



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLÓGÍA
DEPARTAMENTO DE ODONTOLÓGÍA RESTAURADORA**

“Efecto del consumo de leche con suplementos probióticos en la progresión de lesiones de caries en dientes temporales.”

Begoña Javiera Moreno Fluxá

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

TUTOR PRINCIPAL

Prof. Dr. Gonzalo Rodríguez Martínez

TUTORES ASOCIADOS

Dra. Begoña Ruiz Conrads

**Adscrito a Proyecto FONIS SA11I2035
Santiago - Chile
2015**



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGÍA RESTAURADORA**

“Efecto del consumo de leche con suplementos probióticos en la progresión de lesiones de caries en dientes temporales.”

Begoña Javiera Moreno Fluxá

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

TUTOR PRINCIPAL

Prof. Dr. Gonzalo Rodríguez Martínez

TUTORES ASOCIADOS

Dra. Begoña Ruiz Conrads

**Adscrito a Proyecto FONIS SA11I2035
Santiago - Chile
2015**

Al equipo del proyecto FONIS SA11I2035, al dr. Rodríguez, a la dra. Ruiz y al dr. Cabello por recibirme, apoyarme y guiarme durante el desarrollo del trabajo;

A mi familia, a mi mamá y mi papá por todo, por ser mis amigos, consejeros y ejemplos a seguir; por su amor y apoyo que siempre estuvieron presentes;

A mis incondicionales amigos por estar siempre ahí, en las buenas y en las malas, por las risas y la amistad que crecieron con el paso del tiempo;

A los docentes y funcionarios por guiarme durante mi formación, tanto profesional como personal, e integrarme en esta pequeña comunidad que es la FOUCH;

A los pacientes por entregarme su confianza y creer en mis capacidades;

A TVO y al CEO 2015 por todo el trabajo compartido y aprendizajes en conjunto;

A la Universidad de Chile, por ser la mejor;

Y a todos los que me acompañaron y compartieron conmigo este camino

Gracias totales.

INDICE

RESUMEN	6
MARCO TEÓRICO	7
- Caries dental	7
- Epidemiología	11
- Microbiología	13
- Mecanismos de control de la caries	16
- Probióticos	17
- Relevancia del problema	22
HIPÓTESIS	23
OBJETIVO GENERAL	23
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	23
METODOLOGÍA	24
- Diseño	24
- Aspectos éticos	24
- Muestra	25
- Intervención	26
- Verificación del cumplimiento	27
- Examen clínico	28
- Análisis estadístico	29
RESULTADOS	30
- Características de la muestra	30
- Estado de las superficies	31
- Progresión de las lesiones	32
DISCUSIÓN	36
CONCLUSIONES	39
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
ANEXOS	44

RESUMEN

La caries dental es una enfermedad multifactorial donde interactúan bacterias, conductas dietéticas e higiénicas, condiciones ambientales orales y determinantes sociales, entre otros. Es la enfermedad oral de mayor prevalencia y la principal causa de pérdida dentaria, por lo que su prevención y tratamiento es de gran importancia en el ámbito de la salud pública.

La prevención y control de dicha enfermedad puede ser lograda mediante la reducción de los factores patógenos y/o aumento de los factores protectores. Dentro de estos mecanismos, se ha investigado el uso de los probióticos, microorganismos vivos que al administrarse a un hospedero en cantidades adecuadas, le confieren beneficios a su salud. En el ámbito de la caries dental, han demostrado tener un efecto positivo, disminuyendo la incidencia de lesiones de dicha enfermedad, sin haberse clarificado el mecanismo de acción por el que actúan. El principal probiótico utilizado es el *Lactobacillus* spp. que han sido aislados desde numerosos ambientes siendo considerados parte de la microbiota nativa humana. *Lactobacillus* spp. son mediadores tardíos de la progresión de la lesión de caries debido a sus pobres propiedades de adhesión por lo que no aumentan la incidencia de nuevas lesiones pero poco se sabe sobre el efecto que podrían tener en lesiones preexistentes.

En el presente estudio se realizó un análisis secundario a una base de datos obtenida mediante un ensayo clínico comunitario controlado aleatorizado, triple ciego donde la intervención consistió en suministrar a niños de jardines infantiles leche enriquecida con suplementos probióticos y evaluar la progresión de las lesiones de caries en comparación con el grupo control que no recibió dicho alimento. Las mediciones se realizaron mediante criterio ICDASII.

Los resultados obtenidos no establecen diferencias estadísticamente significativas en la progresión de lesiones de caries entre ambos grupos por lo que se concluye que no existen diferencias significativas en la progresión de lesiones de caries en niños que consumen regularmente leche suplementada con probióticos versus los niños que no consumen probióticos.

MARCO TEÓRICO

CARIES DENTAL

La caries dental es una enfermedad multifactorial que se inicia con cambios microbiológicos en el *biofilm* dental siendo influenciado por la dieta, los hábitos de higiene, el cepillado, capacidad buffer de la saliva y el sistema inmune del hospedero, entre otros (Simón-Soro et al., 2013). Involucra una secuencia dinámica de interacciones entre el diente y el *biofilm* que pueden ocurrir sobre o dentro de la superficie del diente. Este proceso involucra un cambio en el balance entre los factores protectores y los factores de riesgo en favor de la desmineralización de la estructura dentaria a través del tiempo (Fontana et al., 2010). Dicha patología ha sido descrita como una enfermedad crónica de avance lento en la mayoría de los individuos. Es una enfermedad rara vez auto limitada y, sin tratamiento, la caries dental avanza hasta que el diente está totalmente destruido. La progresión de la lesión es representada en una escala lineal que va desde pérdida mineral inicial ultraestructural hasta destrucción total del diente afectado (Takahashi y Nyvad, 2008). Los signos de la desmineralización se observan en los tejidos duros dentarios pero el proceso de la enfermedad se inicia mucho antes, dentro del *biofilm* que recubre las superficies dentarias (Selwitz et al., 2007).

Sobre la etiología de la enfermedad han existido múltiples teorías. Históricamente, se ha postulado que las condiciones del hospedero, los nutrientes y las bacterias, serían los únicos factores influyentes en su desarrollo ya que estas últimas permitirían la producción de ácidos orgánicos y la consecuente desmineralización dentaria. Según dicho modelo, los 3 elementos debían estar presentes para la iniciación y progreso de la enfermedad por lo que la remoción de cualquiera de éstos llevaría a una intercepción del progreso de las caries (Harrison, 2003). Actualmente, la etiología de esta enfermedad resulta mejor explicada a través de un modelo multifactorial, donde la asociación de múltiples características y condiciones del individuo son responsables de la desmineralización dentaria (Fontana et al., 2010). La caries dental se forma a través de una compleja interacción en el tiempo de bacterias acidogénicas y

carbohidratos fermentables, y muchos otros factores del hospedero incluyendo los dientes y la saliva (figura 1) (Selwitz et al., 2007). Se plantea además, que la caries dental es una patología endógena causada por el cambio de la relación simbiótica de mutualismo a parasitismo del ecosistema microbiológico, es decir, son las mismas bacterias orales que se encuentran comúnmente en nuestro organismo, las que comienzan a aprovechar los nutrientes para su beneficio y nuestro perjuicio (Takahashi y Nyvad, 2011).

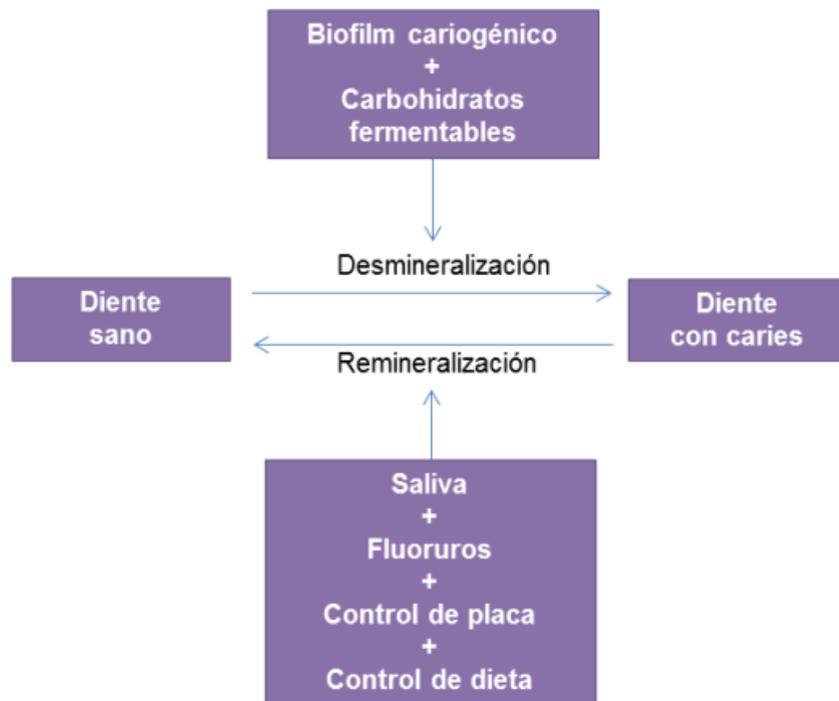


Figura 1: Diagrama del proceso de caries como un flujo regular entre desmineralización y remineralización (Selwitz et al., 2007).

La teoría ecológica de placa es el modelo más aceptado para explicar el origen, proceso y desarrollo de la caries dental. Dicho modelo establece una interacción entre el *biofilm* oral y el ambiente, de tal manera que un ambiente inductor de caries caracterizado por altos niveles de carbohidratos fermentables y mala higiene, predispone a cambios en la composición del *biofilm* en favor de especies microbianas más acidúricas, acidófilas y acidogénicas (Beighton 2009). Dicha teoría establece que el *biofilm* es un ecosistema microbiano dinámico en

que las bacterias con potencial cariogénico son claves para mantener la estabilidad dinámica. La adaptación microbiana a ambientes ácidos y posterior supervivencia de bacterias con potencial cariogénico en ambientes de pH bajo determina la desestabilización de la homeostasis del *biofilm* facilitando el cambio del balance desmineralización/remineralización de “ganancia de mineral” a pérdida de mineral” (Takahashi y Nyvad, 2011). Dentro de los factores de riesgo se incluyen factores físicos, biológicos, ambientales, del comportamiento y de estilo de vida tales como alto conteo de bacterias cariogénicas, flujo salival inadecuado, exposición a fluoruros insuficientes, mala higiene oral, dieta inadecuada y pobreza (Figura 2) (Selwitz et al., 2007).

Esquema de factores determinantes de la caries dental



Figura 2: Interacción a través del tiempo de distintos factores influidos por los determinantes sociales de la salud (Selwitz et al., 2007).

