



**UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA  
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGÍA CONSERVADORA**

**“EFECTO CLÍNICO DE USO DE PROBIÓTICO ORAL EN CONJUNTO CON  
TERAPIA PERIODONTAL NO QUIRÚRGICA EN PACIENTES CON  
PERIODONTITIS CRÓNICA. ENSAYO CLÍNICO ALEATORIZADO,  
ENMASCARADO Y CONTROLADO POR PLACEBO.”**

***Gonzalo Javier Báez Vilches***

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

**TUTOR PRINCIPAL**

**Prof. Dr. Jorge Gamonal Aravena**

**TUTOR ASOCIADO**

**Prof. Dra. Paola Carvajal**

**Dra. Alicia Morales**

**Adscrito a Proyecto Fondecyt 1130570  
Santiago - Chile  
2015**





**UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE ODONTOLÓGÍA  
DEPARTAMENTO DE ODONTOLÓGÍA CONSERVADORA**

**“EFECTO CLÍNICO DE USO DE PROBIÓTICO ORAL EN CONJUNTO CON  
TERAPIA PERIODONTAL NO QUIRÚRGICA EN PACIENTES CON  
PERIODONTITIS CRÓNICA. ENSAYO CLÍNICO ALEATORIZADO,  
ENMASCARADO Y CONTROLADO POR PLACEBO.”**

***Gonzalo Javier Báez Vilches***

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

**TUTOR PRINCIPAL**

**Prof. Dr. Jorge Gamonal Aravena**

**TUTOR ASOCIADO**

**Prof. Dra. Paola Carvajal**

**Dra. Alicia Morales**

**Adscrito a Proyecto Fondecyt 1130570  
Santiago - Chile  
2015**

## AGRADECIMIENTOS.

A la Dra. Alicia Morales por su constante dedicación, guía y apoyo en la confección de este trabajo.

A la Dra. Paola Carvajal por su tiempo, sus revisiones y correcciones en la confección de este trabajo.

Al Prof. Dr. Jorge Gamonal por permitirme participar en este proyecto, por su guía y apoyo.

A todos mis amigos, a mi polola Daniela y a mi madre, que me apoyaron positivamente y estuvieron en los momentos íntimos cuando necesité una palabra de aliento.

**INDICE.**

Página 6 .....	<b>RESUMEN.</b>
Página 7 .....	<b>MARCO TEÓRICO.</b>
Página 19 .....	<b>HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.</b>
Página 20.....	<b>MATERIALES Y MÉTODOS.</b>
Página 26 .....	<b>RESULTADOS.</b>
Página 32 .....	<b>DISCUSIÓN.</b>
Página 37 .....	<b>CONCLUSIONES.</b>
Página 38 .....	<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.</b>
Página 50 .....	<b>ANEXOS Y APÉNDICES.</b>

## RESUMEN.

**Introducción:** Los probióticos se definen como microorganismos vivos, que son seguros para el consumo humano y, cuando se ingieren en cantidades suficientes, tienen efectos beneficiosos sobre la salud humana. La enfermedad periodontal sigue siendo un problema importante en salud pública y los enfoques de manejo existentes no han logrado impactar sobre la porción de la población en mayor riesgo. Considerando los efectos beneficiosos de los probióticos, esta terapia se ha postulado como un complemento al tratamiento periodontal y/o como reemplazo de la antibioterapia periodontal. El objetivo de este estudio fue evaluar el efecto de la administración diaria del probiótico *Lactobacillus rhamnosus* SP1 [durante](#) 3 meses en los parámetros clínicos periodontales en pacientes con periodontitis crónica tratados con terapia periodontal convencional no-quirúrgica al término de la intervención y a los 3 meses de seguimiento, comparado con un tratamiento periodontal no-quirúrgico más placebo en el mismo período de tiempo.

**Materiales y Métodos:** 28 pacientes diagnosticados con periodontitis crónica fueron incluidos en este estudio, los que fueron divididos en dos grupos. Ambos grupos recibieron tratamiento periodontal de pulido y alisado radicular (PAR). Además, se les entregó un sobre con un polvo de disolución oral, el cual tenía el mismo sabor, textura y apariencia, en un grupo con probiótico y el otro con placebo, el cual consumieron 1 vez al día por 3 meses. Las evaluaciones fueron realizadas al finalizar el tratamiento y a los 3 meses de finalizado el tratamiento [y comparadas con los datos iniciales inter y entre grupos.](#)

**Resultados:** Se observaron diferencias significativas intragrupal para los parámetros profundidad al sondaje, índice de placa, índice de sangrado en todos los seguimientos. Para el nivel de inserción clínica, se observó una disminución significativa al término del tratamiento ( $p < 0,05$ ). Las diferencias intergrupales no fueron significativas.

