Fenoll-Palomares y cols., 2004). Dicha disminución merma la propiedad de limpieza mecánica que realiza la saliva, y a la vez produce una menor llegada de anticuerpos y proteínas defensivas a las superficies en contacto con PR.

Los estudios de Nari y cols. (1993), Pereira-Cenci y cols. (2008) y Hibino y cols. (2009), coinciden con lo descrito anteriormente, ya que observaron un mayor recuento de LGC en pacientes con VFS disminuida en contraste con pacientes con flujo salival normal. Además, Campisi y cols. (2008), afirman que las variaciones cuantitativas y cualitativas del flujo salival, pueden ser factores predisponentes a la colonización de LGC.

Concentración total de proteínas en la saliva

En condiciones de salud oral, existe comensalismo entre los microorganismos orales, pero por otro lado, también existen algunas características salivales muy particulares que en conjunto, confluyen o cooperan con el fin de mantener el equilibrio en este microambiente oral, evitando la aparición de patologías. Estas características salivales están determinadas, en parte, por la concentración total de proteínas presentes en este fluido biológico. Estas macromoléculas participan en el soporte celular, flexibilidad y tensión de los tejidos, y también en los procesos

defensivos y en las reacciones enzimáticas. En promedio, el contenido proteico de la saliva humana es de 3.000 mg/mL (Zárate y Leyva, 2004). El estudio de Castro y Guzmán (2012), indica que a medida que el ser humano envejece, aumenta la concentración de proteínas en saliva.

Las principales proteínas presentes en el fluido salival que se asocian a interacciones microbianas son:

- IgA: Proteína con acción inmunológica, actúan en la inhibición de enzimas microbianas involucradas en la colonización o procesos patogénicos (Gregory y cols., 1990). El nivel de IgA en la saliva es crítico para la modulación de la adhesión y agregación microbiana, por lo que una disminución en sus niveles salivales se asociaría a un sobrecrecimiento de microorganismos como *Candida* (Altarawneh y cols., 2013).
- Lisozima: Proteína que produce lisis bacteriana mediante la ruptura de peptidoglicanos de pared celular. Se ha demostrado su efecto en la inhibición del crecimiento de LGC (Lal y cols., 1992).
- Lactoferrina: Proteína con acción bacteriostática mediante el secuestro de nutrientes esenciales (Arnold y cols., 1982). Además, tendría efecto bactericida mediante la liberación de radicales alcohólicos (Soukka y cols., 1994).
- Cistatina: Proteína con rol regulador de calcio salival, inhiben proteasas bacterianas involucradas en la enfermedad periodontal e infección por virus herpes simple (Gu y cols., 1995).
- Histatina: Proteína cuyo efecto es en la lisis bacteriana, principalmente sobre *Streptococcus* y *Candida* (Lal y cols., 1992).
- Mucina: Proteína involucrada en el recubrimiento y lubricación tisular (Tabak, 1995).
- Amilasa: Enzima que se encuentra en gran proporción en el fluido salival, involucrada en la digestión del almidón. Además, se describe su

influencia en la adherencia de *Streptococcus* orales a la película salival adquirida (Scannapieco y cols., 1993).

Los cambios producidos en el microambiente de la cavidad oral de pacientes portadores de PR con EP asociada a candidiasis posiblemente están involucrados en la alteración de la concentración total de proteínas en saliva.

Aún así, existen pocos estudios concluyentes que relacionen la concentración de proteínas presentes en saliva con la presencia y severidad de EP. Es el caso del estudio de Byrd y cols. (2014) que relaciona directamente la concentración de cistatinas con la severidad de la EP; o el estudio de Dorota y cols. (2012) donde se determinó que la mayor concentración de histatinas e IgA se relaciona con el proceso fisiológico defensivo ante infecciones micóticas. Los estudios que asocian los parámetros salivales (VFS, pH y concentración de proteínas) con condiciones tanto locales como sistémicas del hospedero son escasos, se han caracterizado estos parámetros según ciertas condiciones fisiológicas o patologías pero sin obtener una clara correlación.

Tratamiento de Estomatitis Protésica

La etiología multifactorial de la EP asociada a LGC determina la complejidad de su tratamiento. Se ha descrito como estrategia terapéutica el uso de fármacos antifúngicos tópicos y/o sistémicos los que han demostrado inhibir el crecimiento de LGC, con remisión de signos y síntomas entre 12 a 14 días, pero debido a su toxicidad farmacológica, estos debieran reservarse para infecciones en sujetos debilitados o inmunodeprimidos. Al ser *Candida* una célula eucarionte, estos fármacos también interfieren en las rutas metabólicas de células humanas aumentando la toxicidad, especialmente a nivel hepático. Por lo que resulta fundamental, previo a su prescripción, identificar, corregir o eliminar factores predisponentes locales y/o sistémicos, de lo contrario el tratamiento con antifúngicos locales podría resultar en un alivio temporal de la infección y recurrencia posterior (Salerno y cols., 2011; Williams y cols., 2011). Es por esto

que cobra importancia la necesidad de indagar en terapias alternativas y/o complementarias al tratamiento farmacológico convencional.

Uso de Probióticos

Los probióticos se definen según la FAO/WHO como “microorganismos vivos que al ser administrados en cantidades adecuadas, confieren beneficios al hospedero” (Haslöff y cols., 2010). Existen diversos tipos de probióticos, siendo los más reconocidos por su aporte en la estimulación y modulación del sistema inmune bacterias del género *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, y la levadura *Saccharomyces boulardii* (Sazawa y cols., 2006).

A nivel oral los lactobacilli son microorganismos que han sido considerados como cariogénicos, pero estudios *in vitro* y ensayos clínicos, han demostrado efectos beneficiosos de algunos de ellos. Por ejemplo, algunas especies del género *Lactobacillus* como *L. acidophilus*, *L. rhamnosus*, *L. paracasei* y *L. reuteri* pueden ejercer efectos positivos en la cavidad oral mediante inhibición de algunas especies del género *Streptococcus* y *Candida* (Haslöff y cols., 2010; Badet y cols., 2008; He y cols., 2009). Es el caso del estudio de Hatakka y cols. (2007), los cuales realizaron un ensayo clínico en adultos mayores entre 70 y 100 años de edad, donde, utilizando queso enriquecido con *L. rhamnosus* y *L. helveticus*, obtuvieron una disminución en el recuento salival de levaduras del género *Candida* de un 75%. Se ha descrito la interacción de algunas cepas probióticas en el crecimiento y resistencia farmacológica de levaduras, mediante la disminución del pH salival, a través de la producción de ácido láctico (Köhler y cols., 2012). Además, Agda Lima y cols. (2009) y Meurman (2005) describen el efecto estimulante del consumo de probióticos en la producción de Inmunoglobulinas, proteínas defensivas que actúan en contra de los microorganismos responsables de la EP asociada a candidiasis oral.

Los probióticos al modificar positivamente el microambiente microbiano del hospedero, mejoran el estado de la salud general (Golledge y cols., 1996; Caglar y cols., 2005). Cabe recalcar, que cada cepa confiere beneficios distintos al hospedero, incluso, al utilizar cepas combinadas pueden actuar de forma sinérgica (Heintze y cols., 1983). Sin embargo, el consumo de probióticos como terapia en odontología ha sido poco estudiado.

Tomando en cuenta los antecedentes expuestos anteriormente, en el presente estudio se evaluaron los parámetros salivales VFS, pH y concentración de proteínas totales salivales en pacientes portadores de PR con y sin EP, lesión oral asociada a candidiasis oral, que han consumido un producto lácteo enriquecido con probiótico durante un período de 3 meses. Estos parámetros salivales evaluados se compararon con aquellos obtenidos en pacientes con similares características pero que consumieron lácteo sin probiótico.

Luego de 3 meses de consumo del lácteo con o sin probiótico, los parámetros analizados se compararon con aquellos obtenidos al inicio del estudio.

Se pretendió encontrar una correlación entre el consumo de probiótico y la modificación de los parámetros orales ya mencionados. Se especula que el consumo de probiótico generaría un ambiente desfavorable para el crecimiento y desarrollo de LGC y además, mejoraría la condición patológica de EP, ya sea disminuyendo su severidad o logrando su remisión. De esta manera se contribuye a la búsqueda de un tratamiento complementario para esta lesión oral, que como fue mencionado anteriormente, tiene una gran prevalencia en la población de adultos mayores, promocionando de esta forma una mejor calidad de vida para esta fracción sumamente relevante de la población mundial.

2. HIPOTESIS

El consumo de leche enriquecida con probiótico, durante un período de 3 meses, modifica los parámetros salivales VFS, pH y concentración de proteínas de sujetos portadores de PR con EP, en comparación con los pacientes que consumieron leche sin probiótico.

3. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto de un producto lácteo enriquecido con probiótico, que se consume durante 3 meses, en los parámetros bioquímicos salivales (VFS, pH y concentración de proteínas totales) en adultos mayores portadores de prótesis removible con EP asociada a candidiasis.

4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Objetivo específico 1

Cuantificar VFS, pH y concentración de proteínas total en saliva no estimulada de sujetos adultos mayores portadores de PR con EP asociada a candidiasis y sin EP, luego del consumo durante 3 meses de leche enriquecida con probiótico.

Objetivo específico 2

Comparar inter e intra grupo los parámetros bioquímicos salivales evaluados obtenidos en tiempo cero, con los parámetros obtenidos luego de 3 meses de consumo de leche enriquecida con probiótico.

5. METODOLOGÍA

Tipo de estudio

Ensayo clínico controlado aleatorizado triple ciego de 3 meses de duración.

Población objetivo y Muestra

La muestra estuvo conformada por un grupo de 66 adultos mayores, hombres y mujeres, institucionalizados y no institucionalizados. Los institucionalizados pertenecen a un establecimiento de larga estadía para adultos mayores (ELEAM), y los no institucionalizados corresponden a pacientes que asistían a la asignatura de prótesis totales de la Clínica Odontológica de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile. La muestra se dividió en 4 grupos:

- Grupo 1: 20 individuos portadores de PR que presentan EP asociada a candidiasis, los cuales consumieron leche enriquecida con probiótico.
- Grupo 2: 20 individuos portadores de PR que presentan EP asociada a candidiasis, los cuales consumieron leche sin probiótico (placebo).
- Grupo 3: 6 individuos portadores de PR sanos (sin EP), los cuales consumieron leche enriquecida con probiótico. (El bajo número de sujetos en este grupo se debe a la escasa adherencia de estos pacientes al estudio, por lo cuál no fue utilizado con fines estadísticos, solo descriptivos).
- Grupo 4: 20 individuos portadores de PR sanos (sin EP), los cuales consumieron leche sin probiótico (placebo).

Los sujetos invitados a participar en este estudio, firmaron (el/ella o tutor/a) el consentimiento informado diseñado para este estudio (anexo 1). Este documento fue aprobado por el comité de ética humana de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile.

Criterios de Inclusión y Exclusión

Criterios de Inclusión

Adultos mayores sanos o con enfermedades de base controladas por el médico tratante, portadores de prótesis removibles tanto de bases metálicas y/o acrílicas, con o sin signos clínicos de EP asociado a candidiasis, que aceptaron participar vía consentimiento informado (criterios designados para el inicio del tratamiento).

Criterios de Exclusión

Adultos mayores con enfermedades de base no controladas o que no cuenten con el permiso del médico tratante. También aquellos sujetos que requerían tratamiento odontológico urgente y los que no desearon participar en el estudio, además de aquellos que no firmaron el consentimiento informado o intolerantes a la lactosa.