El punto clave en la pérdida del balance está en que solo cuando el resultado acumulativo de la des- y remineralización produce pérdida de mineral en el tiempo, la lesión de caries podría producirse y desarrollarse. Por el contrario, si el resultado es ganancia de mineral se produce aposición mineral en la superficie dentaria y la detención del desarrollo de las lesiones existentes (Takahashi y Nyvad, 2008). Por lo tanto, el proceso puede ser detenido en cualquier momento (Fontana et al., 2010).

Desde un punto de vista bioquímico, el proceso de desarrollo de la caries es más complejo. Procesos metabólicos están constantemente ocurriendo en el *biofilm* como resultado de la actividad microbiana y lo que se refleja en constantes fluctuaciones del pH de la placa (Takahashi y Nyvad, 2008). El proceso de formación de la caries se describe en 3 etapas: inicialmente existe estabilidad dinámica donde predominan bacterias con potencial cariogénico pero donde las condiciones ambientales de pequeñas acidificaciones infrecuentes permiten mantener la ganancia de mineral. Si la dieta es rica en azúcares o el flujo salival es muy escaso para neutralizar la producción de ácidos, la disminución del pH del *biofilm* se vuelve mayor y frecuente, mejorando la acidogenicidad de las bacterias con potencial cariogénico, resultando en el establecimiento de un ambiente más ácido. De mantenerse estas condiciones ambientales en el tiempo, se establece una etapa acidúrica donde aumentan las bacterias cariogénicas y las acidificaciones son prolongadas y severas permitiendo una mayor desmineralización y establecimiento de la patología. La acidificación ambiental es la principal causa de los cambios fenotípicos y genotípicos que ocurren en el *biofilm* durante el proceso de caries (Takahashi y Nyvad, 2011).

EPIDEMOLOGÍA

Las enfermedades bucales son las más comunes de las enfermedades crónicas del ser humano constituyendo un importante problema de salud pública por su alta prevalencia, impacto en los individuos y sociedad y el costo de su tratamiento. Su impacto en la calidad de vida de los individuos se observa en términos de dolor, malestar, limitación y minusvalía social y funcional (Sheiham, 2005; MINSAL 2010).

Dentro de las patologías de mayor carga a nivel mundial, donde se estudian 291 condiciones, la de mayor prevalencia es la caries dental no tratada en dientes permanentes como se observa en la tabla 1 (Marcenes et al., 2013).

Tabla 1: Prevalencia global de condiciones el 2010 (Marcenes et al., 2013).

Ranking	Condición	N° de afectados
1	Caries dental no tratada en dientes permanentes	2.431.636.000
2	Dolor de cabeza tipo tensional	1.431.067.000
3	Migraña	1.012.944.000
4	Enfermedades cutáneas por hongos	985.457.000
5	Otras enfermedades cutáneas y subcutáneas	803.597.000
6	Periodontitis severa	743.187.000
7	Pérdida de audición leve	724.689.000
8	Acné vulgar	646.488.000
9	Dolor lumbar	632.045.000
10	Caries dental no tratada en dientes temporales	621.507.000
36	Pérdida dentaria severa	158.284.000

Además de la patología con la mayor carga, dentro de las condiciones presentes se encuentran la periodontitis severa y la caries dental no tratada en dientes temporales entre las 10 más prevalentes y la pérdida dentaria severa en el lugar 36. Dichas patologías en conjunto afectan a 3.954.614 personas.

La caries dental se presenta en toda la población iniciándose en los primeros años de vida y presentando un importante incremento con la edad. En nuestro país, la prevalencia varía de 16,8% a los 2 años hasta casi el 100% en la población adulta. La severidad, medida mediante el número de dientes afectados, también incrementa conforme se envejece: en los primeros años con un ceod (índice que mide el número de caries en piezas dentales temporales, representa la sumatoria de piezas temporales cariadas, extraídas y obturadas (WHO, 2013)) de 0,53 debido principalmente a piezas afectadas por lesiones de caries y un COPD (índice que mide el número de caries en piezas permanentes, representa la sumatoria de piezas permanentes Cariadas, Obturadas y Perdidas (WHO, 2013)) de 0,5 a los 6 años hasta 19,7 en la población adulta, siendo la principal causa de pérdida de dientes y ratificando el alto daño que existe en la población (MINSAL 2011). El difícil acceso a la atención dental, disponibilidad inadecuada de medidas preventivas, como fluoración suplementaria y sellantes dentarios, y el bajo conocimiento de la importancia de la salud oral son factores contribuyentes para el daño a la salud oral en personas jóvenes (Kagihara et al., 2009).

MICROBIOLOGÍA

El *biofilm* oral está compuesto por gran número de especies bacterianas y, cada una de éstas, por múltiples cepas con diferencias fenotípicas y genotípicas. Toda esta diversidad es desconocida y vuelve muy complejo el estudio del *biofilm* (Beighton, 2009). El *biofilm* oral se caracteriza por adherirse a las superficies, heterogenicidad estructural, interacciones interespecies complejas y tener una matriz polimérica extracelular, lo que genera un ambiente totalmente diferente al que lo rodea. Una de sus características más importantes es que las bacterias orales que crecen dentro de él, frecuentemente expresan fenotipos diferentes a las de su forma planctónica (Hojo et al., 2009). La presencia de bacterias y de carbohidratos fermentables como glucosa, sacarosa y fructosa en los dientes permite la producción de sustancias ácidas cuyos protones disuelven los cristales de hidroxiapatita del esmalte, dentina y cemento. La desmineralización continua provoca la cavitación dentaria del esmalte y al progresar llega a la capa de mayor contenido orgánico, la dentina, aumentando la velocidad de la destrucción (Kagihara et al., 2009).

Dentro de las bacterias presentes en el *biofilm* oral se pueden encontrar *Streptococcus*, *Actinomyces*, *Haemophilus*, *Neisseria*, *Veillonella*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y muchas otras que poseen diferentes potenciales cariogénicos dependiendo de su capacidad de fermentación de azúcares y formación de ácidos. (Marsh, 1994).

Muchas investigaciones han identificado a *S. mutans* como el mayor patógeno de la caries dental. Esto debido a que son frecuentemente aislados de lesiones de caries y poseen las características propias de una bacteria cariogénica. Sin embargo, estudios han demostrado que *S. mutans* no está necesariamente relacionado con los *biofilms* asociados a caries, especialmente en etapas no cavitadas. Dentro de los colonizadores iniciales se encuentran principalmente *S. sanguis*, *S. oralis*, *S. mitis* y *Actinomyces*, con baja cantidad de *S. mutans*, por lo que en ausencia de éste y de *Lactobacillus* son los colonizadores tempranos los que inician la desmineralización (Takahashi y Nyvad,

2011). Estas especies aparecen en la cavidad oral generalmente después de la erupción dentaria y se convierten en habitantes habituales de ella (Hojo et al., 2009).

Cuando las condiciones empeoran y la lesión progresa, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y *S. mutans* aumentan su presencia, demostrando que la existencia de microbiota bacteriana en los dientes varía de acuerdo a la evolución de la lesión de un dominio de *Streptococcus* no-mutans y *Actinomyces* al dominio de *S. mutans* y otras bacterias potencialmente cariogénicas (Takahashi y Nyvad, 2011). La caries dental aparece como un proceso de 2 etapas en la cual interviene una sucesión de microorganismos donde la lesión en esmalte está dominada por organismos acidogénicos que fermentan los carbohidratos generando la desmineralización. Luego de lo cual, al alcanzar la dentina, la comunidad cambia significativamente y es predominantemente proteolítica (Simón-Soro et al., 2013).

De esta forma, se ha demostrado que la composición bacteriana varía según el tejido afectado ya que muestras de *biofilm* del esmalte sano presentan alta diversidad bacteriana mientras que las lesiones de mancha blanca presentan el menor dentro de las muestras de caries, junto a las muestras de dentina y de dentina profunda. La mayor diversidad microbiana del *biofilm* del esmalte, sugiere que las bacterias de ambientes cariogénicos son un pequeño grupo dentro de la comunidad bacteriana y que las cavidades representan nichos que sólo bacterias especializadas son capaces de colonizar. El hecho de que la menor diversidad se encuentre en las lesiones del esmalte indica que es el nicho más riguroso, sugiriendo que el ambiente ácido probablemente actúa reduciendo el número de especies capaces de prosperar en las caries del esmalte (Simón-Soro et al., 2013).

En caries dentinarias, *Streptococcus* y *Prevotella* aumentan en proporción mientras *Neisseria* y *Fusobacterium* disminuyen significativamente su número. *Lactobacillus*, que han sido asociados a caries dental debido a su potencial acidogénico, solo aparecen en caries dentinarias profundas (Figura 3) (Simón-Soro et al., 2013). *Lactobacillus* spp., conocidos comúnmente como lactobacilos, son mediadores tardíos de la progresión de la lesión de caries debido a sus pobres

propiedades de adhesión, sitios retentivos y las cavidades son prerequisites para su colonización y posterior producción de ácidos (Simark-Mattsson et al., 2007). Aparecen durante el primer año y están presentes en gran número en la saliva, dorso lingual, mucosas, paladar duro y, en menor número, en el *biofilm* dentario. La presencia de lactobacilos en la cavidad oral depende de numerosos factores como la presencia de los nichos necesarios, como anfractuosidades anatómicas o aparatos ortodóncicos, para su desarrollo. Si bien su presencia ha sido identificada, no se ha determinado que especie es la asociada a las lesiones de caries, lo que permite pensar que no todas son dañinas (Badet y Thebaud, 2008).