**Conclusiones:** No se encontraron diferencias significativas entre el grupo experimental y el grupo control en ninguno de los parámetros clínicos estudiados en los períodos de tiempo analizados.

## MARCO TEÓRICO.

Entre las enfermedades [orales](#), una de las más prevalentes es la enfermedad periodontal. Ésta incluye un variado grupo de patologías, dentro de las cuales, las más frecuentes son la gingivitis inducida por placa y la periodontitis [crónica](#) (Armitage GC, 1999).

La periodontitis es una enfermedad inflamatoria crónica en donde los tejidos de soporte del diente son afectados en su integridad por una infección (Pihlstrom BL et al., 2005). Además, ésta implica una respuesta inmune por parte del hospedero al biofilm, la posterior inflamación y alteración de la homeostasis ósea y conectiva (Kornman KS et al., 2008). Se manifiesta con la presencia de inflamación gingival en los sitios [periodontales](#) en los que se ha producido una migración apical del epitelio de unión, acompañada de una pérdida de tejido conectivo y de hueso alveolar (Armitage GC, 1995).

Esta enfermedad se caracteriza por tener tres signos clínicos: la pérdida de la inserción conectiva, la reabsorción del hueso alveolar y la presencia de saco periodontal, el cual es el signo patognomónico de la periodontitis (Van der Velden U et al., 2005). Para determinar el diagnóstico de periodontitis, el gold standard es la presencia de pérdida de nivel de inserción clínica (NIC) (Goodson JM et al, 1992).

### Epidemiología

La periodontitis presenta una alta prevalencia y se encuentran ampliamente distribuida en el mundo. En Estados Unidos la prevalencia alcanza el 47,2% (Eke y cols., 2012), en Brasil la prevalencia es de 9% en jóvenes, 10% en adultos y 19% en adultos mayores y en Argentina es de 5%, 30% y 49%, respectivamente (Gjermeo y cols., 2002).

[La prevalencia de la evidencia histórica del daño periodontal, el nivel de inserción clínica \(NIC\), es frecuente incluso en población joven. En Latinoamérica,](#)

en un trabajo recientemente publicado, se reportó una prevalencia de un 32,6% de adolescentes con NIC  $\geq 3$  mm en  $\geq 1$  sitio periodontal, además el 59,3% presentó profundidad al sondaje (PS)  $\geq 4$  mm y el 28,6% un índice de sangrado (IS)  $\geq 25\%$  (Morales A et al. 2015).

Un estudio de Gamonal y cols. reporta que en Chile, un total de 93,45% de los adultos jóvenes (35-44 años) y un 97,58% de los adultos mayores (65-74 años) tienen  $\geq 1$  sitio con pérdida de NIC  $> 3$  mm, con un promedio de 6,5 y 15,8 dientes perdidos, respectivamente. Análisis multivariados identificaron que los principales indicadores de riesgo de pérdida de NIC  $> 6$  mm en  $\geq 1$  sitio fueron: edad (65 a 74 años), género (masculino), el bajo nivel de escolaridad ( $< 12$  años) y el tabaquismo (Gamonal J et al., 2010).

La periodontitis, además de ser una de las patologías óseas más prevalentes en humanos, es un factor modificador importante en enfermedades sistémicas que afectan a la población (Dutzan N y cols., 2011). La acumulación de evidencia en el rol de la periodontitis en la salud general ha relacionado la inflamación periodontal crónica a diversas enfermedades sistémicas, siendo la diabetes mellitus la más consistente (Grossi SG et al. 1998, Soskolne et al. 2001). A su vez, el efecto agravante de las enfermedades periodontales en las enfermedades cardiovasculares (Spahr A et al. 2006, Latronico M et al. 2007, Yua-Hua Yu et al. 2015), parto prematuro y / o bajo peso al nacer (Mitchell-Lewis D et al. 2001, Moreu G et al. 2005, Buduneli N 2005), la enfermedad renal (Kshirsagar AV et al. 2005, Kshirsagar AV et al. 2009) y la enfermedad de Alzheimer (Watts A et al. 2008, Gurav AN 2014, Abbayya K et al. 2015) se ha observado ampliamente en la literatura. En una revisión reciente, Correa E y cols. muestran una relación entre la Periodontitis y la disfunción eréctil (Correa E y cols. 2015).