Procedimiento de aleatorización

Tanto los sujetos del ELEAM como los del curso de prótesis totales de la clínica odontológica de la Universidad de Chile, se dividieron aleatoriamente en cuatro grupos equivalentes a través del software Random Allocation (www.random.org). Se asignaron códigos de colores para identificarlos y los examinadores desconocían a quién corresponde cada color. Un monitor independiente fue encargado de develar el significado del código durante la fase de análisis de datos. Se estableció un 20% de sobremuestreo, ante posibles pérdidas de seguimiento y poder de 80%.

Definición de ciego

Tanto los clínicos examinadores, investigadores, encargados de los hogares, adultos mayores y quienes analizaron los datos, no estuvieron al tanto del grupo de estudio al cuál fueron asignados.

Preparación de las bebidas lácteas

Los adultos mayores que conformaron los grupos que consumieron leche con probiótico recibieron una porción de leche diaria con 10^7 UFC/gr de *Lactobacillus rhamnosus* GG, durante 3 meses. Esta concentración de bacteria probiótica es lo estipulado para consumo humano (Lourens-Hattingh y Viljoen, 2001). Se estableció contacto con la empresa proveedora de los lácteos a la institución beneficiaria, con el objetivo de no alterar las formulaciones que ingieren regularmente los residentes. La leche con y sin probiótico, tiene la misma fórmula en polvo, desarrollada con leche al 18% de materia grasa, bajo poder higroscópico, fácil disolución y reconstitución. La información nutricional para una porción es: Energía 130 Kcal; Proteínas 6,5g; Lípidos 6,5g e Hidratos de carbono 9,3g. Por su parte, los que conformaron los grupos que consumen leche sin probiótico (Placebo), recibieron una porción de la misma leche diaria, también durante 3 meses. Para evitar sesgos, ambos productos tenían iguales características organolépticas y nutricionales. Para mantener un control exhaustivo relativo a la entrega de los lácteos, se mantuvieron libros de registros, sirviendo además como insumo para medir grado de adherencia a la investigación.

Técnicas de recolección de la información

Exámenes clínicos

Los exámenes clínicos fueron llevados a cabo por dos equipos de odontólogos docente-clínicos, de las áreas de Rehabilitación Oral y Patología Oral de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, con experiencia, capacitados

y calibrados en diagnosticar lesiones de mucosa oral y determinar tipo de EP asociado al uso de prótesis removible. Para medir concordancia entre los examinadores se realizó una calibración, aceptándose al menos 0,7 Índice de Kappa al inicio de los exámenes.

Los exámenes fueron realizados utilizando un espejo dental y luz artificial tipo LED. Las lesiones compatibles con diagnóstico clínico de EP se registraron siguiendo los criterios clínicos desarrollados, establecidos y validados en las Áreas Docente asistenciales involucradas en este estudio, dependientes de la Facultad de Odontología, Universidad de Chile. Los casos que requirieron recambio de aparatos, fueron invitados a ser atendidos en nuestra facultad en el inicio del curso de Prótesis Totales una vez terminado el estudio.

Todos los antecedentes mencionados fueron registrados en la ficha clínica desarrollada para este estudio (anexo 2).

Indicaciones para la toma de muestra salival

La muestra consistió en saliva no estimulada. En el día de la visita, el sujeto debía estar en ayunas mínimo 2 horas, no fumar, ni realizar procedimientos de higiene oral previo a la toma de muestra. Se corroboró que éste no hubiese estado bajo tratamiento antibiótico, antifúngico o esteroideal por cualquier vía de administración de acuerdo a las indicaciones que fueron entregadas oportunamente por escrito. Además, se le solicitó que suspenda el uso de colutorios orales si corresponde, 15 días antes de la recolección.

Toma de muestra salival

Las muestras de saliva no estimulada fueron recolectadas en cada sujeto luego de un estado de relajación previa de aproximadamente 5 minutos. Se solicitó a cada sujeto estar sentado en una posición cómoda y depositar saliva durante 5 minutos en un tubo plástico estéril (NewPath Chile®) previamente pesado y rotulado. Las muestras fueron trasladadas refrigeradas, al Laboratorio de Bioquímica y Biología

Oral de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, siendo procesadas en menos de 4 horas.

Parámetros bioquímicos salivales

Determinación de Velocidad de Flujo Salival (VFS) no estimulado:

Mediante el protocolo descrito por Heintze y cols. (1983), la muestra fue pesada por gravimetría asignando un peso específico de 1,005 g/ml al fluido, y el volumen total determinado se expresó en ml/min.

Medición de pH salival:

Se determinó el pH salival de las muestras de saliva no estimulada de cada sujeto, contenida en el mismo tubo en que se midió VFS. Se utilizó un pH-metro digital (Modelo PL-600 EZDO-OMEGA).

Determinación de la concentración total de proteínas en saliva:

Las muestras de saliva no estimulada se mantuvieron a -20 °C para el análisis de la concentración total de proteínas. Se utilizó el kit de proteínas BioRad (BRL SD 500-0002, Richmond CA, USA), y estándares de albúmina de bovino (BSA, Sigma). Las muestras de saliva analizadas se procesaron por duplicado y en diluciones necesarias para la lectura de la absorbancia en espectrofotómetro a 595 nm. Previamente, se confeccionó una curva de calibración para estimar la concentración de proteínas totales en saliva. La unidad de medición de la concentración de proteínas en saliva utilizada fue $\mu\text{g/mL}$.

Análisis estadístico de datos

Los datos obtenidos fueron tabulados en una planilla Excel 2010[®] por un solo operador y analizados posteriormente mediante el software estadístico Stata[®] SE

12.0. Se determinó el tipo de distribución de la muestra mediante el test de Shapiro-Wilk, este test demostró que la distribución de los datos era no normal ($p=0,24$), por lo cual se utilizó la mediana como medida de tendencia central para los siguientes análisis. Luego se utilizó el test no paramétrico de Wilcoxon para determinar diferencia estadística en las variables.

Para comparar los grupos entre sí se utilizó el test no paramétrico Kruskal Wallis.

Se determinó diferencia estadística con un valor de $p<0,05$.

6. RESULTADOS

Luego de 3 meses de consumo del producto lácteo con y sin probiótico se analizaron las características bioquímicas salivales de los adultos mayores y se compararon con los datos obtenidos al inicio del estudio (tiempo cero).

Variable pH:

El grupo con EP que recibió el lácteo con probiótico presentó una mediana en tiempo cero (t0) de 7,26 con un rango de 2,62. Al cabo de 3 meses (t3) la mediana disminuyó a 6,72 con un rango de 3,53, sin diferencia estadística ($p=0,13$) (Gráfico 1).

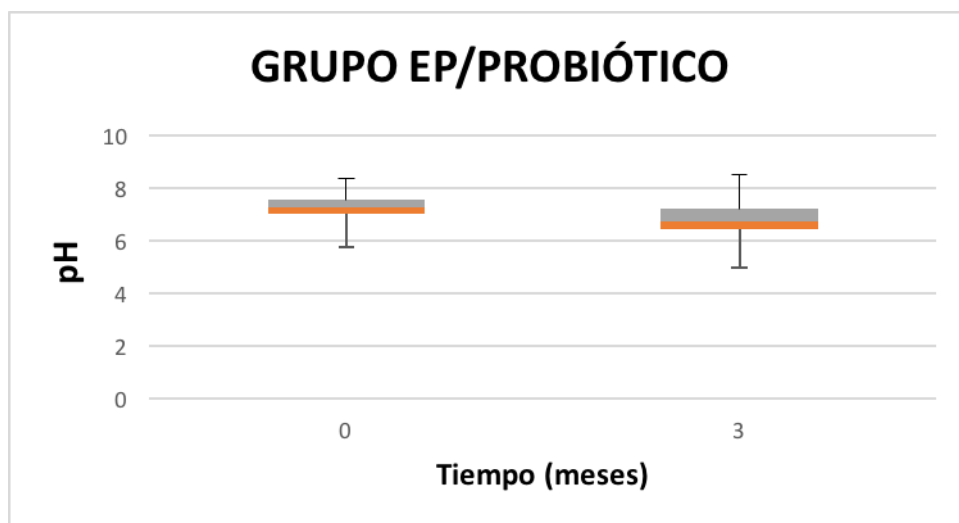


Gráfico 1: pH en grupo con EP que consumió lácteo con probiótico en t0 y t3. Los valores corresponden a la mediana. Se utilizó el test de Wilcoxon; $p = 0,13$.

En el grupo con EP que consumió lácteo con placebo la mediana en t0 fue de 7,57 con un rango de 2,55 y luego de 3 meses de consumo bajó a 6,8 con un rango de 3,08, con diferencia estadística ($p=0,003$)(Gráfico 2).

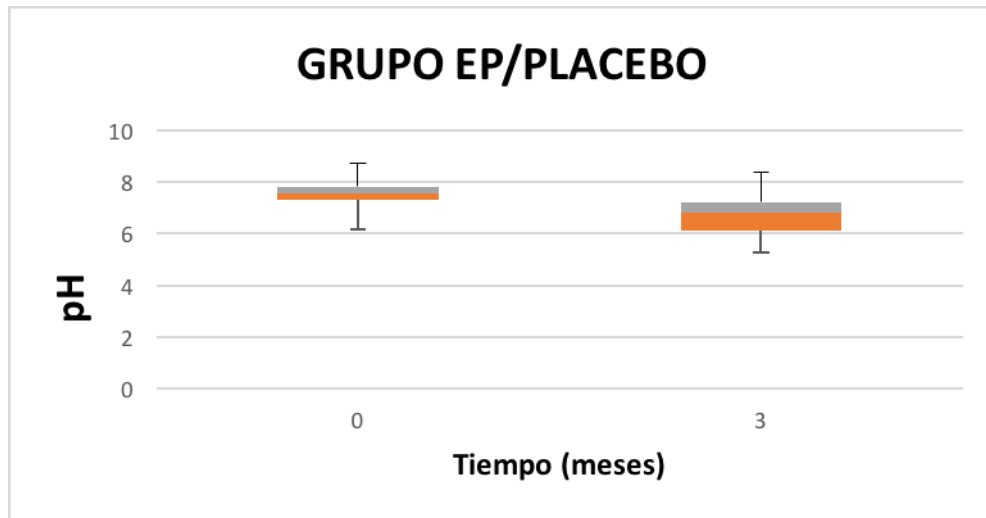


Gráfico 2: pH en grupo con EP que consumió lácteo con placebo en t0 y t3. Los valores corresponden a la mediana. Se utilizó el test de Wilcoxon; $p = 0,003$.

En el grupo de pacientes sanos que consumieron el lácteo con probiótico la mediana del pH en tiempo cero fue de 7,12, disminuyendo a 6,94 luego de 3 meses (Gráfico 3).

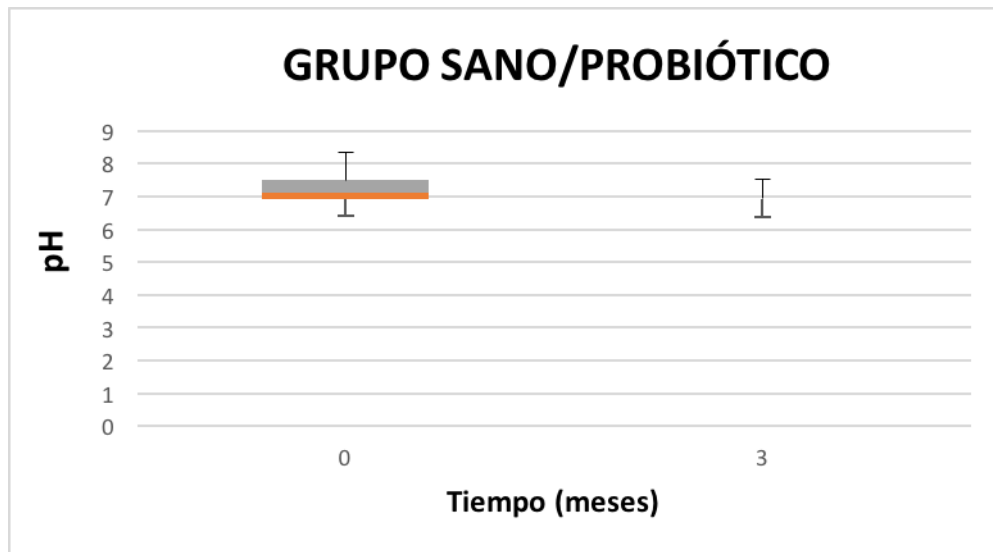


Gráfico 3: pH en grupo sano que consumió lácteo con probiótico en t0 y t3. Los valores corresponden a la mediana.