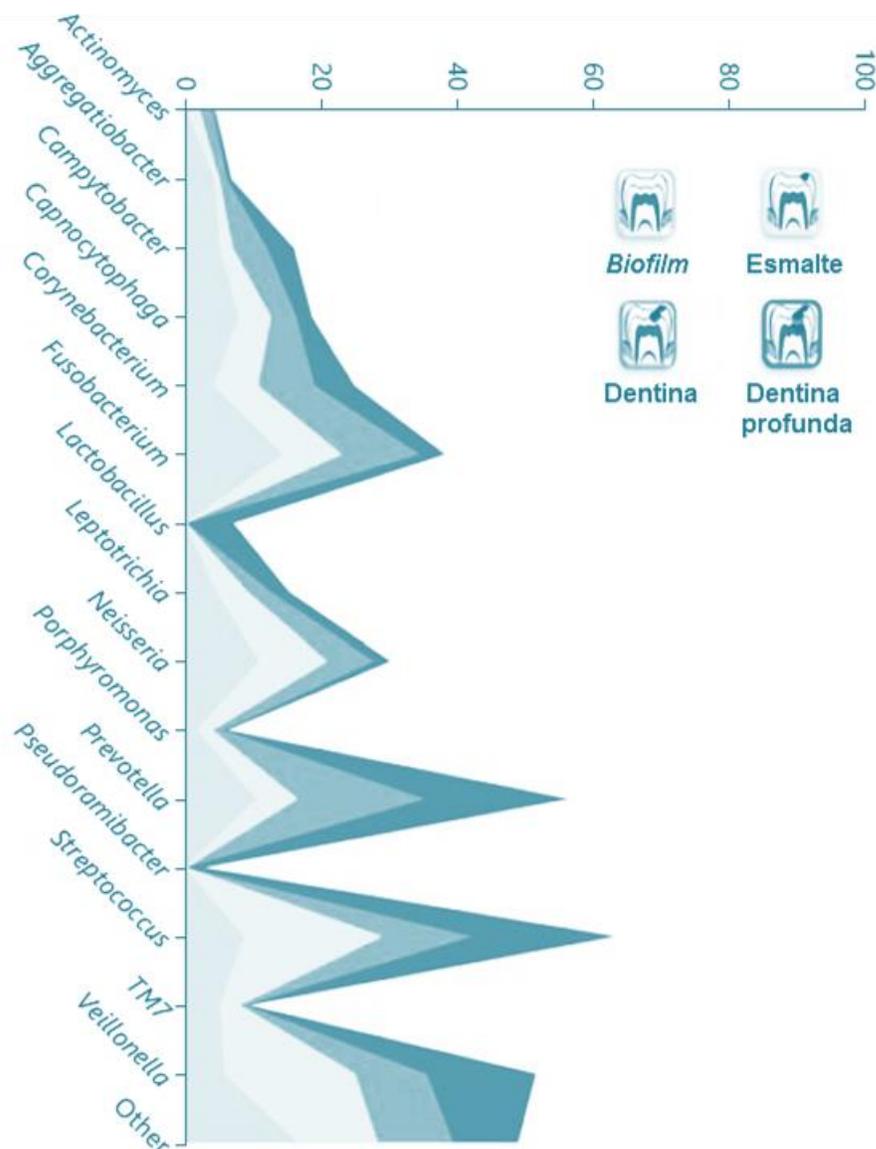


Figura 3: Composición bacteriana del *biofilm* según la profundidad de las lesiones de caries (Simón-Soro et al., 2013).

MECANISMOS DE CONTROL DE LA CARIES

Frente a todo lo anteriormente señalado, existen diversas estrategias para disminuir o detener la progresión de la caries dental: la remoción del *biofilm*, el uso de fluoruros, uso de sustitutos del azúcar, uso de estimulantes del flujo salival, agentes antimicrobianos, terapias de reemplazo, etc. Estas últimas, también conocidas como estrategias de interferencia bacteriana, son medidas que permiten a ciertos miembros del ecosistema inhibir el crecimiento bacteriano de otras especies, mejorando las condiciones del *biofilm*. Dentro de dichas estrategias se describe la interferencia bacteriana o colonización preventiva, donde se introduce un nuevo miembro al ecosistema que impedirá la colonización y crecimiento de un organismo patógeno en el mismo nicho, y la terapia de reemplazo o desplazamiento competitivo, donde se introduce un organismo antagonista a otro patógeno pre-existente con el fin de controlar el desarrollo de este último. Estos acercamientos tienen la potencial ventaja de dar protección de por vida con costos mínimos y cumplimiento total de parte del hospedero una vez que la colonización de las cepas efectoras fue realizada (Marsh et al., 1994). Frente a ambos mecanismos de acción, estudios *in vitro* han demostrado que la colonización previa es más eficiente que el desplazamiento competitivo (Haukioja et al., 2008).

El concepto de cambio microbiano como mecanismo para prevenir cambios a nivel oral es importante. La bacterioterapia o control biológico del *biofilm* es un alternativo y prometedor rumbo para combatir infecciones usando bacterias inofensivas para desplazar microorganismos patogénicos. La modificación benéfica del *biofilm* oral puede incluir remoción o sustitución de los elementos que conducen a la caries dental. Alternativamente a los cambios dietarios, se pueden realizar terapias específicamente dirigidas o no como probióticos y biocidas incluidos la clorhexidina o productos de origen vegetal (Beighton, 2009).

PROBIÓTICOS

Un probiótico es, según la Organización Mundial de la Salud, un microorganismo vivo que cuando es administrado a un hospedero en cantidades adecuadas, le confiere beneficios a su salud (WHO/FAO, 2002). Es un suplemento microbiano que afecta beneficiosamente al hospedero mejorando su equilibrio (He et al., 2009). El principio básico que sustenta el uso de probióticos radica en la implantación de una cepa, no patógena, en la microbiota del hospedero permitiendo mantener o restaurar el microbioma natural al interferir o inhibir a otros microorganismos, especialmente aquellos patógenos (Twetman y Keller, 2012).

Los probióticos ejercen una gran cantidad de efectos benéficos en el ser humano, desde un antagonismo directo contra patógenos, hasta influir en el epitelio intestinal y sistema inmune del hospedero (Caglar et al. 2005). En la actualidad, la evidencia sugiere que los probióticos se pueden aplicar al control de la caries dental (He et al., 2009, Tanzer et al., 2010).

La mayoría de los estudios de intervención con probióticos para prevenir caries utilizan cepas bacterianas que comúnmente se utilizan para la prevención de patologías gastrointestinales. Esta línea de investigación se ha concentrado principalmente en las potenciales utilidades de cepas de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* en la dieta (Haukioja et al., 2008). *Lactobacillus* spp. han sido aislados desde una amplia variedad de ambientes, incluyendo productos lácteos fermentados, el tracto gastrointestinal y reproductivo de humanos y animales, y otros diversos hábitats. Aquellos aislados desde el tracto gastrointestinal o vagina son considerados miembros de la microbiota nativa, confiriendo efectos benéficos para el hospedero. Todas estas características junto a su extensiva utilidad industrial han hecho de *Lactobacillus* un organismo de interés en su uso como probiótico, siendo incorporado en muchas comidas lácteas diarias, así como usados en el tratamiento de enfermedades relacionadas al tracto gastrointestinal (Ouweland et al., 2002; Tsai et al., 2012).

Ciertas bacterias utilizadas como probióticos se caracterizan por inhibir el

crecimiento de bacterias orales específicas, como *P. gingivalis* y *S. mutans* (Shimada et al., 2015). Las cepas mayormente utilizadas como probióticos incluyen *L. rhamnosus* GG, *L. rhamnosus* LB21, *L. reuteri*, *L. paracasei*, *L. brevis* CD2 y *Bifidobacterium* spp., entre otros (Cagetti et al., 2013).

Lactobacillus son bacterias productoras de ácido y por ello, comúnmente asociadas con dentina cariada y el frente de avance de las lesiones de caries más que con el inicio del proceso en sí (Takahashi y Nyvad, 2011). Sin embargo, varias especies de *Lactobacillus* se han encontrado en cavidades orales sanas, aunque ninguna especie fue específicamente de la boca de individuos sanos (Caglar et al., 2005). Si bien, las bacterias del género *Lactobacillus* podrían encontrarse asociadas a la progresión de la caries dental en sus diferentes etapas, ciertas cepas de dicho género contribuyen de forma positiva a la salud del hospedero (Shimada et al., 2015). *L. rhamnosus* GG pertenece a los *Lactobacillus* homofermentativos, es decir, no puede fermentar sacarosa ni lactosa por lo que no aporta al desarrollo de la desmineralización y podría, por lo tanto, ser segura para los dientes (Näse et al., 2001). Mientras que sujetos sin experiencia de caries podrían privilegiarse con la presencia de lactobacilos con potencial efecto supresor de microorganismos cariogénicos (Badet y Thebaud, 2008).

Los probióticos pueden ser distribuidos contenidos en productos de diferentes formas (Caglar et al., 2005):

- Cultivo concentrado añadido a una bebida o comida
- Inoculado a fibras prebióticas
- Inoculado a alimentos lácteos como leche, yogurt y queso
- Concentrado de células deshidratadas y empaquetadas en suplementos alimenticios

El vehículo mediante el cual los probióticos son incorporados a la cavidad oral puede influir en el potencial cariogénico y la colonización de los probióticos. La forma más común en que *Lactobacillus* spp. es incorporado a la dieta es mediante productos lácteos como leche, yogurt y queso, afortunadamente ya que esto simplifica su consumo por parte del hospedero (Teughels et al., 2008).

Aunque la colonización oral de *Lactobacillus* spp. ha sido descrita como un fenómeno transitorio (Caglar et al., 2009; Saxelin et al., 2010; Hasslöf et al., 2013) se ha cuestionado si la exposición a edades tempranas podría facilitar una incorporación permanente a la microbiota oral (Meurman et al., 2005; Hasslöf et al., 2013)

Incluso sin colonización permanente, se ha comprobado que el consumo repetido de productos que contienen probióticos durante un período prolongado de tiempo disminuye el incremento en el nivel de bacterias productoras de ácido láctico. Sin embargo, hay que considerar que los productores de alimentos con probióticos, algunas veces, adicionan grandes cantidades de azúcar a sus productos para mejorar el sabor lo cual puede llevar a que aumenten el riesgo a la salud oral (Teughels et al., 2008).

En cuanto a su efecto en la caries, existen 6 publicaciones que han estudiado el uso de probióticos en dentición temporal evaluando el desarrollo de caries dental (Hasslöf et al., 2013; Näse et al., 2001; Stecksén-Blicks et al., 2009; Stensson et al., 2014; Taipale et al., 2013; Vistoso et al., 2013). Dichos estudios han entregado resultados dispares: Näse ha demostrado la disminución de la incidencia de caries dental en niños luego de 7 meses de consumo de leche enriquecida con *L. rhamnosus* GG (Näse et al., 2001); mismo resultado fue obtenido por Stecksén-Blicks luego de 21 meses de administración de leche suplementada con *L. rhamnosus* LB21 y fluoruro (Stecksén-Blicks et al., 2009); Stensson, entregando suplementos orales con *L. reuteri* a mujeres embarazadas y sus hijos durante el primer año de vida, demostró disminución de la prevalencia de caries y gingivitis a los 9 años de control (Stensson et al., 2014); y Vistoso, que administrando leche suplementada con *L. rhamnosus* SP1 durante 10 meses a niños de entre 2 y 4 años, demostró una disminución significativa en la incidencia de nuevas lesiones de caries (Vistoso et al., 2013). En contra parte, Hasslöf y Taipale no encontraron diferencias en sus estudios en el desarrollo de caries dentarias ni en los conteos microbianos de bacterias asociadas (Hasslöf et al., 2013; Taipale et al., 2013). Si bien la evidencia no es concluyente, queda demostrada la falta de estudios clínicos respecto este tema.