#### Patogénesis de la enfermedad (Offenbacher 2007, Offenbacher 2008).

El biofilm subgingival está compuesto en parte por periodontopatógenos que son especies anaerobias gram negativas y se organiza en comunidades bacterianas denominadas cluster. Podemos encontrar cinco clusters en pacientes

con periodontitis. Dentro de dichos clusters, el cluster o complejo rojo es el más asociado a la periodontitis y está compuesto por *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* y *Tannerella forsythia* (Haffajee AD y Socransky SS, 1994). Estas especies son precedidas por otras más diversas pertenecientes al complejo naranja. Las especies del complejo amarillo, verde y violeta se asocian a sitios [periodontales](#) sanos debido a su compatibilidad con el [hospedero](#) (Socransky SS y cols., 1998).

La enfermedad periodontal es iniciada por microorganismos orales, pero se cree que la gravedad de la destrucción periodontal está vinculada con la respuesta inflamatoria del [hospedero](#) (Offenbacher et al., 2008). Se ha propuesto que los episodios diarios de bacteremia o la diseminación de endotoxinas originarias desde el foco periodontal pueden inducir la activación sistémica de la respuesta inflamatoria. Las bacterias o endotoxinas bacterianas en la circulación sistémica pueden inducir la producción de citoquinas proinflamatorias (Kunnen A et al. 2010). Estas citoquinas activan aun más las respuestas inflamatorias, lo que resulta en una baja calidad sistémica de la regulación de las respuestas inflamatorias crónicas que implican a la interleuquina (IL) 6 y la proteína C reactiva, así como también incluye la activación de las células inflamatorias y las endoteliales, que pueden resultar en la disfunción endotelial (Kunnen A et al. 2010, Oppermann RV et al. 2012, Sharma A et al. 2011, Tonetti MS et al. 2007).

La presencia de biofilm subgingival es necesario pero no suficiente para desarrollar periodontitis crónica. Es así como han surgido varios modelos de patogénesis que han tratado de explicar el establecimiento de la periodontitis y la susceptibilidad individual a ésta (Kornman K, 2008; Hujuel P y cols, 2012). El modelo actual, propuesto por Steven Offenbacher y cols. es el modelo de Sistemas Biológicos (Offenbacher S y cols, 2008). Éste se basa en que el fenotipo clínico no refleja los procesos biológicos subyacentes que ocurren en la interfase biofilm-gingival, y por tanto, pacientes con fenotipo clínico similar pueden responder de diferentes modos a la terapia, ya que sus factores predisponentes son distintos, los que a su vez determinarían la susceptibilidad individual de cada individuo.

La interface tejido gingival-biofilm periodontal se define por un lado por el epitelio (del surco y de unión) y la placa subgingival en el surco. La profundidad al sondaje (PS) proporciona una aproximación razonable del fondo del surco cuando se considera en seis sitios por diente en todos los dientes y se expresa como puntuaciones de resumen o medida. Cuanto más profundo es el surco sondeable, mejor es el ambiente para el crecimiento del biofilm subgingival anaeróbico, y la relación entre mayores recuentos de patógenos periodontales y el aumento de la PS está bien establecido (Offenbacher 1996).

De este modo, la PS puede definir un atributo clínico de la interface tejido gingival-biofilm periodontal que deberían influir en la composición y el crecimiento de densidad microbiana subgingival. Cuando el epitelio del surco está ulcerado o friable debido a los cambios inflamatorios, el sangrado al sondaje (índice de sangrado, IS) es el signo clínico asociado. Por lo tanto, se utilizan estos dos signos clínicos (PS e IS) para definir el estado de la enfermedad clínica actual en el interfaz tejido gingival-biofilm periodontal. Aunque la recesión gingival es un componente importante de la pérdida de inserción, no contribuye a los límites anatómicos de la interface tejido gingival-biofilm periodontal. Por otra parte, el nivel de inserción, una medida que se hace con respecto a un punto de referencia anatómico dental, tales como la unión cemento-esmalte (límite amelocementario, LAC), también es independiente de los límites de la interface tejido gingival-biofilm periodontal y refleja la histórica pérdida de inserción en lugar de la situación actual.