En el grupo de pacientes sanos que consumieron el lácteo con placebo, al igual que en los grupos anteriores, la mediana disminuyó de 8,12 con rango 1,38 en t0 a 7,27 con rango 2,07 en t3, con diferencia estadística ($p=0,0003$) (Gráfico 4).

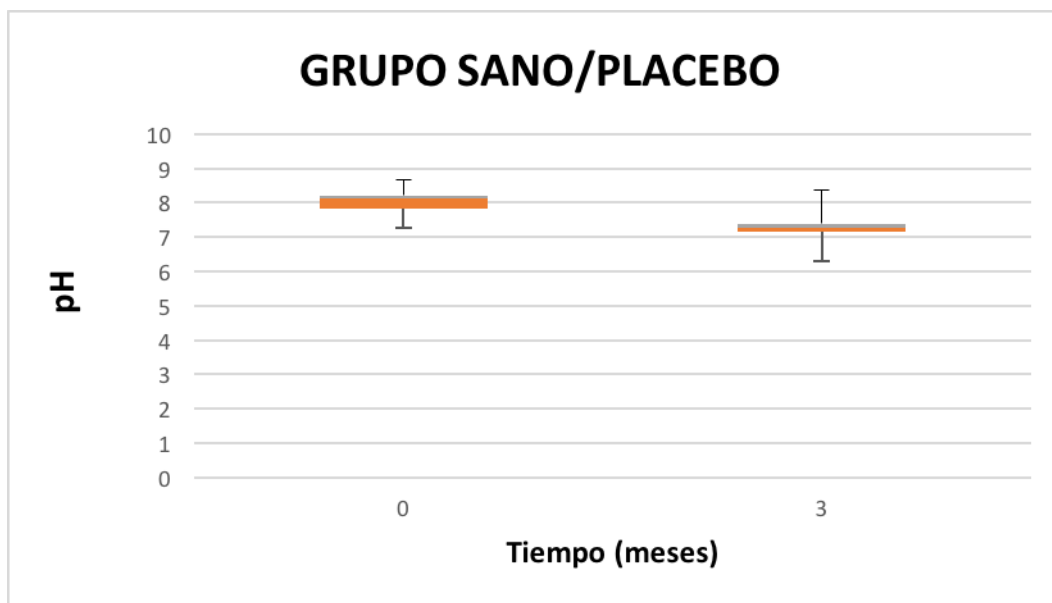


Gráfico 4: pH en grupo sano que consumió lácteo con placebo en t0 y t3. Los valores corresponden a la mediana. Se utilizó el test de Wilcoxon; $p = 0,0003$.

Estos resultados se resumen en Tabla 1.

Tabla 1: pH en pacientes portadores de prótesis removible con EP y sanos en tiempo 0 y 3 meses. Los valores corresponden a la mediana.

Grupo de estudio	pH tiempo 0 (mediana)	pH tiempo 3 meses (mediana)	valor de p
EP/Probiótico	7,26	6,72	0,13
EP/Placebo	7,57	6,8	0,003*
Sano/Probiótico	7,12	6,94	-
Sano/Placebo	8,12	7,27	0,0003*

Test no paramétrico Wilcoxon; $p < 0,05$ significativo.

Variable VFS:

En el grupo con EP que consumió el lácteo con probiótico la mediana aumentó de 0,39 con rango 1,19 en t0 a 0,44 con rango 0,86 en t3, sin diferencia estadística ($p=0,41$)(Gráfico 5).

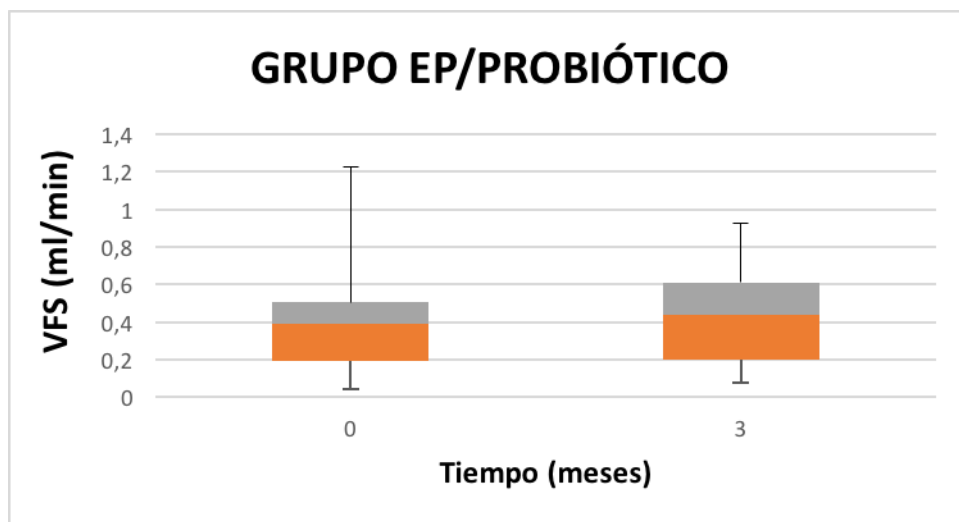


Gráfico 5: VFS en grupo con EP que consumió lácteo con probiótico en t0 y t3. Los valores corresponden a la mediana. Se utilizó el test de Wilcoxon; $p = 0,41$.

En el grupo con EP, pero que consumió lácteo con placebo la mediana disminuyó de 0,52 con rango 1,18 en t0 a 0,33 con rango 0,89 en t3, con diferencia estadística ($p=0,014$)(Gráfico 6).

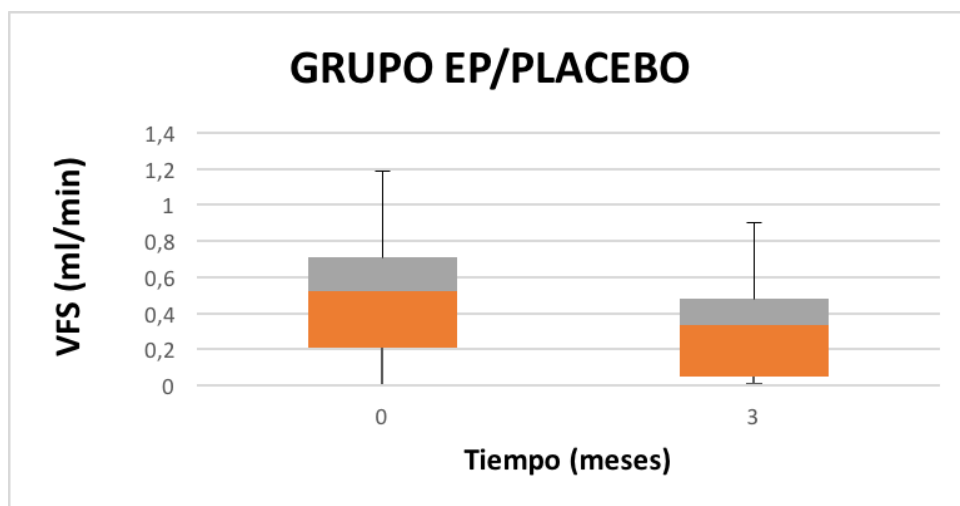


Gráfico 6: VFS en grupo con EP que consumió lácteo con placebo en t0 y t3. Los valores corresponden a la mediana. Se utilizó el test de Wilcoxon; $p = 0,014$.

En el grupo de pacientes sanos que consumieron el lácteo con probiótico la mediana en t0 fue de 0,42 con rango 1,02 y disminuyó a 0,31 con rango 0,44 en t3 (Gráfico 7).

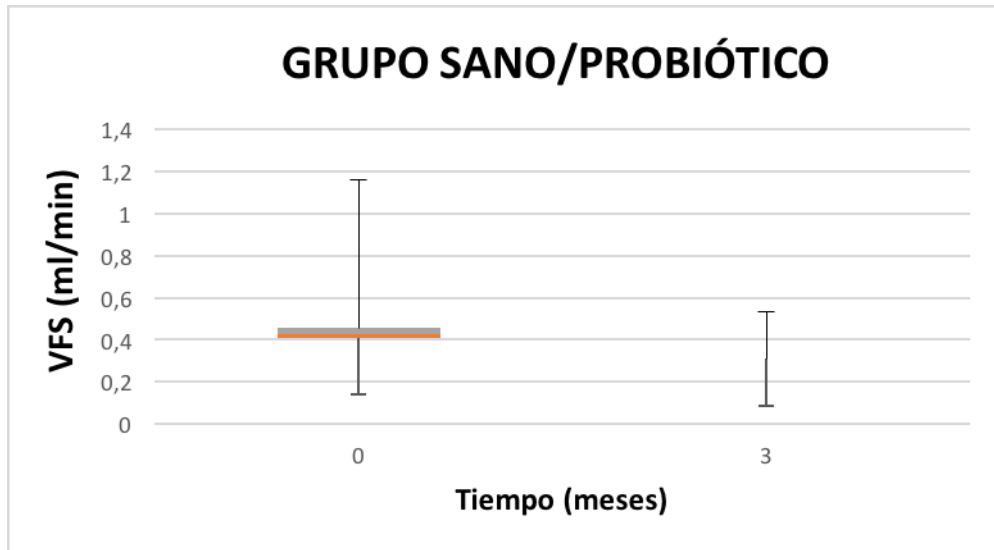


Gráfico 7: VFS en grupo sano que consumió lácteo con probiótico en t0 y t3. Los valores corresponden a la mediana.

En el grupo de pacientes sanos que consumieron el placebo la mediana en t0 fue de 0,49 con rango 2,37 y bajó a 0,46 con rango 1,57 en t3, sin diferencia estadística ($p=0,08$)(Gráfico 8).

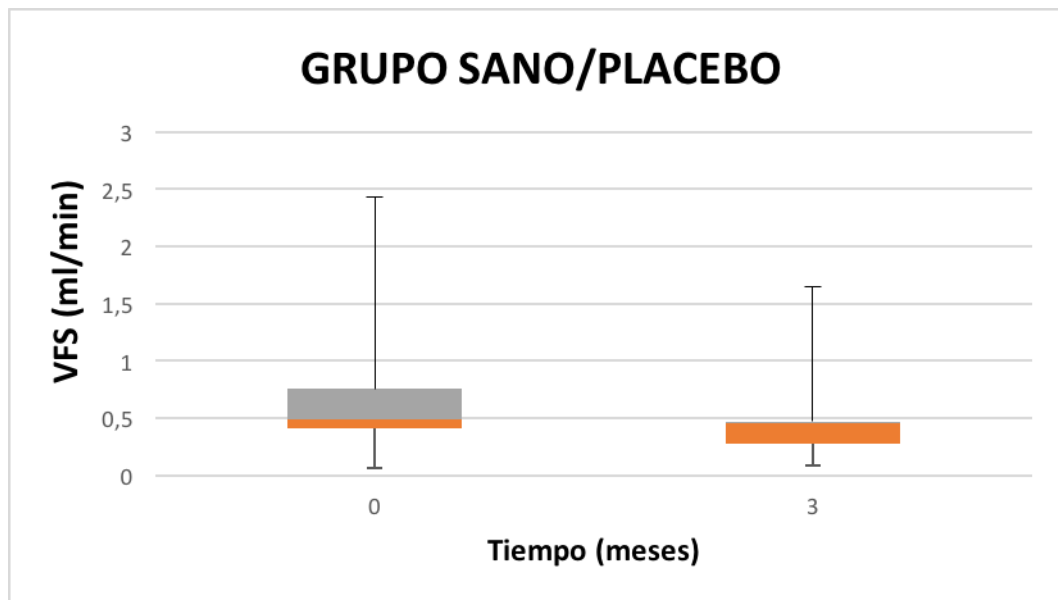


Gráfico 8: VFS en grupo sano que consumió lácteo con placebo en t0 y t3 Los valores corresponden a la mediana. Se utilizó el test de Wilcoxon; $p = 0,08$.