Los potenciales mecanismos de acción de los probióticos contra bacterias patógenas son (Koll-Klais, 2005):

- Coagregación e inhibición del crecimiento
- Producción de bacteriocina y peróxido de hidrógeno
- Exclusión competitiva a través de actividad antagónica sobre la adhesión
- Inmunomodulación

Producto del consumo de estos microorganismos, el sistema inmune podría ser más eficiente en controlar infecciones: ensayos sobre interacciones de las bacterias comensales y probióticos han dado como resultado una disminución de la expresión de genes vinculados a las vías de señalización inflamatorias, mientras que genes anti-inflamatorios son regulados positivamente (O'Hara et al., 2006; Oksaharju et al., 2011; Van Baarlen et al., 2011). En seres humanos existe un amplio número de estudios de probióticos utilizados en inmunomodulación en infantes, adultos y tercera edad, siendo *Lactobacillus* spp. los más utilizados (Ouwehand et al., 2002; et al., 2012).

Considerando un efecto tópico, los microorganismos benéficos pueden habitar en el *biofilm* y proteger los tejidos orales de las enfermedades mediante la mantención de microorganismos patógenos fuera del hábitat, es decir los probióticos se encargan de ocupar el espacio que de otra forma estaría ocupado por bacterias potencialmente dañinas. Así, los probióticos deberían adherirse a los tejidos dentales para establecer su efecto cariostático y en consecuencia, ser parte del *biofilm* para competir contra las bacterias cariogénicas (Caglar et al., 2005). Otro mecanismo de acción propuesto, es mediante la capacidad buffer de aquellos probióticos administrados en vehículos lácteos ya que compuestos como calcio y fosfato permitirían la neutralización de ácidos producidos por las bacterias, interfiriendo así en la progresión de la caries. Además, el calcio, lactato de calcio y otros compuestos orgánicos e inorgánicos contenidos en la leche (quesos, yogurt, bebidas lácteas) son anticariogénicos y reducen la colonización de patógenos (Teughels et al., 2008). Es probable que para conseguir dichos efectos, el probiótico deba instalarse de manera permanente en la cavidad oral. Se ha

postulado que deberían adherirse a los tejidos dentarios para establecer sus efectos cariostáticos ya que si el tiempo de contacto entre el probiótico y el *biofilm* es reducido, la actividad sería débil. Esta actividad aumentaría si el probiótico puede instalarse en el ambiente oral por un período de tiempo mayor. En este punto, sería importante la determinación del vehículo ideal (Caglar et al., 2005). Dicha manipulación del *biofilm* ha demostrado disminuir las cepas bacterianas patógenas disminuyendo la incidencia de nuevas lesiones de caries permitiendo la mantención de la salud oral (Vistoso et al., 2013).

Estudios *in vitro* han demostrado que cepas de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* usadas en productos lácteos pueden afectar la ecología oral, específicamente previniendo la adhesión de otras bacterias y modificando la composición de las proteínas de la película salival. Más aún, la leche fermentada con *L. rhamnosus* GG previene la adhesión *in vitro* de *S. mutans* (Haukioja et al., 2008).

Hasta hoy, es cuestionable establecer si los probióticos pueden o no colonizar la cavidad oral. Estudios han demostrado que el consumo regular de lácteos que contienen probióticos disminuyen el número de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* salivales, sin embargo, no tienen actividad antibacteriana residual luego de su discontinuación. Esto demuestra que el consumo debe ser constante y mantenido en el tiempo, de manera que el efecto benéfico sea provechoso para el hospedero (Caglar et al., 2005).

Considerando los efectos benéficos del consumo de probióticos, esta terapia podría servir como complemento a las ya existentes en el terreno del tratamiento de la caries dental.

RELEVANCIA DEL PROBLEMA

Siendo la caries un importante problema de salud pública debido a su prevalencia y severidad en la población y, por ser la principal causa de pérdida dentaria en nuestro país, se hace necesario encontrar herramientas terapéuticas con las menores reacciones adversas posibles para asegurar el confort del paciente durante la terapia y el éxito del tratamiento.

La terapia probiótica ofrece oportunidades para manipular el *biofilm* oral permitiendo disminuir las cepas bacterianas patógenas y aumentar las benéficas; se ha demostrado que el consumo continuo de probióticos disminuye la incidencia de nuevas lesiones de caries permitiendo la mantención de la salud oral (Vistoso et al., 2013).

Sin embargo, poco se sabe sobre su efecto en la progresión de las lesiones pre-existentes y, siendo *Lactobacillus* una bacteria acidogénica asociada al frente de avance de las lesiones de caries, se podría dudar del efecto benéfico que ejercen sobre éstas: ¿podrá *Lactobacilo*, dadas sus propiedades, provocar un aumento en la progresión de las lesiones de caries?.

El presente estudio, un análisis secundario de una base de datos existente, intentará demostrar el aporte del uso continuo de los probióticos en la detención de la progresión de las lesiones de caries, como un complemento al control y terapia de la enfermedad de caries.

HIPÓTESIS

No existen diferencias significativas en la progresión de lesiones de caries en niños de 2 a 3 años que consumen regularmente leche suplementada con probióticos lactobacilos versus niños que consumen leche sin probióticos.

OBJETIVO GENERAL

Determinar si existen diferencias en la progresión de lesiones de caries en niños de 2 a 3 años que consumen regularmente leche suplementada con probióticos lactobacilos versus niños que consumen leche sin probióticos.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar la progresión de lesiones de caries en niños de 2 a 3 años que consumen regularmente leche suplementada con probióticos lactobacilos.
2. Determinar la progresión de lesiones de caries en niños de 2 a 3 años que consumen regularmente leche sin probióticos.
3. Comparar la progresión de lesiones de caries entre ambos grupos de estudio.

METODOLOGÍA

DISEÑO

Este estudio corresponde a un análisis secundario realizado a una base de datos obtenida mediante un ensayo clínico comunitario controlado aleatorizado por conglomerados (clusters), triple ciego. Estudio prospectivo. El objetivo del estudio primario fue evaluar el efecto del consumo diario de leche enriquecida con probióticos *Lactobacillus* y sin probióticos, en la incidencia de lesiones de caries y en el recuento de carga bacteriana, en niños preescolares en 10 y 14 meses de seguimiento.

Se realizó aleatorización por conglomerados (por curso) en los jardines infantiles, de manera que la totalidad de alumnos en cada curso consumió la bebida experimental o bien, el placebo, minimizando así la posibilidad de equivocaciones entre individuos. Los diferentes jardines infantiles de la Fundación Integra del área Norponiente de la Región Metropolitana, fueron asignados de manera aleatoria a los grupos de intervención o control, mediante sorteo de números aleatorios utilizando la función aleatoria del software Microsoft Excel. Dichos jardines dependen de una misma entidad organizativa (Fundación Integra) y pertenecen a comunidades de nivel socio económico medio-bajo. Por lo que, aún cuando están ubicados en distintas comunas, presentan características homogéneas en cuanto a alimentación y hábitos.

ASPECTOS ÉTICOS

Este proyecto se rige por los principios de la Declaración de Helsinki, se encuentra dentro del marco legal que regula a los ensayos clínicos en Chile y cuenta con la aprobación del comité de ética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile (ACTA N° 2011/13), (Anexo 1).

Este proyecto está adscrito al clinical trial NCT01648075 (www.clinicaltrials.gov).

Se solicitó la firma de un documento de consentimiento informado a los padres y apoderados de los jardines seleccionados, de manera que a los preescolares se les permitió participar de manera voluntaria e informada, destacando el carácter confidencial de los resultados obtenidos, (Anexo 2). Aquellos niños diagnosticados con caries cavitadas antes del inicio de la intervención y que precisaron tratamiento restaurador, fueron derivados a atención clínica a la red de salud correspondiente.

A los jardines infantiles en los que se realizó la intervención, se les benefició mediante la entrega de un *kit* de salud dental a cada niño participante (pasta y cepillo).

MUESTRA

Población objetivo: Preescolares de 2 a 3 años, género femenino y masculino, que asistían a 16 establecimientos educacionales pertenecientes a la fundación Integra del Área Norponiente de la Región Metropolitana (comunas de: Colina, Lampa, Independencia, Recoleta, Conchalí y Renca).

Muestra: El tamaño muestral fue calculado considerando encontrar una diferencia de 1,2 unidades en lesiones ICDASII 5-6, bajo un intervalo de confianza de 95% (DE: 2,8, un 20% de sobre muestreo ante posibles pérdidas de seguimiento y poder estadístico de 80% (power o beta) y con un coeficiente intra clase (ICC) de 0,01, considerando que no existen antecedentes de ICC para incidencia de caries dental en esta población de estudio y la imposibilidad de realizar un estudio piloto debido al tiempo necesario y el costo asociado. Se determinó un coeficiente intracluster de 0,01, ya que se asumió que las diferencias en cuanto a expresión de las variables entre los distintos clusters es mínima. Un total de 16 clusters de 15 niños y/o niñas (8 clusters por grupo) fueron incluidos en el estudio,

considerando que en promedio el número de alumnos de los cursos de INTEGRA oscila entre 15 y 20. Finalmente fueron intervenidos 261 niños en total. Este tamaño de muestra fue calculado mediante el software STATA 11.

INTERVENCIÓN

Los niños participantes recibieron 150 ml de leche en polvo parcialmente descremada al 12% (Macro Food S.A, Santiago, Chile) la que fue preparada mediante un proceso de reconstitución con agua tibia. Si pertenecían al grupo experimental, ésta contenía 10^7 UFC/ml de *Lactobacillus rhamnosus* SP1 (Sacco, S.R.L, Italia), por el contrario, si pertenecían al grupo de control, no recibieron el probiótico descrito. Ambas leches fueron consumidas en las tardes, durante la jornada escolar, exclusivamente durante los 5 días de la semana y no durante los fines de semana, feriados o periodos de vacaciones.

La leche mencionada corresponde a la que los niños consumen diariamente en los jardines infantiles de acuerdo a las normas de alimentación de la JUNAEB y fue suministrada por el mismo fabricante (Macro Food S.A). (Ingredientes: Leche descremada, leche entera (26% materia grasa) y fosfato tricálcico. Producto elaborado en líneas que también procesan: Avena, Trigo, Huevos, Soya, Almendras y Sulfitos). Ambos productos tendrán las mismas características organolépticas para evitar el sesgo de selección.