Los resultados de Offenbacher (2007), entregan evidencia para una nueva definición de la enfermedad que permite identificar 4 fenotipos biológicos distintivos. El primer fenotipo, que se define por la interface tejido gingival-biofilm periodontal con una  $PS \leq 3$  mm y un  $IS \geq 10\%$ , es caracterizado por un incremento en el fluido crevicular del nivel de Interleuquina 1- $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) y de Prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) y la exposición de *Campylobacter rectus*. El segundo fenotipo, que se define por la interface tejido gingival-biofilm periodontal con una  $PS \geq 4$  mm y un  $IS < 10\%$  es asociado con un elevado incremento en el fluido crevicular del nivel

de IL-1 $\beta$  y de títulos de Inmunoglobulina G (IgG) para *P. gingivalis* pero bajos recuentos para el resto de las bacterias periodontopatógenas estudiadas.

El tercer fenotipo, que se define por la interface tejido gingival-biofilm periodontal con una PS  $\geq$  4 mm y un IS entre el 10-50% ,y el cuarto fenotipo que se define por la interface tejido gingival-biofilm periodontal con una PS  $\geq$  4 mm y un IS  $\geq$  50%, ambos son asociados con una elevada respuesta inflamatoria innata con valores aumentados de IL-1 $\beta$  y PGE<sub>2</sub> y exposición a *C. rectus* y a *P. gingivalis*. En adición, el cuarto fenotipo con el mayor IS, es asociado con una excesiva respuesta inflamatoria innata para los valores del organismo presente que es caracterizado por niveles aun mayores de IL-1 $\beta$  y una incrementada expresión de mediadores crónicos de la inflamación como IL-6 y la Proteína Quimiotáctica de Monocito 1 (MCP-1, por sus siglas en inglés).

### Terapia periodontal

El principal objetivo de la terapia periodontal es mantener o ganar NIC eliminando la infección, en consecuencia, reducir la profundidad del saco periodontal y sangrado al sondaje. Estos resultados clínicos se consiguen cuando los niveles, proporciones y porcentaje de sitios colonizados por diferentes patógenos periodontales se reducen de manera efectiva después de la terapia y una nueva comunidad microbiana de mayor compatibilidad con la salud del [hospedero](#) se establece en la cavidad oral (Teles et al. 2006).

En el manejo de la infección periodontal se debe tomar en consideración el hecho de que el éxito terapéutico radica en el control del agente etiológico infeccioso, mediante la remoción mecánico-quirúrgica y/o terapia antimicrobiana. El tratamiento antimicrobiano ocasiona un cambio cuantitativo y cualitativo en la composición bacteriana del biofilm, además de ser capaz de actuar en sitios que son inaccesibles a través de tratamiento mecánico. Es así como se ha sugerido que el uso de antibioterapia sistémica en conjunto con tratamiento periodontal de pulido y alisado radicular tiene beneficios en pacientes con sacos periodontales  $\geq$

6 mm, en lesiones periodontales "activas" o en pacientes con ciertos perfiles microbiológicos (Haffajee AD et al, 2003).

El uso inadecuado de antimicrobianos puede conducir a formar especies bacterianas resistentes en el biofilm, además de los efectos secundarios y las alteraciones ecológicas en el hospedero (López-Píriz R et al. 2007). El uso de antibióticos tiene reacciones adversas al medicamento asociadas, lo que disminuye el cumplimiento del tratamiento por parte del paciente. Otros efectos del uso de los antibióticos son eliminar gran parte de la microbiota existente, independiente de su patogenicidad, no generar una colonización prolongada de los sitios por microbiota menos patogénica, y no mejorar a largo plazo el efecto de la terapia periodontal (Herrera D et al. 2002; Haffajee AD et al. 2003; Haffajee AD et al. 2007).

Por los motivos anteriores, es que se han buscado nuevas aproximaciones para el tratamiento de la periodontitis crónica.

### Probióticos

La Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura y la Organización Mundial de la Salud definen los probióticos como "microorganismos vivos, principalmente bacterias, que son seguros para el consumo humano y, cuando se ingieren en cantidades suficientes, tienen efectos beneficiosos sobre la salud, más allá de la nutrición básica" (Berezow A y Darveau R 2011).

Comúnmente, la mayoría de las especies que se atribuyen propiedades probióticas pertenecen al género *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*. Estas bacterias son consideradas como seguras ya que pueden residir en el cuerpo humano sin causar daño y, por otro lado, son microorganismos fundamentales en la fermentación de la leche y preservación de la comida y usados como tal desde los albores de la humanidad.