Estos resultados se resumen en Tabla 2.

Tabla 2: VFS en pacientes portadores de prótesis removible con EP y sanos en tiempo 0 y 3 meses. Los valores corresponden a la mediana.

Grupo de estudio	VFS (ml/min) tiempo 0 (mediana)	VFS (ml/min) tiempo 3 meses (mediana)	valor de p
EP/Probiótico	0,39	0,44	0,41
EP/Placebo	0,52	0,33	0,01*
Sano/Probiótico	0,42	0,31	-
Sano/Placebo	0,49	0,46	0,08

Test no paramétrico Wilcoxon; $p < 0,05$ significativo.

Variable concentración total de proteínas en saliva:

El grupo de pacientes con EP que consumió lácteo con probióticos aumentó su mediana de 498,07 con rango 827,4 en t0 a 1072,84 con rango 3566,7 en t3, con diferencia estadística ($p=0,0000$) (Gráfico 9).

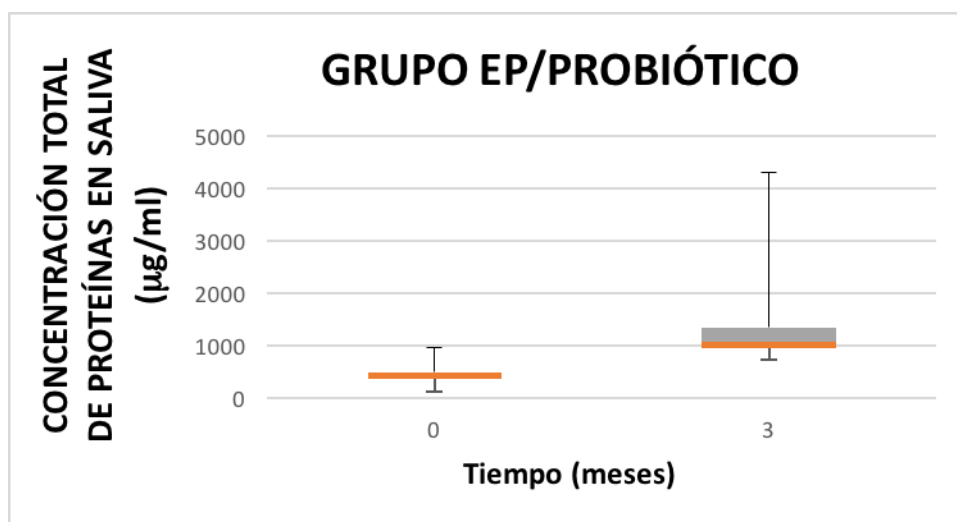


Gráfico 9: Concentración total de proteínas en saliva en grupo con EP que consumió lácteo con probiótico en t0 y t3. Los valores corresponden a la mediana. Se utilizó el test de Wilcoxon; $p = 0,0000$.

Por otro lado, se observó la mediana en los pacientes con EP que consumieron el lácteo con placebo aumentando de 599,40 con rango 912,4 en t0 a 957,77 con rango 1449,5 en t3, con diferencia estadística ($p=0,0007$) (Gráfico 10).

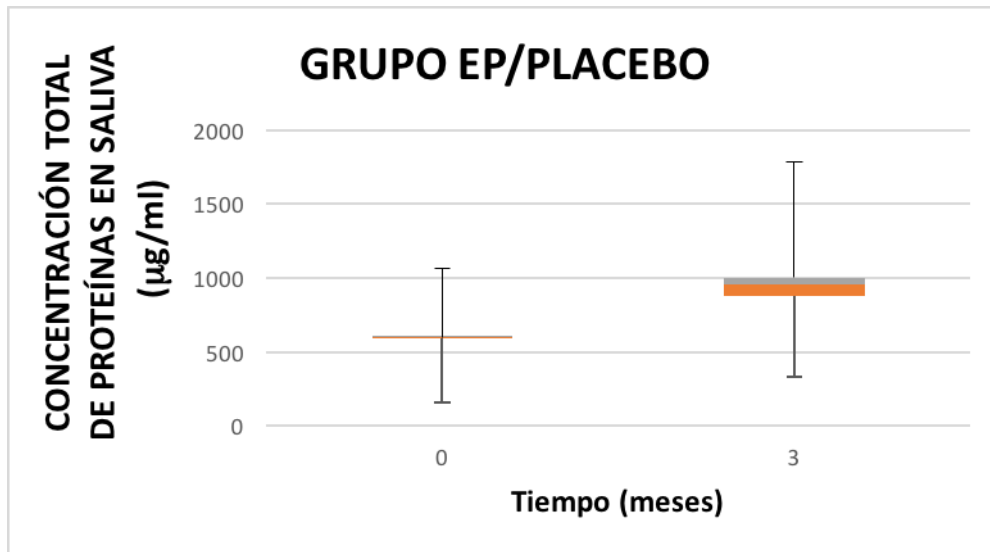


Gráfico 10: Concentración total de proteínas en grupo con EP que consumió lácteo con placebo en t0 y t3. Los valores corresponden a la mediana. Se utilizó el test de Wilcoxon; $p = 0,0007$.

El grupo de pacientes sanos que consumieron el lácteo con probiótico aumentó su mediana de 797,08 con rango 1478,9 en t0 a 909,19 con rango 107,24 en t3. (Gráfico 11).

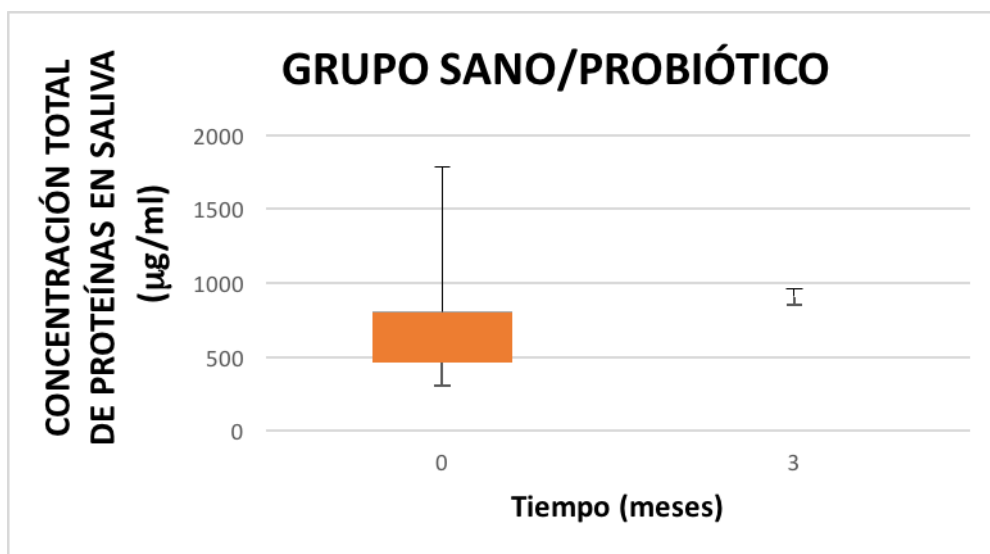


Gráfico 11: Concentración total de proteínas en saliva en grupo sano que consumió lácteo con probiótico en t0 y t3. Los valores corresponden a la mediana.

El grupo de pacientes sano que consumieron el lácteo con placebo aumentaron su mediana de 631,57 con rango 391,31 en t0 a 1195,70 con rango 1485,1 en t3, con diferencia estadística ($p=0,0001$) (Gráfico 12).

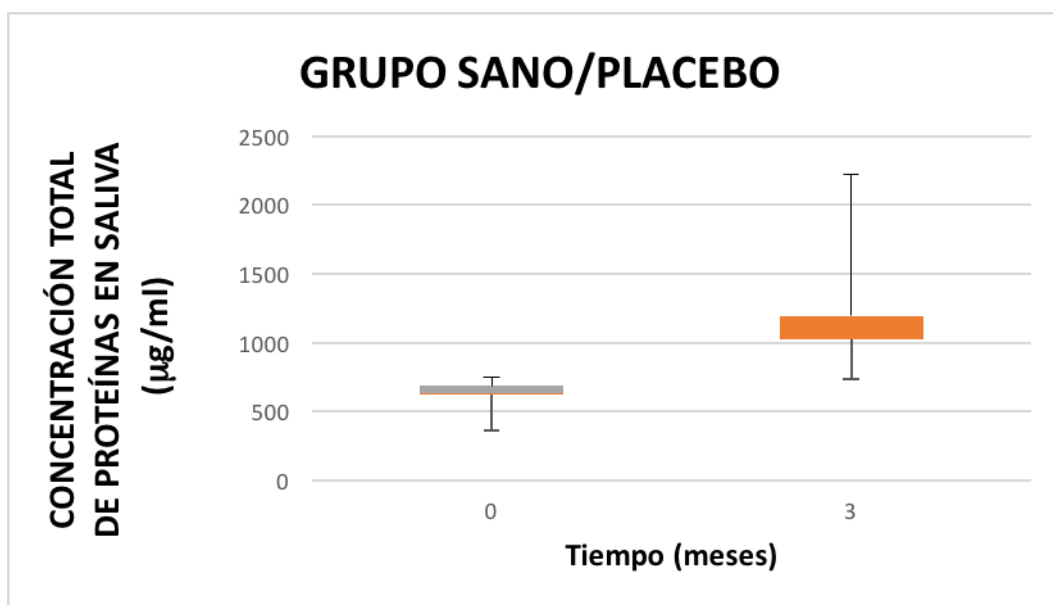


Gráfico 12: Concentración total de proteínas en saliva en grupo sano que consumió lácteo con placebo en t0 y t3. Los valores corresponden a la mediana. Se utilizó el test de Wilcoxon; $p < 0,0001$.

Estos resultados se resumen en la Tabla 3.

Tabla 3. Concentración total de proteínas en saliva de pacientes portadores de prótesis removible en tiempo 0 y 3 meses. Los valores corresponden a la mediana.

Grupo de estudio	Concentración total de proteínas ($\mu\text{g/ml}$) tiempo 0 (mediana)	Concentración total de proteínas ($\mu\text{g/ml}$) tiempo 3 meses (mediana)	valor de p
EP/Probiótico	498,07	1072,84	0,0000*
EP/Placebo	599,40	957,77	0,00007*
Sano/Probiótico	797,08	909,19	-
Sano/Placebo	631,57	1195,70	0,0001*

Test no paramétrico Wilcoxon; $p < 0,05$ significativo.

VARIABLES ANALIZADAS ENTRE GRUPOS EN T0 Y T3.

Las variables entre grupos fueron analizadas mediante el test no paramétrico Kruskal Wallis, para determinar diferencia estadística entre ellos en cada tiempo.

Los resultados obtenidos fueron:

Para la variable pH en tiempo cero hubo diferencia estadística entre los cuatro grupos ($p=0,01$), en cambio en el tiempo 3 meses no hubo diferencia estadística ($p=0,65$).