La preparación de la leche fue realizada por las manipuladoras de alimentos en cada uno de los jardines infantiles donde se realizó la intervención. Ellas fueron especialmente entrenadas al inicio del estudio de acuerdo a las instrucciones del fabricante y pudieron consultar con el encargado del trabajo de campo en caso de presentar dudas. Cabe destacar que las manipuladoras de alimentos forman parte del personal de planta de dichos establecimientos educacionales y quedaron a cargo de la preparación del producto sin embargo, el encargado del trabajo de campo veló regularmente porque esta tarea se efectuase de acuerdo a las especificaciones necesarias.

La preparación de la leche consistía en hervir 5 litros de agua, luego bajar la temperatura usando un batidor hasta los 50°C, en este momento agregar la leche en polvo (envase de 500 g), agitar hasta lograr 40°C, donde las temperaturas debían ser registradas con termómetros. Posteriormente incorporar un sobre que está contenido en el mismo envase, que en el caso del grupo experimental contiene el probiótico, y en el caso del grupo control contiene leche. La leche fue adquirida por el grupo investigador y entregada a los jardines infantiles regularmente (a través de la gestión del coordinador de trabajo de campo), monitoreando la oportuna distribución y el adecuado almacenamiento.

El ensayo clínico contó con la supervisión de un médico especializado en medicina familiar que estuvo encargado de monitorizar las reacciones adversas que pudieran presentarse en los niños y proveer información a los familiares y tratamiento en caso de ser necesario.

Se realizó seguimiento durante 14 meses, con controles a los 10 meses y 14 meses.

VERIFICACIÓN DEL CUMPLIMIENTO

Se instruyó a las educadoras para el monitoreo del consumo de leche por parte de los niños. Para ello, se mantuvo un libro de registro en cada centro educacional en donde se consignó la información respecto de la asistencia del niño al establecimiento, su ausencia debido a enfermedad, y sobre el cumplimiento del consumo diario de la leche. El libro fue utilizado para valorar la adherencia a la intervención. Independiente del porcentaje de asistencia al jardín, los niños permanecieron en el estudio durante los 14 meses, pero dicha información fue usada al momento de realizar el análisis de los datos.

EXAMEN CLÍNICO

Se realizó un examen clínico al inicio (basal), a los 10 meses y, una vez finalizada la intervención, a los 14 meses de seguimiento del estudio, a partir del cual se recolectaron los datos de incidencia y evolución de caries.

2 equipos de odontólogos clínicos con experiencia y previamente calibrados (intra e interexaminador) en la detección de lesiones caries examinaron a los niños en los jardines infantiles correspondientes y registraron la historia de caries de acuerdo a los criterios ICDAS II (Ismail *et al.*, 2007; Shivakumar *et al.*, 2009) (Anexo 3). Para tales efectos, se utilizó una linterna con luz artificial LED, instrumental de examen esterilizado (espejo, sonda CPITN de la OMS), gasa, guantes desechables, mascarilla, alcohol-gel.

El criterio ICDAS, a través del que fue registrado el historial de caries, es el Sistema Internacional de Detección y Evaluación de Caries que permite una detección de caries clara y fácil de usar, definiendo mediante una escala numérica: el estado de restauración del diente y el estado de evolución de la caries dental (tabla 2) (Ismail *et al.*, 2007).

Tabla 2: Clasificación del estado de la caries según ICDASII (Ismail *et al.*, 2007).

Código ICDASII	Estado clínico de la caries dental
0	Sano
1	Opacidad blanca en diente seco
2	Opacidad blanca en diente húmedo
3	Cavidad en esmalte, sin compromiso dentinario
4	Sombra subyacente de dentina
5	Cavidad en dentina
6	Cavidad en dentina extensa

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos fueron codificados e ingresados a una base de datos por un sólo operador en archivo Excel Office para Windows. Luego se traspasaron al programa STATA versión 11 para ser sometidos a análisis estadístico. En una primera fase, se desarrolló un análisis descriptivo de los datos.

Ya que las mediciones clínicas se realizaron 3 veces durante el seguimiento, se definieron 3 outcomes:

- Outcome 1: recorrido de basal a 10 meses
- Outcome 2: recorrido de basal a 14 meses
- Outcome 3: recorrido de 10 a 14 meses

Recorrido se define como la evolución que sufre la superficie dentaria en análisis entre el examen clínico de un tiempo y otro. Puede observarse la aparición de una lesión o el progreso de una lesión pre-existente.

La detección de caries fue registrada mediante los criterios ICDASII del 0 al 6 sin considerar el criterio ICDAS 1 ya que se necesita que las superficies estén secas y las condiciones de campo del estudio no lo permitieron. Además de lo anterior, para facilitar el análisis de la muestra, el estado obturado se consignó aparte.

A partir de lo anterior, se definieron las superficies participantes en cada intervalo y, a partir de ahí, la progresión de las lesiones. Se consideró progresión de lesión aquellas superficies que pasaron de un estado ICDAS a otro es decir de Estado Sano a Lesión de Caries u Obturación y, de Estado de Lesión No Cavitada que progresen a Lesión Cavitada u Obturación.

A partir de todo lo anteriormente señalado, se analizó el porcentaje de superficies totales que evolucionaron.

RESULTADOS

Características de la muestra

El total de la muestra está compuesto por 22.968 superficies dentarias correspondientes a 261 individuos de entre 2 y 3 años que asistían a los jardines de la Fundación Integra de la zona Norponiente de la Región Metropolitana.

Del total de niños examinados 134 (51,34%) fueron mujeres y 127 (48,66%) fueron hombres, la diferencia de frecuencia entre ambos grupos no es estadísticamente significativa. El promedio de edad de la muestra es de 2,9 años y varió entre 1 año y 10 meses y 3 años y 9 meses. En cuanto a la intervención realizada, 150 (57,47%) individuos pertenecieron al grupo probiótico y 111 (42,52%) al grupo control.

Las 22.968 superficies dentarias pertenecientes al análisis se dividieron en 3 grupos según el *outcome* en que estuvieron presentes:

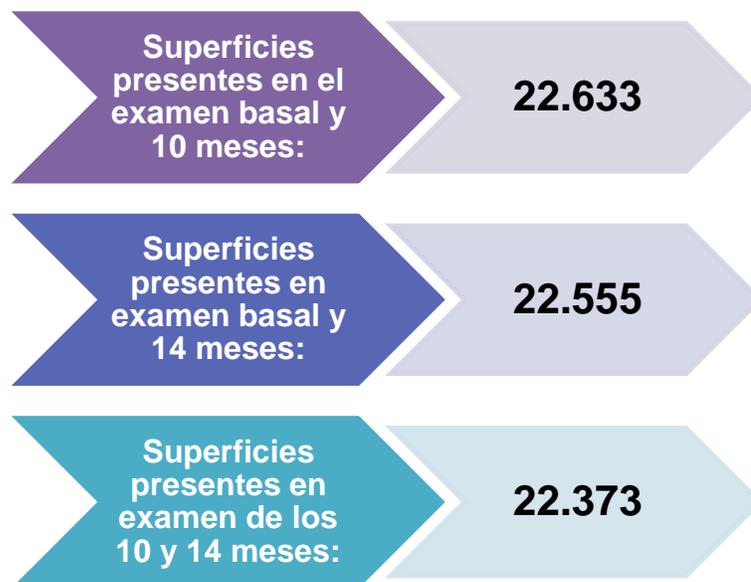


Figura 4: superficies presentes en los distintos *outcomes* definidos.

Dicha división es de importancia porque determina que no todas las superficies serán analizadas en los 3 recorridos, sino que van cambiando según su presencia en los distintos exámenes.

Estado de las superficies

Al observar el estado de las superficies existían mayoritariamente superficies sanas con baja presencia de superficies afectadas, independiente del tiempo en que se realizó la detección de caries (tabla 3).

Tabla 3: Porcentaje de superficies en cada estado ICDASII en los distintos tiempos de examen clínico

<i>Código ICDAS</i>	<i>Superficies en basal</i>	<i>Superficies en 10 meses</i>	<i>Superficies en 14 meses</i>
0	97,4%	94,8%	95,56%
2	0,9%	1,9%	1,01%
3	0,3%	0,8%	0,7%
4	0,06%	0,07%	0,1%
5	0,8%	1,5%	1,51%
6	0,2%	0,4%	0,6%
obturado	0,05%	0,2%	0,3%

Progresión de las lesiones

En cuanto al progreso que presentan las superficies dentarias es similar en los 3 intervalos de tiempo analizado: la gran mayoría no avanzó de un estado ICDAS a otro durante los recorridos; la mayor progresión encontrada fue de un recorrido de 2 estados ICDAS; mientras que el menor progreso es de sano a obturado (tabla 4).

Tabla 4: Progresión del estado ICDASII durante los 3 intervalos de tiempo

<i>Diferencia entre estados ICDAS</i>	<i>Recorrido entre basal y 10 meses</i>	<i>Recorrido entre basal y 14 meses</i>	<i>Recorrido entre 10 y 14 meses</i>
0	96,8%	97,6%	98,1%
1	0,2%	0,1%	0,2%
2	1,3%	0,5%	0,5%
3	0,5%	0,4%	0,2%
4	0,07%	0,1%	0,09%
5	0,6%	0,6%	0,3%
6	0,1%	0,1%	0,2%
sano-obturado	0,09%	0,1%	0,05%

Al observar el progreso de las lesiones en relación al sexo de los individuos se encontró una distribución similar de la progresión de las superficies dentarias observadas (tabla 5).

Tabla 5: Porcentaje de superficies que avanzaron en el estado ICDASII durante los 3 intervalos de tiempo comparando sexo de los individuos

<i>Diferencia entre estados ICDAS</i>	<i>Recorrido entre basal y 10 meses</i>		<i>Recorrido entre basal y 14 meses</i>		<i>Recorrido entre 10 y 14 meses</i>	
	Hombres	Mujeres	Hombres	Mujeres	Hombres	Mujeres
0	96,9%	96,6%	97,5%	97,7%	98,1%	98,2%
1	0,2%	0,3%	0,1%	0,1%	0,3%	0,2%
2	1,4%	1,2%	0,4%	0,6%	0,5%	0,5%
3	0,5%	0,4%	0,5%	0,3%	0,3%	0,2%
4	0,06%	0,08%	0,07%	0,1%	0,05%	0,1%
5	0,6%	0,7%	0,8%	0,5%	0,3%	0,2%
6	0,04%%	0,3%	0,1%	0,2%	0,1%	0,2%
sano-obturado	0,08%	0,1%	0,06%	0,1%	0,04%	0,05%

Al observar el porcentaje de superficies que progresaron en relación al grupo al que pertenecían los individuos se encontraron diferencias: si bien inicialmente el grupo probiótico muestra una mayor variación, es el grupo control el que a lo largo del tiempo logra un mayor progreso de la lesión (tabla 6).