### Mecanismos de acción de probióticos.

Los mecanismos de acción que explican los efectos beneficiosos de los probióticos incluyen la modulación de la respuesta inmune del [hospedero](#) conduciendo un fortalecimiento de dicha respuesta, alteración de la composición y la actividad metabólica de la microbiota hospedera en una ubicación específica (Bizzini B et al. 2012). Entre los mecanismos de acción propuestos para los probióticos, encontramos:

- La adhesión y colonización (al menos transitoria) del cuerpo humano. La adhesión puede aumentar el tiempo de retención de un probiótico y colocar las bacterias y las superficies de acogida (fluidos corporales y células epiteliales) en estrecho contacto facilitando así aún más la actividad probiótica;
- La inhibición química de la bacteria patogénica (Willian NT 2010), disminuyendo el pH, produciendo compuestos inhibitorios, o reduciendo la disponibilidad del sustrato a las otras poblaciones bacterianas;
- Estimulación de la respuesta inmune, mejorando la respuesta inmune humoral, promoviendo la barrera inmunológica intestinal, y estimulando la resistencia no-específica del [hospedero](#) a patógenos microbianos, de este modo, facilitando la eliminación por el sistema inmune. Dicha estimulación de la respuesta inmune es realizada mediante la producción de inmunoglobulina (IgA), defensinas y citoquinas y disminuyendo la producción de metaloproteinasas (MMP) (Haukioja A 2010);
- “Downregulation” de reacciones de hipersensibilidad, tales como intolerancia a ciertos alimentos y eccema atípico, y el incremento de la función fagocitaria (Capri M et al. 2006, Gibson GR et al. 2004, Woodmansey EJ 2007, Tlaskalova-Hogenova H et al. 2004).

Como las últimas revisiones y meta-análisis muestran, la terapia probiótica ha sido ampliamente estudiada en varias indicaciones sistémicas y trastornos médicos (Meurman JH. 2005). En concreto, los estudios se centraron en los

trastornos gastrointestinales, los que a su vez son de interés en el campo de la odontología y la medicina oral, debido a que sus resultados pueden ser aplicables.

Relacionando, la composición y la actividad metabólica de la biopelícula oral pueden ser modificadas temporalmente. Los efectos de las bacterias probióticas parecen ser cepa específica, y no puede ser aplicadas directamente a otras cepas. Por otra parte, las mismas cepas pueden tener un efecto diferente en cada individuo (Köll-Klais, 2005).

La cavidad oral es un hábitat bastante complejo que proporciona el establecimiento de una gran diversidad de especies microbianas. Cada entorno dentro de la boca es compatible con distintas comunidades y se solapan cientos de especies (Rudney JD 1995, Socransky SS & Haffajee AD 1998, White RP Jr 2002, Faveri M et al. 2006). Se ha estimado recientemente que más de 1.000 especies de bacterias están presentes en la cavidad oral (Keijser BJ et al. 2008). Además, el dorso de la lengua posee una microbiota única: un tercio de las especies orales se alberga exclusivamente en la lengua y no pueden ser aislados en cualquier otro nicho oral (Kazor CE et al. 2003).

Dado que las especies probióticas pertenecen predominantemente a los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, es de especial interés averiguar si tales microbios con propiedades beneficiosas habitan naturalmente la cavidad oral. En general, existe escasa evidencia de que los probióticos residen permanentemente en el cuerpo humano y en particular en la boca (Petti et al. 2001, Yli-Knuuttila H et al. 2006). Sin embargo, se puede anticipar que un valor entre  $10^3$ - $10^4$  Unidades Formadoras de Colonias (UFC)/g de lactobacilos se encontrarían en la cavidad oral (Bernardeu M et al. 2008). Las especies más comunes de lactobacilos recuperados de la saliva de una población tailandesa eran *Lactobacillus fermentum* y *Lactobacillus rhamnosus* (Teanpaisan R et al. 2006). Un hallazgo prometedor fue que la población de lactobacilos difería en sanos y personas con enfermedad periodontal. Köll-Klais et al (2005) observaron que las personas sanas están pobladas por *Lactobacillus gasseri* y *L. fermentum*, mientras que la especie predominante en pacientes con periodontitis fue *Lactobacillus plantarum* mientras

que los dos primeros fueron indetectables.