En cuanto a la variable VFS no hubo diferencia estadística en tiempo cero ni en tiempo 3 meses con $p=0,25$ y $p=0,81$, respectivamente.

Al analizar la variable concentración total de proteínas hubo diferencia estadística en tiempo cero ($p=0,009$) y en tiempo 3 meses ($p=0,017$) entre los cuatro grupos.

Estos resultados se resumen en Tabla 4.

Tabla 4: Comparación de variables entre grupos en tiempo 0 y 3 meses.

Variable analizada	valor de p Tiempo Cero (t0)	valor de p Tiempo 3 meses (t3)
pH	0,01*	0,65
VFS	0,25	0,81
CONCENTRACIÓN TOTAL DE PROTEINAS EN SALIVA	0,009*	0,0017*

Test no paramétrico Kruskal Wallis; $p<0,05$ significativo.

7. DISCUSIÓN

Las características bioquímicas salivales juegan un importante rol en la cavidad oral, ya sea en condiciones fisiológicamente normales o patológicas.

En el presente estudio, se analizó el pH salival, VFS y concentración total de proteínas salivales de pacientes portadores de PR, sanos y con EP antes y después del consumo de lácteo enriquecido con o sin probiótico durante 3 meses.

En los cuatro grupos de estudio, el pH al inicio del estudio fue cercano al descrito por Maheshwari y cols. (2013), quienes determinaron un pH promedio en pacientes adultos mayores sistémicamente controlados con un valor de 7,3, condición que se cumple en el grupo con EP/probiótico, en el grupo con EP/placebo y en el grupo sano/probiótico, sin embargo, no coincide con el grupo sano/placebo, quienes presentaron una mediana de 8,12.

Se ha descrito en la literatura que el rango de pH de los pacientes portadores de PR con EP oscila entre valores de 5 a 6 (Baena y cols., 2004), lo que podría favorecer la colonización de la levadura *C. albicans* tanto en los materiales acrílicos como en la mucosa oral (Pontón y cols., 1996; San Millán y cols., 2000; Bikandi y cols., 2000;), sin embargo, en este estudio obtuvimos que el pH salival fue cercano a la neutralidad entre los pacientes con EP y sanos al inicio del estudio.

Luego de 3 meses de consumo del lácteo se pudo observar diferencias significativas en el pH sólo en los grupos que consumieron el placebo, ya que ambos grupos disminuyeron el valor de la mediana. Como se puede apreciar en el estudio de Chopde y cols. (2012), las LGC al ser microorganismos fermentativos, metabolizan los hidratos de carbono, acidificando el pH salival. Esto puede explicar los resultados obtenidos en el grupo con EP que consumió el lácteo sin probiótico, ya que al no actuar en este ambiente la cepa probiótica, ésta no sería capaz de disminuir los recuentos de LGC, como se demuestra en el estudio de Hatakka y cols. (2007). De esta manera se mantendría la condición patológica de EP, provocando una constante disminución del pH salival de estos pacientes,

favoreciendo la proliferación e infección de estas levaduras sobre las superficies orales y protésicas (Aguirre, 2002; Salerno y cols., 2011; Chopde y cols., 2012).

Estos resultados apoyan lo referido por otros autores (Sánchez-Vargas y cols., 2002; Chopde y cols., 2012) que explican la influencia del pH ácido en el aumento de la colonización por *C. albicans*, destacando la naturaleza acidúrica y acidófila de las diferentes especies de *Candida* (Vidotto y cols., 2003; Bikandi y cols., 2000). Adicionalmente, se ha demostrado que la IgA secretora, que es un mecanismo eficaz frente a *C. albicans* y otros patógenos bucales, es menos eficaz en pH ácidos (Pontón y cols., 1996; Bikandi y cols., 2000).

Además, debemos considerar que en este grupo de pacientes existe una alta probabilidad de presentar condiciones de higiene desfavorable y uso protésico nocturno, lo que favorecería la presencia de LGC y EP, con la consecuente disminución del pH por la mantención de un ambiente ácido y anaerobio, especialmente entre la superficie protésica y la mucosa oral (Peltola y cols., 2004; Dikbas y cols., 2006; Gendreau y Loewy, 2011).

En cuanto a los pacientes sanos que consumieron el lácteo con placebo, nuestros resultados muestran una disminución en el pH. Si bien estos pacientes no cuentan con condiciones orales patológicas que expliquen la disminución de este pH, otros factores pueden estar involucrados, como una dieta alta en hidratos de carbono, coincidente con el estudio de Salerno y cols. (2011), quienes demuestran que la fermentación de estos nutrientes por parte de las levaduras mantienen un pH salival ácido; también puede estar involucrada la presencia de caries dental en los dientes remanentes de los pacientes portadores de PR, asociada al metabolismo fermentativo de bacterias cariogénicas (Zeng y Burne, 2015). Aunque la presencia de caries dental fue considerada al momento de completar la ficha clínica de los participantes, no formó parte de las variables consideradas para este estudio.

Por otro lado, a pesar de que la disminución en el pH presentó diferencia estadística, los valores obtenidos a los 3 meses coinciden con los valores normales de pH en la población adulta mayor obtenidos por Maheshwari y cols. (2013), cercanos a 7,3.

Cabe destacar que variables como el ciclo circadiano o el tipo de alimentos consumidos previo a la toma de muestra salival pueden modificar los valores de pH salival. Respecto a lo primero, para obtener un pH salival cercano a lo real es necesario realizar la toma de muestra y medición de pH 2 a 3 veces al día durante por lo menos 2 semanas. Sin embargo, esta variable no fue analizada en este estudio.

A pesar que en varios estudios los parámetros de normalidad de flujo salival son distintos, se ha evidenciado que la disminución de este flujo salival puede causar diversas patologías o condiciones favorables para su desarrollo. Glazar y cols. (2010), establecen como normal una VFS mayor o igual a 0,4 ml/min, flujo salival reducido entre 0,2 y 0,39 ml/min e hiposalivación cuando el flujo es menor a 0,2 ml/min. Esta última clasificación fue utilizada para este estudio.

Los resultados obtenidos demostraron valores de VFS normales en todos los grupos estudiados, sin diferencia estadística entre ellos al inicio del estudio. Además, luego de 3 meses de consumo del producto lácteo con o sin probiótico los valores de VFS se mantuvieron en el rango de normalidad en todos los grupos, nuevamente sin diferencia estadística entre ellos.

Es interesante destacar que existen algunos estudios que describen una VFS reducida en pacientes adultos mayores. Uno de estos estudios es el del grupo de Maheshwari y cols. (2013), quienes determinaron una VFS promedio de 0,3 ml/min en una población entre 40 y 75 años, valor que no se condice con nuestros resultados. Sólo el grupo con EP en tratamiento sin probiótico ~~con placebo~~, presentó una disminución de su VFS. Aún cuando esta disminución es significativa, no se clasifica como un estado de hiposalivación, por lo que los valores obtenidos en este grupo no podrían ser considerados como un factor predisponente o relacionado a una mayor severidad de EP (Navazesh y cols.,

1995; Hofer y cols., 2004; Nari y cols., 1993). Adicionalmente, existen variadas situaciones que pueden alterar las mediciones de flujo salival, como lo son el uso de fármacos (Beighton y cols., 1999), el ciclo circadiano que modifica la secreción salival durante distintos momentos del día, la edad y diferencias raciales (Rudney, 1995). Estos factores no fueron homogeneizados entre la población estudiada, por lo que pudieron afectar las mediciones obtenidas.

A pesar de la diferencia obtenida en el grupo con EP que consumió el lácteo con probiótico, ningún grupo presentó niveles de VFS compatibles con hiposalivación, tanto en t0 como en t3, por lo que, en este estudio, no podemos asociar la disminución de VFS como un factor predisponente o gravitante de EP asociada a candidiasis oral. Sin embargo, podemos afirmar que en pacientes con flujo salival normal es posible desarrollar EP y esto puede ocurrir a causa de otros factores involucrados en la génesis y/o desarrollo de EP, como la mala higiene protésica u oral, el consumo de fármacos, enfermedades sistémicas, uso protésico nocturno, entre otros.

Otra variable analizada en este estudio fue la concentración total de proteínas en la saliva no estimulada de pacientes adultos mayores portadores de PR con y sin EP. En t0 encontramos diferencia estadística entre los grupos, lo que nos indica la distinta concentración proteica salival entre los pacientes sanos y con EP. Esta diferencia se mantuvo en t3, lo que se demuestra al analizar las concentraciones proteicas de los pacientes que consumieron lácteo con probióticos y aquellos que consumieron lácteo sin probiótico.

Banderas y cols. (1997) estudiaron la concentración total de proteínas en saliva, pero a diferencia de nuestro estudio, se realizó en pacientes sanos y jóvenes, no obstante, obtuvieron valores cercanos a los nuestros, es decir, la concentración de proteínas promedio en su estudio fue de 1374 $\mu\text{g/ml}$ y en nuestro estudio, el grupo con EP que consumió el lácteo con probiótico describió un aumento considerable en la concentración total proteica salival luego de 3 meses (498,07 $\mu\text{g/ml}$ a 1072,84 $\mu\text{g/ml}$). Por otro lado, se observó un aumento en este parámetro tanto en el grupo con EP como en el sano que consumió lácteo sin probiótico.

Castro y cols. (2012) observaron un aumento en la concentración total de proteínas salivales a medida que el ser humano envejece, dicho aumento podría asociarse a degeneración tisular y a la presencia de enfermedades sistémicas como la diabetes mellitus tipo II (Aitken y cols., 2015). Sin embargo, para comprobar esta hipótesis es necesario realizar un análisis cualitativo de dichas proteínas. Si bien nuestro estudio corresponde a una cuantificación de las proteínas salivales, el aumento de proteínas en aquellos pacientes que consumieron el lácteo enriquecido con probiótico se condice con los resultados de Agda Lima y cols. (2009) y Meurman (2005), quienes describen el efecto de los probióticos en la estimulación de las mucosas para aumentar la producción de IgA, proteína salival involucrada en el proceso inmunológico contra las LGC (Altarawneh y cols., 2013). Dicho efecto podría ser el evidenciado en nuestro estudio con un aumento en la concentración de proteínas salivales defensivas tales como, IgA, lisozima o histatina, entre otras, de esta forma se podría evidenciar una mejoría clínica de la EP. Para corroborar o asociar lo mencionado anteriormente es necesario realizar estudios que asocien nuestros resultados con el recuento de LGC para evidenciar su disminución, además, es necesario caracterizar las proteínas salivales presentes en la muestra, determinando así de mejor manera el rol que cumplen las proteínas en la EP asociada a candidiasis oral.

En el caso del grupo con EP que consumió el lácteo sin probiótico, el aumento en la concentración total de proteínas se relaciona con el estudio de Jeganathan y cols. (1987), quienes describen que la mantención de la candidiasis oral produce un importante incremento especialmente en IgA anti-*Candida*, lo que podría dar cuenta de un control del cuadro clínico de EP asociada a candidiasis oral, sin embargo, también se hace necesario un análisis proteico salival de tipo cualitativo para demostrar este efecto.

Según la evidencia existen múltiples variables que influyen en la concentración de proteínas totales salivales, entre ellas se encuentran la edad, variaciones

circadianas, consumo de fármacos, embarazo, enfermedades sistémicas y método de análisis (Rudney, 1995); lo que dificulta su análisis cuantitativo y su comparación con otros estudios. Dichas variables pudieron influir en el grupo sano que consume el lácteo sin probiótico, ya que estuvo compuesto de adultos mayores no institucionalizados donde gran parte de estas variables, como lo son la dieta y el control metabólico no fue posible controlarlas por los examinadores.