Tabla 6: Porcentaje de superficies que avanzaron en el estado ICDASII durante los 3 intervalos de tiempo comparando grupo probiótico y grupo control

<i>Diferencia entre estados ICDAS</i>	<i>Recorrido entre basal y 10 meses</i>		<i>Recorrido entre basal y 14 meses</i>		<i>Recorrido entre 10 y 14 meses</i>	
	Probiótico	Control	Probiótico	Control	Probiótico	Control
0	96,5%	97,2%	98%	97,2%	98,6%	97,6%%
1	0,3%	0,1%	0,1%	0,2%	0,2%	0,3%
2	1,3%	1,3%	0,5%	0,5%	0,4%	0,7%
3	0,6%	0,3%	0,4%	0,5%	0,2%	0,3%
4	0,08%	0,06%	0,1%	0,1%	0,1%	0,08%
5	0,7%	0,6%	0,5%	0,8%	0,2%	0,4%
6	0,2%%	0,06%	0,1%	0,3%	0,07%	0,3%
sano-obturado	0,09%	0,09%	0,1%	0,07%	0,02%	0,1%

Si bien los resultados permiten observar la progresión de las lesiones, no es posible determinar entre que estados se provocan, ya que la mayoría de las superficies se encontraban sanas y el pequeño número de superficies afectadas por una lesión de caries se pierde al momento de hacer los análisis.

Para poder realizar la comparación entre ambos grupos, se obtuvieron las medias del progreso de las superficies en relación al grupo al que pertenecían los individuos. Al realizar la comparación, se encontró diferencias estadísticamente significativas (*, **, *** presentan $p < 0,05$).

Tabla 7: Promedio de avance del estado ICDASII durante los 3 intervalos de tiempo comparando grupo probiótico y grupo control

	<i>Recorrido entre basal y 10 meses</i>		<i>Recorrido entre basal y 14 meses</i>		<i>Recorrido entre 10 y 14 meses</i>	
	Probiótico	Control	Probiótico	Control	Probiótico	Control
Promedio de avance	1,1*	0,8*	0,7**	1**	0,4***	0,8***

Si bien existe una diferencia estadísticamente significativa, se debe principalmente al número de superficies analizadas ya que el promedio de progresión de códigos ICDAS que varía de 0,3 a 0,4 no representa una diferencia clínica de gran importancia.

DISCUSIÓN

El presente estudio determinó la progresión de las lesiones de caries por superficie dentaria mediante criterio ICDASII en relación al consumo de leche con contenido probiótico y sin contenido probiótico en una muestra de 22.968 superficies dentarias correspondientes a 261 niños de entre 2 y 3 años pertenecientes a los Jardines Infantiles Integra de la zona Norponiente de la Región Metropolitana.

Los resultados obtenidos luego de 14 meses de seguimiento muestran que no existen diferencias significativas en la progresión de lesiones de caries en niños de 2 a 3 años que consumen regularmente leche suplementada con probióticos *L. rhamnosus* SP1 versus niños que consumen leche sin probióticos.

De acuerdo a los resultados del estudio, existió un mayor progreso de la caries en las superficies dentarias del grupo probiótico que en el grupo control en el primer intervalo, entre basal y los 10 meses. Posterior a lo cual la situación se invirtió y existió un menor progreso de las superficies dentarias en el grupo probiótico que en el grupo control en el último intervalo, entre los 10 y 14 meses y en el global, entre el basal y los 14 meses. La diferencia siempre fluctuó entre 0,3 y 0,4 códigos ICDASII lo que clínicamente no tiene significancia.

Esto podría relacionarse a una menor progresión en relación a un mayor establecimiento del probiótico en la cavidad oral por lo que una intervención de mayor duración y seguimiento podría mostrar mejores resultados. Independiente de esto, aunque se observan mejoras a partir del uso de probióticos no se puede determinar la interacción ni el mecanismo que podría estar ocurriendo dentro del *biofilm* para explicarlo.

Estudios *in vitro* han demostrado que la desmineralización bacteriana se ve afectada por múltiples factores. *L. rhamnosus* GG bajo condiciones ambientales altamente cariogénicas, como aporte de carbohidratos fermentables y presencia de cavidades dentinarias, puede presentar potencial cariogénico por sí mismo y, en conjunto con *S. mutans*, dicho potencial puede aumentar (Schwendicke et al.,

2014). Sin embargo, se debe considerar que al realizar una intervención clínica son muchos más los factores involucrados, partiendo por la complejidad del *biofilm* oral que *in vitro* no puede ser replicada.

Los antecedentes del tema establecieron la falta de consenso respecto al mecanismo de acción de los probióticos, existiendo la posibilidad de que el efecto sea sistémico o local. Si fuera este último caso, los probióticos deben establecerse en la cavidad oral, adhiriéndose a las estructuras y tejidos de ella (Caglar et al. 2005). Sin embargo, como ya se ha descrito, *Lactobacillus* spp. poseen malas propiedades de adhesión por lo que las anfractuosidades anatómicas y cavidades son previamente necesarias para su sobrevivencia (Simark-Mattsson et al., 2007; Badet y Thebaud, 2008). Ravn demostró en un estudio que al administrar leche enriquecida con probióticos durante una semana continua a individuos sin caries activas, no se logra una colonización por parte de dichas bacterias por más de 72 horas en la cavidad oral (Ravn et al., 2012). En el caso del estudio realizado, al existir mayoritariamente superficies sanas las bacterias probióticas no tenían un nicho que colonizar por lo que su presencia en la cavidad oral probablemente fue temporal.

En la literatura los estudios existentes que comparan el efecto del consumo de leche enriquecida con probiótico y la sin probiótico se enfocan principalmente en analizar la incidencia de nuevas lesiones de caries y los recuentos bacterianos mas no la progresión de las lesiones de dicha enfermedad (Haslöf et al., 2013; Näse et al., 2001; Stecksén-Blicks et al., 2009; Stensson et al., 2014; Taipale et al., 2013; Vistoso et al., 2013). Dentro de ellos, la mayoría de los estudios utilizan el índice ceo-d lo que permite saber la historia de caries de los individuos, pero no la evolución de las lesiones de caries existentes. Taipale y Vistoso son los únicos que describen la incidencia de lesiones en base a criterios ICDASII: el primero, concluye que no hay diferencias entre probiótico y control, mientras que la segunda, establece que si las hay, con una diferencia estadísticamente significativa en favor del uso de probióticos.

El estudio realizado usó el código ICDASII, el sistema internacional de

detección y evaluación de caries que mediante el examen clínico permite saber el estado de las superficies y, a partir de esto, la evolución de las lesiones (Ismail et al., 2007). Dicho análisis permite tener mayor detalle del estado de cada superficie. En base a lo anterior, se entiende que son necesarios nuevos estudios que evalúen la progresión de lesiones con este sistema de evaluación para poder comparar los resultados obtenidos.

Queda establecido que la vía de administración láctea es la más adecuada para proporcionar probióticos debido a la confianza que genera en los niños y los beneficios nutritivos propios de la misma. Sumado a lo anterior, la literatura describe que posee efecto como capacidad buffer de ácidos orgánicos, contenido de calcio y minerales con efecto anticariogénico y reducción de la colonización bacteriana (Teughels et al., 2008; Jindal et al., 2012).

Se debe destacar que no se produjeron efectos secundarios detectados en el grupo experimental que se relacionen con el consumo regular de probióticos, esto se pudo determinar con el reporte por parte de los apoderados, los que no acusaron ningún tipo de inconveniente relacionado con la leche ingerida por sus pupilos.

Si bien el estudio pretendía demostrar el uso de los lactobacilos para la disminución de la progresión de lesiones de caries, el hecho de que este sea un análisis secundario predispone a que la muestra no sea la adecuada para el análisis efectuado: la muestra estuvo compuesta por niños de entre 2 y 3 años con baja prevalencia de caries impidiendo observar el efecto que dicha bacteria podía tener en la enfermedad. Junto a lo anterior, se debe señalar que si bien se define cierta progresión en el estado de las superficies dentarias, no es posible determinar entre qué códigos ICDASII se desarrolla ya que no es posible desagregar los resultados y analizar las lesiones cavitadas. Esto se debe a que el número de dichas lesiones existentes en la muestra era mínimo e imposibilitó el análisis, ya que un número tan pequeño se perdía dentro de las casi 23.000 muestras obtenidas por lo que permanece abierta la posibilidad de que sea una superficie sana la que desarrolló una lesión, una lesión no cavitada progresó a una

cavitación o una de las anteriores progresó a obturación. Sin embargo, tener una muestra con las características necesarias sería éticamente incorrecto ya que implicaría tener pacientes con lesiones de caries sin tratamiento con el fin de evaluar el efecto del probiótico. Por lo que se sugiere volver a estudios *in vitro* para evaluar dicha variable.

Otra limitación del presente estudio se encuentra en relación con las condiciones de la detección de caries utilizada: estudio de campo. Dicho procedimiento consiste en un examen visual a las piezas dentarias sin tener las condiciones óptimas en cuanto a higiene dental, secado de las superficies y buena iluminación. Dado lo anterior, se decidió unificar la clasificación ICDAS 1 y 2.

Frente a todo lo anteriormente señalado y considerando las limitaciones del presente estudio, se establece que los probióticos representan una herramienta útil y prometedora para el control de las caries dentales sin provocar alteraciones ni daños al hospedero. Sin embargo, su utilización es reciente por lo que el análisis de su mecanismo de acción y usos debe continuar en estudio. Se sugiere la realización de nuevos estudios *in vivo* usando el criterio ICDASII para evaluar en detalle el efecto que pueden tener sobre las superficies dentarias, independiente de su estado.

CONCLUSIONES

1. Las superficies dentarias pueden desarrollar lesiones de caries o pueden progresar las pre-existentes, independiente de pertenecer al grupo que consumió regularmente leche suplementada con probióticos lactobacilos o leche sin probióticos.

2. La progresión de lesiones de caries en niños que consumen leche enriquecida con probióticos lactobacilos y sin suplemento de probióticos es similar.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Badet C, Thebaud N. (2008) Ecology of lactobacilli in the oral cavity: A review of literature. *The Open Microbiology Journal* 2:38-48.

Beighton D (2009). Can the ecology of the dental *biofilm* be beneficially altered? *Adv Dent Res* 21:69-73.

Cagetti M., Mastroberardino S., Milia E., Cocco F., Lingström P., Campus G. (2013). The role of probiotic strains in caries prevention: a systematic review. *Nutrients* 5: 2530-2550.

Caglar E., Kargul B., Tanboga I. (2005). Bacteriotherapy and probiotics' role on oral health. *Oral Dis* 11:131-137.

Ceballos M., Acevedo C. "Diagnóstico en Salud Bucal de niños de 2 y 4 años que asisten a la educación preescolar". Región Metropolitana, 2007 en www.minsal.cl.

Fejerskov O. (2004) Changing paradigms in concepts on dental caries: Consequences for oral health care. *Caries Res* 38: 182-191.

Fontana M., Young D., Wolff M., Pitts N., Longbottom C. (2010) Defining dental caries for 2010 and beyond. *Dent Clin North Am* 54:423-40.

Jindal G., Pandey RK., Singh RK., Pandey N. (2012). Can early exposure to probiotics in children prevent dental caries? A current perspective. *J Oral Biol Craniofac Res.* 2: 110–115.

Guarner F., Perdigon G., Corthier G., Salminen S., Koletzko B., Morelli L. (2005). Should yoghurt cultures be considered probiotic? *Br J Nutr* 93: 783-786.

Harrison R. (2003) Oral Health Promotion for High-Risk Children: Case Studies from British Columbia. *J Can Dent Assoc* 69: 292-296.

Hasslöf P., West C., Videhult F., Brandelius C., Stecksén-Blicks C. (2013). Early intervention with probiotic *Lactobacillus paracasei* F19 has no long-term effect on caries experience. *Caries Res* 47: 559-65.

Haukioja A., Loimaranta V., Tenovuo J. (2008). Probiotic bacteria affect the composition of salivary pellicle and streptococcal adhesion *in vitro*. *Oral Microbiol Immunol* 23: 336–43.

Harrison R. (2003) Oral Health Promotion for High-Risk Children: Case Studies from British Columbia. *J Can Dent Assoc* 69: 292-296.

He X., Lux R., Kuramitsu H., Anderson M., Shi W. (2009). Achieving probiotic

effects via modulating oral microbial ecology. *Adv Dent Res* 21: 53-56.

Hojo K., Nagaoka S., Ohshima T., & Maeda N. (2009). Bacterial interactions in dental *biofilm* development. *J Dent Res* 88: 982-990.

Ismail A., Sohn W., Tellez M., Amaya A., Sen A., Hasson H., Pitts N. (2007). The International Caries Detection and Assessment System (ICDAS): an integrated system for measuring dental caries. *Community Dent Oral Epidemiol* 35:170–178.

Kagihara L. E., Niederhauser V. P., y Stark M. (2009). Assessment, management, and prevention of early childhood caries. *J Am Acad Nurse Pract* 21: 1-10.

Koll-Kais P., Mandar R., Leibur E., Marcotte H., Hammarström L., Mikelsaar M. (2005). Oral lactobacilli in chronic periodontitis and periodontal health: species composition and antimicrobial activity. *Oral Microbiol Immunol* 20: 354-361.

Marcenes W., Kassebaum NJ., Bernabé E., Flaxman A., Naghavi M., López A., Murra C.J.L. (2013). Global Burden of Oral Conditions in 1990-2000. *J Dent Res* 92: 592-597.

Marsh P. (1994). Microbial ecology of dental plaque and its significance in health and disease. *Adv Dent Res* 8: 263-271.

MINSAL. Análisis de la Situación de Salud Bucal. Chile. 2010. Ministerio de Salud. Gobierno de Chile.

MINSAL. Metas 2011-2020, Elige Vivir Sano. Estrategia Nacional de Salud para el cumplimiento de objetivos sanitarios de la década 2011-2020. Ministerio de Salud. Gobierno de Chile.

Näse L., Hatakka K., Savilahti E., Saxelin M., Pönkä A., Puossa T., *et al.* (2001). Effects of long-term consumption of a probiotic bacterium, *Lactobacillus rhamnosus* GG, in milk on dental caries and caries risk in children. *Caries Res* 35: 412-420.

O'Hara AM., Shanahan F. (2006). The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep* 7: 688–693.

Oksaharju A., Kankainen M., Kekkonen RA., Lindstedt KA., Kovanen PT., Korpela R., Miettinen M. (2011). Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* downregulates *FCER1* and *HRH4* expression in human mast cells. *World J Gastroenterol* 17: 750–759.

Ouwehand AC., Salminen S., Isolauri E. (2002). Probiotics: an overview of beneficial effects. *Antonie van Leeuwenhoek* 82: 279-289.

Petersson L., Magnusson K., Hakestam U., Baigi A., Twetman S. (2011). Reversal of primary root caries lesions after daily intake of milk supplemented with fluoride and probiotic lactobacilli in older adults. *Acta Odontol Scand* 69: 321-327.

Ravn I., Dige I., Meyer R.L., Nyvad B. (2012). Colonization of the Oral Cavity by Probiotic Bacteria. *Caries Res.* 46:107-12.

Saunders R., Meyerowitz C. (2005). Dental caries in older adults. *Dent Clin N A* 49: 293-308.

Saxelin M., Lassig A., Karjalainen H., Tynkkynen S., Surakka A., Vapaatalo H., Järvenpää S., Korpela R., Mutanen M., Hatakka K. (2010). Persistence of probiotic strains in the gastrointestinal tract when administered as capsules, yoghurt, or cheese. *Int J Food Microbiol* 144:293-300.

Selwitz R., Ismail A., Pitts N. (2007) Dental caries. *Lancet* 369: 51-9.

Sheiham A. Oral health, general health and quality of life. Bulletin of the World Health Organization September 2005, 83

Shimada A., Noda M., MAtoba Y., Kumagai T., Kozai K., Sugiyama M. (2015). Oral lactic acid bacteria related to the occurrence and/or progression of dental caries in Japanese preschool children. *Biosci Microbiota Food Health* 34: 29-36.

Simark-Mattsson C., Emilson C., Håkansson E., Jacobsson C., Roos K., Holm S. (2007). *Lactobacillus*-mediated interference of mutans streptococci in caries-free vs. caries-active subjects. *Eur J Oral Sci* 115:308-314.

Simón-Soro A., Tomás I., Cabrera-Rubio R., Catalan MD., Nyvad B., Mira A. (2013). Microbial geography of the oral cavity. *J Dent Res* 92: 616-621.

Simón-Soro A., Belda-Ferre P., Cabrera-Rubio R., Alcaraz L.D., Mira A. (2013). A Tissue-Dependent Hypothesis of Dental Caries. *Caries Res* 47:591-600.

Simón-Soro A., Mira A. (2015). Solving the etiology of dental caries. *Cell Press* 23: 76-82.

Stecksén-Blicks C., Sjöström I., Twetman S. (2009). Effect of long-term consumption of milk supplemented with probiotic lactobacilli and fluoride on dental caries and general health in preschool children: a cluster randomized study. *Caries Res* 43:374-381.

Stensson M., Koch G., Coric S., Abrahamsson T., Jenmalm M., Birkhed D., *et al.* (2014). Oral Administration of *Lactobacillus reuteri* during the First Year of Life Reduces Caries Prevalence in the Primary Dentition at 9 Years of Age. *Caries Res* 48: 111-7.

Schwendicke F., Dörfer C., Kneist S., Meyer-Lueckel H, Paris S. (2014) Cariogenic effects of probiotic *Lactobacillus rhamnosus* GG in a dental *biofilm* model. *Caries Res* 48:186-92.

Taipale T, Pienihäkkinen K, Alanen P, Jokela J, Söderling E. (2013) Administration

of *Bifidobacterium animalis* subsp. lactis BB-12 in early childhood: a post-trial effect on caries occurrence at four years of age. *Caries Res* 47:364-372.

Takahashi N., Nyvad B. (2008) Caries ecology revisited: microbial dynamics and the caries process. *Caries Res* 42:409-418.

Takahashi N., Nyvad B. (2011) The role of bacteria in the caries process: ecological perspectives. *J Dent Res* 90:294-303.

Tanzer JM., Thompson A., Lang C., Cooper B., Hareng L., Gamer A. (2010). Caries inhibition by a safety of *Lactobacillus paracasei* DSMZ16671. *J Dent Res* 89: 921-926.

Teughels W., Van Essche M., Sliepen I., Quirynen M. (2008). Probiotics and oral healthcare. *Periodontol 2000* 48: 111-147.

Tsai YT., Cheng PC., Pan TM. (2012). The immunomodulatory effects of lactic acid bacteria for improving immune functions and benefits. *Appl Microbiol Biotechnol* 96:853-862.

Twetman S., Keller M. (2012). Probiotics for caries prevention and control. *Adv Dent Res* 24: 98-102.

Van Baarlen P., Troost F., van der Meer C., Hooiveld G., Boekschoten M., Brummer RJ., Kleerebezem M. (2011). Human mucosal *in vivo* transcriptome responses to three lactobacilli indicate how probiotics may modulate human cellular pathways. *Proc Natl Acad Sci USA* 1: 4562-4569.

Vistoso A. (2013). Efecto del consumo de leche enriquecida con probióticos lactobacilos, en la incidencia de lesiones de caries en niños preescolares. Trabajo de investigación, requisito para optar al título de cirujano-dentista.

WHO/FAO: Guidelines for the evaluation of probiotics in food. 2002. www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.pdf

WHO (2013). Oral Health Survey: basic methods. 5° edición. Ginebra, Suiza. WHO Press. P 41-43.

ANEXOS

Anexo 1

ACTA DE APROBACIÓN DE PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN (COMITÉ ETICO- CIENTÍFICO)



06/12/2011

ACTA DE APROBACION DE PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

ACTA N°: 2011/13

1. Acta De Aprobación De Protocolo De Estudio N° 2011/14.
2. Miembros del Comité Ético-Científico de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile participantes en la aprobación del Proyecto:

Prof. Dr. Juan Cortés A Presidente CE	Prof. Dra. Mª Angélica Torres V. Secretaria CE	Dr. Eduardo Rodríguez Y. Miembro permanente del CE
Dra. Macarena Miranda V Miembro permanente del CE	Srta. Valentina Fajreldin Miembro permanente del CE	Prof. Dra. Ximena Lee Miembro permanente del CE
Prof. Dr. Alejandro Escobar Miembro permanente del CE	Srta. Karin Lagos Miembro permanente del CE	Dra. Claudia Lefimil Miembro permanente del CE

3. Fecha d Aprobación: 30/11/2011
4. Título completo del proyecto: "Efecto del consumo de bebidas lácteas enriquecidas con probióticos lactobacilos en la reducción de incidencia de lesiones de caries en niños preescolares" Proyecto Fonis SA11I2035
5. Investigador responsable: Dr. Gonzalo Rodríguez Martínez
6. Institución: Departamento de Odontología Restauradora, Facultad de Odontología, Universidad de Chile.
7. Documentación Revisada:
 - CV del Investigador principal y de los Coinvestigadores
8. Formulario de Consentimiento Informado (CI) en español para el proyecto: "Efecto del consumo de bebidas lácteas enriquecidas con probióticos lactobacilos en la reducción de incidencia de lesiones de caries en niños preescolares"
9. Carácter de la población: La población objetivo es la de niños y niñas de 2 años, que asisten a educación preescolar en establecimientos dependientes de la Fundación INTEGRA en la Región Metropolitana en Chile (niños que pertenecen a familias en situación de pobreza y/o vulnerabilidad social). Se seleccionará una muestra de niños sanos y con buena salud bucal.