Este estudio utilizó la saliva no estimulada como fuente de recolección de datos. Ésta es ampliamente utilizada por su fácil recolección y se podría pensar que es de mayor relevancia clínica que la saliva estimulada, ya que está en contacto directo con la cavidad oral la mayor parte del día (Rudney y cols., 1991); sin embargo, algunos autores reportan que la saliva total no estimulada presenta más obstáculos para la cuantificación de proteínas, ya que contiene un mayor número de bacterias, células exfoliadas y restos de comida, que podrían contribuir a la degradación de las proteínas secretadas, interferir con los métodos de análisis o proveer fuentes adicionales de proteínas antimicrobianas o inmunoglobulinas (Mandel y Wotman, 1976; Jenzano y cols., 1986; Jensen y cols., 1992; Perinpanayagam y cols, 1995).

La concentración total de proteínas salivales ha sido asociada ampliamente a candidiasis y su efecto sobre LGC, principalmente por su rol como mediadores inmunológicos; sin embargo, no existen estudios que asocien la concentración de estas macromoléculas con EP asociada a candidiasis, lo que no permite comparar el análisis de nuestros resultados con los de otros autores.

El posible efecto del lácteo enriquecido con probiótico en el aumento de la concentración de proteínas defensivas salivales podría ser propuesto como una terapia complementaria al tratamiento convencional de la EP asociada a candidiasis oral.

La evidencia científica acorde a los parámetros salivales analizados (pH, VFS y concentración total de proteínas) en los pacientes adultos mayores portadores de

PR con EP asociada a candidiasis es escasa. Para futuras investigaciones sugerimos controlar todas las variables, homogeneizando la población estudiada, y ampliar el tamaño de la muestra para disminuir el error tipo II, además de considerar un diagnóstico clínico y microbiológico de EP, para así obtener una mayor aproximación al rol que cumplen estos parámetros salivales en el desarrollo y mantención de EP asociada a candidiasis oral.

8. CONCLUSIONES

- Hubo una variación del pH en los grupos que consumieron el lácteo sin probiótico, pero aún así se mantuvo dentro de los rangos normales para el pH salival, por lo que la hipótesis planteada es nula.
- La VFS no puede ser considerada, en este estudio, como un factor influyente en la generación o desarrollo de EP, ya que tanto los pacientes sanos como aquellos que presentaron esta lesión, presentaron valores de VFS normales y sin diferencia estadística entre ellos. Se descarta la hipótesis que los probióticos influyan en este parámetro ya que el único grupo que presentó diferencia estadística fue aquel que consumió el lácteo sin probiótico.
- La concentración total de proteínas en la saliva aumentó tanto en pacientes portadores de PR con EP como en aquellos pacientes sanos, por lo que la hipótesis planteada es verdadera. Esto se condice con la evidencia científica publicada, donde se describe un aumento de proteínas defensivas como IgA, lisozima e histatina ante la estimulación de las mucosas frente al consumo de probióticos y, también ante una infección fúngica mantenida en el tiempo. Sin embargo, es necesario realizar una caracterización de tipo cualitativa de las proteínas salivales contenidas en las muestras tanto en t0 como en t3.

9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguirre J (2002). Candidiasis orales. Rev Iberoam Micol 19: 17-21.
- Aitken J, Rojas G, Maturana A, Escobar A, Cortes A, Reyes M, Viera V, Villablanca C, Morales I (2015). Salivary gland dysfunction markers in type 2 diabetes mellitus patients. J Clin Exp Den 7: 501-505.
- Altarawneh S, Bencharit S, Mendoza L, Curran A, Barrow D, Barros S y cols. (2013). Clinical and histological findings of denture stomatitis as related to intraoral colonization patterns of *Candida albicans*, salivary flow and dry mouth. J Prosthodont 22: 13-22.
- Badet C, Thebaud NB (2008). Ecology of lactobacilli in the oral cavity: A review of literatura. Open Microbiol J 2: 38-48.
- Baena T, Moreno V, Franco F, Aldape B, Quindós G, Sánchez LO (2005). *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus mutans* colonization in patients wearing dental prosthesis. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 10: E27-E39.
- Banderas JA, González M, Sánchez A, Millán E, López A, Vilchis A (1997). Flujo y concentración de proteínas en saliva total humana. Salud pública Méx 39(5).
- Beighton D, Hellyer PH, Lynch EJ, Heath MR (1999). Salivary levels of mutans streptococci, lactobacilli, yeasts, and root caries prevalence in non-institutionalized elderly dental patients. Community Dent Oral Epidemiol 19: 302-307.
- Bikandi J, Moragues MD, Quindós G, Polonelli L, Pontón J (2000). Influence of environmental pH on the reactivity of *Candida albicans* with salivary IgA. J Dent Res 79: 1439-1442.
- Bilhan H, Sulun T, Erkose, G, Kurt H, Erturan Z, Kutay O y cols. (2009). The role of *Candida albicans* hyphae and *Lactobacillus* in denture-related

stomatitis. Clin Oral Invest 13: 363-8

- Byrd WC, Schwartz-Baxter S, Carison J (2014). Role of salivary and candidal proteins in denture stomatitis: an exploratory proteomic analysis. Mol. BioSyst, 10: 2299-2304.
- Caglar E, Kargul B, Tanboga I (2005). Bacteriotherapy and probiotics role on oral health. Oral Dis 11: 131-137.
- Campisi G, Panzarella V, Matranga D, Calvino F, Pizzo G, Lo Muzio L y cols. (2008). Risk factors of oral candidosis: a twofold approach of study by fuzzy logic and traditional statistic. Arch Oral Biol 53: 388-97.
- Castro RJ, Guzmán G, Giacaman RA (2012). Comparación de la concentración total de proteínas salivales de adultos y adultos mayores. Rev Clin Periodoncia Implantol Rehabil Oral 5: 25-28.
- Chopde N, Jawale B, Pharande A (2012). Microbial colonization and their relation with potential cofactors in patients with denture stomatitis. J Contemp Dent Pract 1;13: 456-9.
- Comisión Económica para América Latina y el Caribe (CEPAL) (2009). Envejecimiento, derechos humanos y políticas públicas. [URL disponible en: <http://bibliotecadigital.indh.cl/bitstream/handle/123456789/272/ENVEJECIMI ENTO.pdf> (acceso en mayo 2015)].
- Dawes C (1996). Factors influencing salivary flow rate and composition. En: Saliva and Oral Health. Edgar WM, O'Mullane DM, editores. Brit Dent J 27-41.
- Dikbas I, Koksai T, Calikkocaoglu S (2006). Investigation of the cleanliness of dentures in a university hospital. Int J Prosthodont 19: 294-298.
- Dorota Kościelniak, Anna Jurczak, Agnieszka Zygmunt (2012). Salivary proteins in health and disease. Acta Biochim Pol 59: 451-457.

- Egusa H, Soysa N, Ellepola A, Yatani H, Samaranayake L (2008). Oral candidosis in HIV-infected patients. *Curr HIV Res* 6: 485-499.
- Emami E, Taraf H, Grandmont P, Gauthier G, Koninck L, Lamarche C, Souza RF (2012). The association of denture stomatitis and partial removable dental prostheses: a systematic review. *Int J Prosthodont* 25: 113–119.
- Espinoza I, Rojas R, Aranda W, Gamonal J (2003). Prevalence of oral mucosal lesions in elderly people in Santiago, Chile. *J Oral Pathol Med* 32: 571–575.
- Farah C, Lynch N, McCullough M (2010). Oral fungal infections: an update for the general practitioner. *Aust Dent J* 55: 48–54.
- Felton D, Cooper L, Duqum I, Minsley G, Guckes A, Haug S, Meredith P, Solie C, Avery D, Deal Chandler N (2011). Evidence-based guidelines for the care and maintenance of complete dentures: a publication of the American College of Prosthodontists. *J Prosthodont* 20: 1–12.
- Fenoll-Palomares C, Muñoz-Montagud JV, Sánchez V, Herreros B, Hernández V, Mínguez M, Benages A (2004). Unstimulated salivary flow rate, pH and buffer capacity of saliva in healthy volunteers. *Rev Esp Enferm Dig* 96: 773-783.
- Figueiral MH, Azul A, Pinto E, Fonseca PA, Branco FM, Scully C (2007). Denture-related stomatitis: identification of aetiological and predisposing factors- a large cohort. *J Oral Rehabil* 34: 448-55.
- Gendreau L, Loewy ZG (2011). Epidemiology and etiology of denture stomatitis. *J Prosthodont* 20: 251-260.
- Glazar I, Urek MM, Brumini G, Pezelj-ribaric S (2010). Oral sensorial complaints, salivary flow rate and mucosal lesions in the institutionalized elderly. *J Oral Rehabil* 37: 93–99.
- Golledge CL, Riley TV (1996). “Natural” therapy for infectious diseases. *Med J Aust* 164: 94–95.
- Guggenheimer J, Moore PA (2003). Xerostomia: etiology, recognition and treatment. *JADA* 134: 61–69.

- Haslöff P, Hedberg M, Twetman S, Stecksén-Blicks C (2010). Growth inhibition of oral mutans streptococci and candida by commercial probiotic lactobacilli - an *in vitro* study. BMC Oral Health 10-18.
- He X, Lux R, Kuramitsu HK, Anderson MH, Shi W (2009). Achieving probiotic effects via modulating oral microbial ecology. Adv Dent Res 21: 53-56.
- Heintze U, Birkhed D, Bjornhd (1983). Secretion rate and buffer effect of resting and stimulated whole saliva as a function of age and sex. Swed Dent J 7: 227-238.
- Hibino K, Samaranayake LP, Hagg U y cols. (2009). The role of salivary factors in persistent oral carriage of *Candida* in humans. Arch Oral Biol 54: 678-683.
- Hofer E, Jensen SB, Pendersen AM, Bardow A, Nauntofte B (2004). Oral microflora in patients with salivary gland hypofunction. Oral Biosci Med 2 S. 93-108.
- Instituto Nacional de Estadísticas (2008). Chile: proyecciones y estimaciones de población. 1990-2020. País y Regiones. [URL disponible en: <http://palma.ine.cl/demografia/menu/EstadisticasDemograficas/DEMOGRAFIA.pdf> (acceso en mayo 2015)].
- Jeganathan S, Ufomata D, Hobkirk J.A, Ivanyi L (1987). Immunoglobulin A1 and A2 subclass of salivary antibodies to *Candida albicans* in patients with oral candidosis. Clin Exp Immunol 70: 316-21.
- Jensen JL, Lamkin MS, Oppenheim FG (1992). Adsorption of human salivary proteins to hydroxyapatite: a comparison between whole saliva and glandular salivary secretions. J Dent Res 71: 1569-1576.
- Jenzano JW, Hogan SL, Lundblad RL (1986). Factors influencing measurement of human salivary lysozyme in lysoplate and turbidimetric assays. J Clin Microbiol 24: 963-967.
- Koeck B: Prótesis Completas (2007). 4ª ed. Urban y Fischer 13: 344-346.

- Kulak-Ozkan Y, Kazazoglu E, Arikan A (2002). Oral higiene habits, denture cleanliness, presence of yeast, and stomatitis in elderly people. *J Oral Rehabil* 29: 300-304.
- Lee X, Gómez L, Vergara C, Astorga E, Cajas N, Ivankovic M (2013). Association between presence of *Candida* yeasts and elderly patient factors with and without denture stomatitis. *Int J Odontostomat* 7: 279- 285.
- Lourens-Hattingh, A. and BC Viljoen (2001). Yogurt as probiotic carrier food. *Int Dairy J* 11: 1-17.
- Maheshwari A, Maheshwari B, Khandelwal V (2013). Salivary flow assessment In denture wearers. *WMCP* 4: 1- 4.
- Mandel ID, Wotman S (1976). The salivary secretions in health and disease. *Oral Sri Rev* 8: 25-47.
- Meurman JH (2005). Probiotics: do they have a role in oral medicine and dentistry?. *Eur J Oral Sci* 113: 188–196.
- Ministerio de Salud (2003). Encuesta nacional de salud 2003. [URL disponible en: http://www.emol.com/noticias/documentos/informe_salud.pdf__(acceso mayo 2015)].
- Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Estadísticas (2004). [URL disponible en: <http://deis.minsal.cl/indicadores/ind2004.pdf> (acceso en mayo 2015)].
- Ministerio de salud de Chile, departamento de estudios y desarrollo (2006). Perfil epidemiológico del adulto mayor en Chile. [URL disponible en: http://www.supersalud.gob.cl/documentacion/569/articles-4020_recurso_1.pdf (acceso en mayo 2015)].
- Ministerio de Salud (2007). Guía clínica salud oral integral para adultos de 60 años. [URL disponible en: <http://web.minsal.cl/portal/url/item/7221747c2c9484b7e04001011f0141a4.pdf> (acceso mayo 2015)].
- Ministerio de Salud (2008). Dependencia de los adultos mayores en Chile. [URL disponible en:

4471_recurso_1.pdf. Página 42 (Acceso mayo 2015)].

- Ministerio de Salud (2011). Encuesta nacional de salud 2009-2010. [URL disponible en: http://www.munitel.cl/eventos/seminarios/html/DOCUMENTOS/2011/SEMINARIO_PLAN_COMUNAL_DE_SALUD_SAN_FELIPE/PPT05.pdf (acceso en mayo 2015)].
- Navazesh M (1993). Methods for collecting saliva. *Ann N Y Acad Sci* 694: 72–7.
- Navazesh M, Wood GJ, Brightman VJ (1995). Relationship between salivary flow rates and *Candida albicans* counts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 80: 284-288.
- Organización de las Naciones Unidas (2002). Informe de la Segunda Asamblea Mundial sobre Envejecimiento. [URL disponible en http://www.monitoringris.org/documents/norm_glob/mipaa_spanish.pdf (acceso en mayo 2015)].
- Peltola P, Vehkalahti MM, Wuolijoki-Saaristo K (2004). Oral health and treatment needs of the long-term hospitalised elderly. *Gerodontology* 21: 93-99.
- Pereira-Cenci T (2008). Development of candida-associated denture stomatitis: new insights. *J Appl Oral Sci* 16: 86-94 .
- Perinpanayagam HER, Vanwuyckhuysse BC, Ji ZS, Tabak LA (1995). Characterization of low-molecular-weight peptides in human parotid saliva. *J Dent Res* 74: 345- 350.
- Preshaw P, Walls A, Jakubovics N, Moynihan P, Jepson N, Loewy Z (2011). Association of removable partial denture use with oral and systemic health. *J Dent* 39: 711–719.
- Primera encuesta nacional de calidad de vida en la vejez 2007 (2007). [URL disponible en: http://contacto.med.puc.cl/destacados/vejez_08/CalidadDeVida-Folleto-Int.pdf (acceso en mayo 2015)].

- Pontón J, Bikandi J, Moragues MD, Arilla MC, Elósegui R, Quindós G, Fisicari P, Conti S, Polonelli L (1996). Hypha formation in *Candida albicans* decreases the reactivity of the fungus with salivary sIgA. J Dent Res 75: 1979-1985.
- Rudney JD, Krig MA, Neuvar EK, Soberay AH, Iverson L (1991). Antimicrobial proteins in human unstimulated whole saliva in relation to each other, and to measures of health status, dental plaque accumulation and composition. Arch Oral Biol 36: 497-506.
- Rudney JD (1995). Does variability in salivary protein concentrations influence oral microbial ecology and oral health?. Crit Rev Oral Biol Med 6: 343-367.
- Salerno C, Pascale M, Contaldo M y cols. (2011). Candida-associated denture stomatitis. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 16: 139-143.
- Samaranayake LP, McFarlane TW (1990). Oral candidiasis. J Prosthet Dent 10: 213-237.
- San Millán R, Elguezabal N, Regúlez P, Moragues MD, Quindós G, Pontón J (2000). Effect of salivary secretory IgA and monoclonal antibodies on the adhesion of *Candida albicans* to plastic. Microbiology 146: 2105-2112.
- Sánchez LO, Pérez P, Romo J, Corona FP, Hidalgo H, Franco F (2002). Determinación de pH salival y cultivo en pacientes con candidiasis bucal. Rev Iberoam Micol 19: 155-160.
- Sazawal S, Hiremath G, Dhingra U, Malik P, Deb S, Black R (2006). Efficacy of probiotics in prevention of acute diarrhea: a meta-analysis of masked, randomized, placebocontrolled trials. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 16: 139-143.
- Soysa N, Samaranayake L, Ellepola A (2008). Antimicrobials as a contributory factor in oral candidosis - a brief overview. Oral Dis 14: 138-143.
- Udita S, Karthik. KS, Sudhakara V (2010). Candidiasis In Denture Wearers- A Literature Review. JIADS 1: 27-30.
- Vidotto V, Mantoan B, Pugliese A, Pontón J, Quindós G, Aoki S, Ito-Kuwa S

(2003). Adherence of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* to buccal and vaginal cells. *Rev Iberoam Micol* 20: 52-54.

- Williams D, Lewis M (2011). Pathogenesis and treatment of oral candidosis. *J Oral Microbiol* 3: 5771- 5782.
- Yuen HK, Wolf BJ, Bandyopadhyay D, Magruder KM, Salinas CF, London SD (2009). Oral health knowledge and behavior among adults with diabetes. *Diabetes Res Clin Pract* 86: 239-46.
- Zárate AN, Leyva ER (2004). Determinación de pH y proteínas totales en saliva en pacientes con y sin aparatología ortodóncica fija (estudio piloto). *Rev Odont Mexicana* 8: 59-63.
- Zeng L, Burne RA (2015). Sucrose- and fructose-specific effects on the transcriptome of *Streptococcus mutans* probed by RNA-Seq. *AEM* 2: 2681-2715.

ANEXO 1



Fecha de edición: 20 de agosto de 2013

CONSENTIMIENTO INFORMADO

TÍTULO DEL PROTOCOLO : EFECTO DEL CONSUMO DE BEBIDAS LÁCTEAS ENRIQUECIDAS CON PROBIÓTICOS EN LA REDUCCIÓN DE INCIDENCIA DE CANDIDIASIS ORAL ASOCIADA A ESTOMATITIS PROTÉSICA, EN ADULTOS MAYORES PORTADORES DE PRÓTESIS REMOVIBLES

INVESTIGADOR PRINCIPAL : PROF. DRA. XIMENA LEE MUÑOZ
SEDE DEL ESTUDIO : UNIVERSIDAD DE CHILE, FACULTAD DE ODONTOLOGÍA.
DIRECCIÓN : SERGIO LIVINGSTONE 943. SANTIAGO

NOMBRE DEL PACIENTE :

FECHA :

Yo Ximena Lee Muñoz, docente de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, Departamento de Prótesis, estoy realizando una investigación acerca de una levadura (hongo), el cual produce una enfermedad muy frecuente en la población, especialmente en aquella que utiliza prótesis dental y que se llama Candidiasis. Por otro lado, las personas que usan prótesis, muy frecuentemente sufren de un enrojecimiento bajo ella, que se denomina estomatitis protésica. Le proporcionaré información y lo(a) invitaré a ser parte de ella. No tiene que decidir hoy si lo hará o no. Antes de hacerlo puede hablar acerca de la investigación con cualquier persona de su confianza. Este proceso se conoce como Consentimiento Informado y puede que contenga términos que usted no comprenda, por lo que siéntase con la absoluta libertad para preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a aclarar sus dudas al respecto. Una vez que haya comprendido la investigación y si usted desea participar, entonces se le pedirá que firme este formulario. Los aspectos de este formulario tratan los siguientes temas: Justificación de la investigación, objetivo de la investigación, tipo de intervención y procedimiento, beneficios y riesgos asociados a la investigación y aclaraciones.

Justificación de la investigación: La candidiasis es una de las enfermedades más frecuentes de la boca. La magnitud de la infección depende fundamentalmente de las condiciones del paciente, por ejemplo, si usa prótesis y cuál es su estado de mantención. Esta enfermedad se puede manifestar de diferentes formas: cuando se inspecciona la boca los signos principales son enrojecimiento y manchas blancas que se desprenden al raspado, como también podemos encontrar fisuras o boqueras en las comisuras. La sintomatología es variable y generalmente mínima o asintomática, hasta cuadros de ardor o quemazón de variada intensidad.

Objetivo de la investigación: El objetivo de este estudio es evaluar el efecto del consumo de bebidas lácteas enriquecidas con probióticos, en la incidencia de candidiasis oral asociada a estomatitis protésica en adultos chilenos. El estudio incluirá a un número total de 340 pacientes adultos mayores. Los pacientes seleccionados presentan un nivel de salud que se clasifica como "Pacientes ASA I y II", es decir sanos o con tratamiento médico controlado, sin contraindicación para el consumo de bebidas lácteas, portadores de prótesis removible y pacientes desdentados totales o parciales (sin dientes o con algunos dientes), con estomatitis protésica (enrojecimiento bajo la prótesis) y/o candidiasis oral.

Criterios de inclusión y exclusión: Una muestra de 340 adultos mayores institucionalizados, pertenecientes a Centros de la Fundación Las Rosas (promedio de edad 70 años) hombres y mujeres, serán invitados a participar en este estudio, previa firma del consentimiento informado.

Los criterios de inclusión serán adultos mayores sanos, o con enfermedades de base controladas, portadores de prótesis removibles tanto de bases metálicas y/o acrílicas con estomatitis protésica y los de exclusión serán aquellos enfermos, o con enfermedades de base no controladas, no portadores de prótesis removibles o portadores de prótesis sin estomatitis protésica y que manifiesten intolerancia a las bebidas lácteas o alergia a alguno de los componentes de las bebidas experimentales y placebos. Se solicitará autorización a los médicos tratantes encargados de cada hogar. Tanto los grupos control y experimental, se conformarán previa firma del consentimiento informado de los voluntarios.

Beneficio de la investigación. Usted tendrá el beneficio de un examen de salud bucal donde podrá conocer el estado actual de su boca, y evaluar así la necesidad de posibles tratamientos. El conocer la efectividad de los probióticos en el tratamiento del hongo, nos permitirá mejorar el pronóstico de su tratamiento protésico, estableciendo una terapia oportuna, segura y eficaz según su riesgo individual. Además se sumarán los beneficios a su salud que le aporta el consumo de bebidas lácteas, enriquecidas con probióticos. Los probióticos se definen como "microorganismos vivos que al ser administrados en cantidades adecuadas, confieren beneficios al consumidor. Los probióticos son ampliamente consumidos en alimentos como "Uno al día" ®, "Chamyto" ®, entre otros. Además, el grupo de académicos del área de Prótesis Totales se comprometen a recibir en la clínica los casos de estomatitis más severa, y que sería incorrecto darles solo el probiótico (en estudio), siendo lo indicado una terapia específica posterior al estudio. Esto no tendría costo para usted.

Tipo de intervención y procedimiento. Si usted acepta participar, se le proporcionará una fórmula láctea que contiene el probiótico en estudio. Para medir su efectividad, se le

realizarán exámenes cuatro veces, al principio, seis, doce meses y dieciocho meses de su tratamiento. Estos exámenes consisten en toma de muestras de saliva y torulado de un área de su boca. Un torulado se realiza con un cotonito especial, el cual se pasa suavemente por su paladar. Para la muestra de saliva se le pedirá que deposite una pequeña cantidad de ella dentro de un frasquito. Los adultos mayores que conforman el *grupo experimental*, recibirán 1 porción de leche con 10^7 UFC/G *Lactobacillus rhamnosus*. Cabe destacar que se ha establecido contacto con la empresa proveedora de los lácteos que consume la institución beneficiaria, con el objetivo de no alterar las formulaciones que ingiere regularmente. Las bebidas lácteas con y sin probiótico, tendrán la misma fórmula en polvo desarrollada con leche 26% materia grasa, bajo poder higroscópico, fácil disolución y reconstitución.