ACTA DE APROBACION DE PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

10. Fundamentación de la aprobación:

La caries dental sigue siendo la principal enfermedad bucal en niños a nivel mundial y en nuestro país aún se presenta una alta prevalencia y severidad de caries, cuyo tratamiento convencional es la restauración, con un alto costo económico y social. Este proyecto propone el uso de probióticos en bebidas lácteas (microorganismos que administrados en cantidades adecuadas confieren beneficios a la salud, lactobacilli son particularmente protectores para la salud bucal), como posible reductor de caries en niños preescolares de 2 años de edad.

La seguridad del uso de probióticos en bebidas lácteas tiene relación con el principio de No maleficencia y no ha mostrado riesgo de daño aumentado, reportándose escasos efectos adversos los cuales han sido difíciles de evaluar, dada la levedad de sus signos tales como flatulencia y molestia abdominal autolimitada. En esta investigación además se implementará un protocolo de registro y manejo de los posibles efectos adversos, con la supervisión del médico parte del equipo investigador. Se registrarán en forma diaria las alteraciones gastrointestinales que se han reportado por el uso de probióticos y presentan un protocolo correcto de notificación de esos efectos al comité de ética.

El Investigador presenta un protocolo de entrega de la información para padres, apoderados y tutores de los niños posibles candidatos, esta información aparece clara y personalizada, y culmina con la firma del formulario de consentimiento informado donde los padres o tutores certifican que han comprendido esta información y aceptan los riesgos y beneficios que representa que sus niños participen en esta investigación. Este Comité considera que se resguarda así el principio de autonomía.

Después del primer examen bucal en los jardines seleccionados, los padres de los niños que presenten en ese momento algún tipo de lesión cariosa, serán informados y se les entregará una hoja de interconsulta y recomendaciones para la resolución de los problemas de salud bucal. Además, los niños que desarrollen lesiones de caries durante el estudio serán derivados a atención clínica a la clínica odontológica dependiente de la Universidad de Chile o al sistema de salud que le corresponda. Estas acciones concuerdan con el respeto al principio de Beneficencia.

Este proyecto ha mostrado que cumple con las pautas éticas de investigación en seres humanos (Helsinki y CIOM).

En consecuencia, el Comité Ético Científico de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, Aprueba el estudio: "Efecto del consumo de bebidas lácteas enriquecidas con probióticos lactobacilos en la reducción de incidencia de lesiones de caries en niños preescolares" Proyecto Fonis SA1112035, bajo la supervisión del Dr. Gonzalo Rodríguez Martínez, como Investigador Principal.

Este Comité se reserva el derecho de monitorear este proyecto si fuera necesario.

Prof. Dr. Juan Cortes A
Presidente CEC-FOUCH



C.c.: Investigador Principal. y Secretaría C.E.C.

ANEXO 2

CONSENTIMIENTO INFORMADO



Facultad de Odontología, U de Chile
Departamento de Odontología Restauradora

Fonis
FONDO NACIONAL DE INVESTIGACIÓN
A DESARROLLO TECNOLÓGICO
Ed 06/12/2011

CONSENTIMIENTO INFORMADO

"Efecto de bebidas lácteas enriquecidas con probióticos lactobacilos en reducción de incidencia de caries en niños preescolares"

1. INFORMACION SOBRE EL ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es el propósito del estudio?

Este estudio tiene por objetivo evaluar el efecto del consumo de probióticos para prevenir las caries en niños preescolares.

¿Qué son los probióticos?

Los probióticos se definen como microorganismos vivos los cuales, cuando son administrados en cantidades adecuadas, confieren beneficios a quien los consume. En Chile, existen numerosos productos en el mercado que contienen probióticos y que son consumidos para obtener beneficios a nivel gastrointestinal. Estudios en el extranjero han demostrado utilidad en prevenir la aparición de caries en los niños.

¿Quién puede participar en este estudio?

Niños y niñas que asistan a jardines infantiles dependientes de la Fundación INTEGRA que cursen nivel medio menor y que no presenten intolerancia a la lactosa y/o alergia a algunos de los componentes de las bebidas lácteas.

¿Por qué debiera yo considerar la participación de mi hijo/a o pupilo/a como sujeto de investigación en este estudio?

Para colaborar en la evaluación del efecto del consumo de probióticos en la prevención de caries dentales.

¿Mi hijo/a tiene necesariamente que participar en este estudio? ¿Si acepto que mi hijo/a participe, puedo cambiar de opinión o retirarme?

Su participación es voluntaria, puede cambiar de opinión o retirarse en el momento que desee.

¿Si decido que mi hijo/a participe en el estudio, en qué consisten precisamente las evaluaciones, y qué tipo de tratamientos o procedimientos le van a practicar?

Consistirá en una primera etapa, en hacerles una evaluación odontológica basal y tomar una muestra de saliva. Luego el jardín recibirá gratuitamente bebidas lácteas con probióticos o sin ellos por parte del grupo investigador, los cuales serán consumidos por su hijo/a todos los días que asista al jardín, por un período de 18 meses.

Se decidirá por azar el tipo de bebida láctea (con o sin probiótico) que recibirán los jardines y por lo tanto su hijo, es decir puede que su hijo esté consumiendo leche con probióticos o sin probióticos.

En una segunda etapa, los niños serán nuevamente examinados en el jardín (a los 6 meses, 12 meses y a los 18 meses) y se les solicitarán nuevas muestra de saliva. El examen de salud es muy simple y sólo incluye la observación de los dientes con un espejo dental en el mismo jardín. La muestra de saliva consiste en tomar saliva desde la boca del niño y esta será empleada únicamente para análisis microbiológicos, que consistirá en medir la cantidad de bacterias involucradas en el proceso de caries.

¿Qué peligros podría experimentar mi hijo/a en este estudio, y que harán los investigadores para reducir el riesgo de que éstos se presenten?

Este estudio no representa ningún peligro para los participantes ya que no hay procedimientos ni medicamentos que involucren riesgo alguno. A lo más algunos participantes podrían tener síntomas gastrointestinales como diarrea, náuseas y/o dolor abdominal leve. Un médico, parte del equipo investigador, evaluará estos síntomas y en el caso de persistir en el tiempo y alterar la calidad de vida de su hijo/a, se suspenderá el consumo del producto.



¿Qué beneficios para mi hijo/a puedo yo esperar al autorizar que participe en este estudio?

- 1) Su hijo/a consumirá un producto lácteo de muy buena calidad.
- 2) En el caso de consumir el producto lácteo con probiótico, estará consumiendo un producto seguro y ampliamente estudiado, que presenta beneficios a nivel gastrointestinal, potenciando los sistemas de defensa naturales del cuerpo.
- 3) A su hijo/a se le realizará una evaluación de su salud bucal y estará constantemente monitoreado por un equipo de odontólogos especializados, y en el caso de necesitar atención odontológica, será derivado a atención a la red de salud que le corresponda.

¿En qué podría este estudio beneficiar a otros?

La participación de su hijo/a en este estudio, es muy importante, ya que podrá contribuir al conocimiento científico, y de esta manera ayudar a la salud oral de los niños de nuestro país. Esto no tendrá ningún costo para usted y no producirá molestias a su hijo/a.

¿Qué harán los investigadores si mi hijo/a sufre algún daño durante el estudio?

No sufrirá ningún daño, ya que no se utilizan compuestos que puedan ocasionarlo. En caso que presente molestias y que estas aumenten desmedidamente con el consumo del producto lácteo, éste se le suspenderá.

Una vez que mi hijo/a haya ingresado como sujeto de estudio, ¿a quien tendría que dirigirme para averiguar más acerca del estudio o para hacer llegar algún comentario y/o resolver alguna duda?

Al investigador responsable, Dr. Gonzalo Rodríguez (F: 09-5426731) o al investigador alterno, Dr. Rodrigo Cabello (F: 09-4393501). También pueden consultar al Presidente del Comité de Ética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, Dr. Juan Cortés (F: 9781703)

Si decido que mi hijo/a no participe en este estudio, ¿qué me puede suceder?

La participación del estudio es de carácter voluntario, si Ud. decide retirar a su hijo/a, no habrá ninguna consecuencia negativa para Ud. ni para su hijo/a.

¿Después que firme el documento, quién lo guardará?

El investigador responsable Dr. Gonzalo Rodríguez M.

Comité Ético Científico Facultad de Odontología U. de Chile
Presidente: Dr. Juan Cortés A.
Teléfono: 9781702
Dirección: Sergio Livingstone P. 943. Independencia. Of 4º Piso



2. DOCUMENTACIÓN DEL CONSENTIMIENTO

Después de haber recibido y comprendido la información de este documento y de haber podido aclarar todas mis dudas, yo _____
RUT _____ otorgo mi consentimiento para que mi hijo o mi hija
_____ participe en el proyecto
"Efecto de bebidas lácteas enriquecidas con probióticos lactobacilos en reducción de incidencia de caries en niños preescolares", dependiente de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile.

.....
(Firma del Tutor del Niño)

.....
(Fecha)

.....
(Firma del Investigador que toma el CI)

.....
(Fecha)

.....
(Firma del Investigador Principal) CI

.....
(Fecha)

Santiago,de.....2012

Comité Ético Científico Facultad de Odontología U. de Chile
Presidente: Dr. Juan Cortés A.
Teléfono: 9781702



ANEXO 3

CRITERIO ICDAS II

	CODIGO DE PROCESO DE CARIES	CLASIFICACION HISTOLOGICA
0	Sin cambios visuales	No desmineralización visible (subclínica)
1B	Decoloración café confinada / ≤ 1 mm en superficie lisa	$\frac{1}{2}$ externa esmalte
1W	Opacidad blanca con secado de aire a la fisura	
2B	Decoloración café más allá de la fisura / > 1 mm en la superficie lisa	$\frac{1}{2}$ interna esmalte-1/3 externo dentina
2W	/ Opacidad blanca sin secado de aire	
3	Perdida de integridad superficial (microcavidad)	1/3 medio dentina
4	Sombra subyacente de dentina	1/3 medio dentina
5	Cavidad detectable exponiendo dentina	1/3 interno dentina
6	Cavidad extensa, dentina claramente visible	1/3 interno dentina