Antes del examen es necesario que se abstenga de utilizar colutorios (enjuagues bucales) 15 días antes de la toma de la muestra. El día de la citación deberá estar en ayunas de 2 horas, tampoco debe haber fumado ni realizado ningún procedimiento de higiene bucal. Estas instrucciones le serán entregadas y explicadas oportunamente por escrito

Lugar donde se realizará la intervención.

Los pacientes que serán incluidos en este estudio, son adultos mayores que residen en la Fundación las Rosas, Los hogares participantes se dividirán en dos grandes grupo equivalentes. Dependiendo del número de personas por hogar se hará la distribución. El primer grupo será el experimental y el segundo el control.

La aplicación de este examen no representa ningún peligro para usted, pero si necesita información, puede comunicarse al teléfono 978 18 35, con la secretaria del Departamento de Prótesis, Sra. Erika Vásquez, quien gestionará su consulta, con los responsables del Proyecto: Dra. Ximena Lee Muñoz (ximenalee@gmail.com), Dr. Cristian Vergara Núñez, Dra. Elizabeth Astorga Bustamante. El horario de atención telefónica es de 08:30 a 13:00 horas, y desde las 14:00 a 17:30 horas, de lunes a viernes.

Las técnicas en estudio serán aportados por la Facultad de Odontología, sin costo alguno para usted, durante el desarrollo de este proyecto.

Riesgo de la investigación. Usted no correrá ningún riesgo durante y posterior al procedimiento de la investigación debido a que el cotonito sólo entrará en contacto con su paladar, el cual tampoco sufrirá daño alguno debido a que la presión ejercida es mínima y el material no es perjudicial para el mismo. Por otro lado, el consumo de los probióticos no le aportará ningún daño puesto que están autorizados por el ISP (Instituto de Salud Pública), para ser consumidos por la población.

Además del beneficio que este estudio significará para el progreso del conocimiento y el mejor tratamiento de futuros pacientes, su participación en este estudio le traerá como beneficio el diagnóstico de una posible infección que usted porte, y el tratamiento oportuno, absolutamente gratuito, para que el pronóstico de la prótesis que se está realizando sea mejor. Esto incluye los controles periódicos hasta que se le otorgue el alta clínica.

Toda la información derivada de su participación en este estudio, será conservada en forma de **estricta confidencialidad**, lo que incluye el acceso de los investigadores o agencias supervisoras de la investigación. Cualquier publicación o comunicación científica de los resultados de la investigación será completamente anónima. Cabe destacar que sus datos personales serán codificados, es decir, se les asignará un número. Bajo ninguna circunstancia la investigadora responsable o los coinvestigadores divulgarán estos antecedentes. Sólo se trabajará con el código asignado. Tampoco se le tomarán fotografías ni videos.

Aclaraciones

- La participación es completamente voluntaria
- No habrá ninguna consecuencia desfavorable para usted, en caso de no aceptar la **intervención**
- Si usted decide puede retirarse cuando **lo desee**.
- Las muestras obtenidas serán de exclusiva utilización para este estudio.
- No tendrá que efectuar gasto alguno como consecuencia del estudio.
- No recibirá pago por su participación.
- Usted podrá solicitar información actualizada sobre el **estudio, al investigador responsable**.
- La información obtenida de la Investigación, respecto de la identificación de pacientes, será **mantenida con estricta confidencialidad** por los investigadores, para esto, no se utilizará su nombre sino un sistema de código que enumerará las muestras.

Después de haber recibido y comprendido la información de este documento, y de haber podido aclarar todas mis dudas, puede, si lo desea, firmar la Carta de Consentimiento Informado del Proyecto: **EFFECTO DEL CONSUMO DE BEBIDAS LÁCTEAS ENRIQUECIDAS CON PROBIÓTICOS EN LA REDUCCIÓN DE INCIDENCIA DE CANDIDIASIS ORAL ASOCIADA A ESTOMATITIS PROTÉSICA, EN ADULTOS MAYORES PORTADORES DE PRÓTESIS REMOVIBLES**

Carta de Consentimiento Informado

A través de la presente, declaro y manifiesto, libre y espontáneamente y en consecuencia acepto que:

1. He leído y comprendido la información anteriormente entregada y que mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria.
2. He sido informado/a y comprendo la necesidad y fines de ser atendido.
3. Tengo conocimiento del procedimiento a realizar.
4. Conozco los beneficios de participar en la Investigación
5. El procedimiento no tiene riesgo alguno para mi salud.
6. Además de esta información que he recibido, seré informado/a en cada momento y al requerimiento de la evolución de mi proceso, de manera verbal y/o escrita si fuera necesaria y al criterio del investigador.
7. Autorizo a usar mi caso para investigación protegiendo mi identidad

Doy mi consentimiento al investigador y al resto de colaboradores, a realizar el procedimiento diagnóstico pertinente, **PUESTO QUE SE QUE ES POR MI PROPIO BENEFICIO.**

Nombre del Paciente: _____

RUT: _____

Firma: _____

Fecha: _____

Sección a llenar por el Investigador Principal

He explicado al Sr(a) _____ la naturaleza de la investigación, le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que conozco la normativa vigente proporcionada por el Comité Ético Científico de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, para la realizar la investigación con seres humanos y me apego a ella.

Nombre del Investigador Principal: _____

Firma: _____

Fecha: _____

En caso de cualquier duda puede acudir personalmente a Av. La Paz 750, Facultad de Odontología de Universidad de Chile, los días martes de 09:00 a 13:15 horas, o comunicarse al teléfono 978 18 35, con la secretaria del Departamento de Prótesis, Sra. Erika Vásquez, quien gestionará su consulta, con los responsables del Proyecto: Dra. Ximena Lee Muñoz, Dr. Cristian Vergara Núñez, Dra. Elizabeth Astorga Bustamante o Dr. Danilo Ocaranza Tapia. El horario de atención telefónica es de 08:30 a 13:00 horas, y desde las 14:00 a 17:30 horas, de lunes a viernes.

Ante cualquier duda también puede preguntar al Comité de Ética de la Facultad de Odontología cuya Presidenta es la Dra. María Angélica Torres; teléfono: 9781702 y su dirección es Facultad de Odontología de la U. de Chile, Edificio Administrativo, Oficina Vicedecanato, 4° piso, Sergio Livingston P. 943, Comuna Independencia.

ANEXO 2 Ficha clínica**FICHA CLÍNICA FONIS SA13I20113***Nombre Revisor:*.....*Fecha:*.....

NOMBRE (s):

APELLIDOS:

GÉNERO EDAD (años) NIVEL EDUCACIONAL ESTADO CIVIL

1- Femenino

2- Masculino

1. Sin escolaridad

2. Primaria

3. Secundaria

4. Superior

1. Soltero(a)

2. Casado(a)

3. Viudo(a)

HOGAR:

I. Enfermedades crónicas no transmisibles. (Marque con una X)

1. Hipertensión	<input type="checkbox"/>	7. Colon irritable	<input type="checkbox"/>
2. Respiratorias crónicas	<input type="checkbox"/>	8. Arritmias y cardiopatías	<input type="checkbox"/>
3. Hipercolesterolemia	<input type="checkbox"/>	9. Úlcera péptica	<input type="checkbox"/>
4. Depresión	<input type="checkbox"/>	10. Artritis/ Artrosis	<input type="checkbox"/>
5. Sobrepeso/ obesidad	<input type="checkbox"/>	11. Osteoporosis	<input type="checkbox"/>
6. Diabetes Tipo II	<input type="checkbox"/>	12. Alergia(s): ¿Cuál?(es)	<input type="checkbox"/>
		Otra(s) (Especifique)	

II. Enfermedades agudas (menos de tres meses de evolución)

1		
2		
3		

III. Otras condiciones (sí/no)

Intolerancia a la lactosa		
Tabaquismo (frecuencia)		
Consumo de alcohol (frecuencia)		

FICHA CLÍNICA FONIS SA13I20113

IV. Fármacos que consume: (especifique)

	Fármaco	Dosis
1		
2		
3		

V. Higiene oral y protésica

Higiene de:	Sí	No	Frecuencia (veces al día) 1 vez; 2 veces	¿Qué utiliza?	Sí	No
1. Dientes				1. Cepillo de dientes		
				2. Hilo/ seda dental		
				3. Cepillo interdentario		
				4. Enjuague bucal		
				5. Otro ¿cuál?		

2. Mucosas				1. Cepillo suave		
				2. Gasas		

3. Lengua				1. Limpiador lingual		
				2. Cepillo dental		

4.- Prótesis				1.- Cepillo protésico		
				2.- Cepillo dental		
				3.- Pastillas de limpieza		
				5.- Cloro		
				4.- Otro		

FICHA CLÍNICA FONIS SA13I20113

VI. Xerostomía

	Sí	No
¿Tiene sensación de boca seca?		
¿Siente la saliva espesa?		
¿Tiene sensación de ardor en la lengua?		
¿Tiene dificultades para tragar?		
¿Tiene que tomar agua para tragar alimentos?		

VII. Patología Oral: Mucosa Oral LESIONES

LESIONES		LOCALIZACIÓN		Lesión	Localización
0	Ningún estado anormal	0	Borde bermellón		
1	Leucoplasia	1	Comisuras		
2	Líquen plano	2	Labios		
3	Eritroplasia	3	Fondo de vestíbulo		
4	Estomatitis protésica	4	Mucosa oral		
5	Queilitis angular	5	Piso de la boca		
6	Glositis romboidal	6	Lengua		
7	Candidiasis pseudomembranosa	7	Paladar duro y/o blando		
8	Hiperplasia irritativa (éupulis)	8	Bordes alveolares/ encías		
9	Úlcera traumática	9	No registrado		
10	Úlcera no asociada a trauma				
11	Gingivitis necrotizante aguda				
12	Absceso (especificar origen)				
13	Máculas				
14	No registrado				
15	Herpes Labial				
16	Otro Trastorno (especificar)				

FICHA CLÍNICA FONIS SA13I20113

VIII. ESTOMATITIS PROTÉSICA: (Clasifique según Newton)

Si No

TIPO

- 1. Tipo I
- 2. Tipo II
- 3. Tipo III

UBICACIÓN MAXILAR

- 1. Paladar duro
- 2. Paladar
- 3. Reborde alveolar

UBICACIÓN MANDIBULAR

- 1. Reborde alveolar
- 2. Otra ubicación (especifique):
.....

IX. Uso de prótesis

Tipo de prótesis	Sí		No		Antigüedad de la prótesis (años)	Frecuencia de uso		
	Maxilar	Mandibular	Maxilar	Mandibular		Día	Noche	Social
1. Removible acrílica								
2. Removible metal acrílica								
3. Implanto retenida								

X. Periodonto: enfermedad periodontal (consignar presencia o secuela, observable clínicamente)

1. Gingivitis

Ausente		Localizada		Generalizada	
---------	--	------------	--	--------------	--

2. Periodontitis

Ausente		Localizada		Generalizada	
---------	--	------------	--	--------------	--

Observaciones:

.....

XI. Lesiones de caries: (consignar lesiones de caries)

	Identifique		Actividad de caries
Número de dientes presentes		Inactiva	
Cavitada		Activa	
No cavitada		Observaciones:	

XII. Edentulismo (Clasifique según Kennedy)

Maxilar		Mandíbula	
1. Clase I		4. Clase IV	
2. Clase II		5. Desdentado total	
3. Clase III			

Notas del examinador