Entre los diversos criterios de selección, la adhesión podría ser considerado de importancia primordial que favorece aún más la expresión de la actividad probiótica. La capacidad de los probióticos para adherirse a superficies de la cavidad oral puede evitar o al menos reducir la exclusión rápida del medio ambiente. La adhesión de bacterias probióticas a los tejidos blandos de la boca es un fenómeno necesario en las interacciones microbio-saliva. Además, el biofilm que cubre tanto la mucosa oral y los tejidos dentales influye como un mediador de adherencia.

La adhesión de bacterias probióticas a los tejidos blandos de la boca es un aspecto que promueve su efecto sobre la salud del hospedero. La adhesión celular es un proceso complejo que implica el contacto entre la célula bacteriana y las superficies que interactúan. El revestimiento epitelial de la cavidad oral a pesar de su función como una barrera física, participa activamente en la respuesta inmune. Se ha demostrado que las bacterias probióticas estimulan la inmunidad local y modulan la respuesta inflamatoria (Meydani Sn et al. 2000, Chapart L et al. 2004). Como las bacterias Gram positivas, lactobacilos expresan ligandos para los receptores tipo Toll (TLRs) que inician la respuesta inmune, permitiendo el reconocimiento de ambos patógenos y microbiota del huésped por las células epiteliales. El reconocimiento de las bacterias comensales por TLRs es necesaria para la homeostasis, la protección de las células epiteliales de la lesión y la estimulación de la reparación (Rakoff-Nahoum S et al. 2004). Aunque los estudios de la función inmunomoduladora de los probióticos en la cavidad oral no están tan avanzados, información sustancial que permite la predicción de los mecanismos clave de la actividad se puede derivar a partir de estudios en el tracto gastrointestinal. Lo más probable en la cavidad oral es que las especies probióticas que unen TLR-2 en las células epiteliales orales superficiales, sin embargo, más estudios son necesarios.

Estudios *in-vitro* de células epiteliales humanas utilizaron *Lactobacillus reuteri* vivos para analizar los efectos inmunológicos de los probióticos

encontraron que *L. reuteri* fue capaz de bloquear la secreción de IL-8 proinflamatoria. Esta puede ser la prueba de que este principio del probiótico sirva para la lucha contra la inflamación en la cavidad oral (Ma et al 2004). En otro estudio, ratones con periodontitis inducida fueron tratados tópicamente con *Lactobacillus brevis* CD2, que logró disminuir la pérdida ósea y también la expresión de factor de necrosis tumoral- alfa (TNF- $\alpha$ ) y de IL-17 comparado con los placebos (Maekawa, et al 2014). Sookhee y colaboradores aislaron *L. rhamnosus* y *Lactobacillus paracasei*, lactobacilos con capacidad antimicrobiana contra *Actinomyces viscosus*, *P. gingivalis* y candidas (Sookhee et al, 2001). Además, la administración oral de probióticos con lactobacilos redujo el número de cinco bacterias periodontopatógenas seleccionadas y podría contribuir a la generación de efectos beneficiosos sobre las condiciones periodontales (Mayanagi G et al 2009). Köll-Klais y colaboradores sugieren que los lactobacilos suprimen el crecimiento de *P. gingivalis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* y *P. intermedia* (Köll-Klais et al, 2005 ).

Para tener un efecto beneficioso en el control o prevención de la caries dental, un probiótico debe adherirse a las superficies dentales y de integrarse en la placa dental. También debe competir y antagonizar las bacterias cariogénicas y así inhibir su proliferación. Además, el metabolismo de los carbohidratos de la dieta por el probiótico debe dar lugar a ninguna o baja producción de ácido (Bizzini B et al. 2012).

Haukioja y colaboradores (Haukioja et al. 2008) estudiaron *in vitro* cuatro cepas probióticas: *L. rhamnosus* GG, *Lactobacillus casei*, *L. reuteri* y *Bifidobacterium lactis* Bb12, y demostraron que la adhesión de *Streptococcus mutans* se reduce en gran medida cuando se añadieron los probióticos en el sistema *in vitro* antes de *S. mutans*.

La coagregación podría ser una de las modalidades de prevención y control de la caries dental por parte de los probióticos. Twetman y colaboradores (Twetman et al. 2009) estudiaron la coagregación entre las bacterias probióticas y cepas asociadas a caries. Seis cepas de productos lácteos comerciales fueron

elegidos: *Lactobacillus acidophilus*, *L. plantarum*, *L. rhamnosus* GG, *L. rhamnosus* LB21, *L. paracasei* F19 y *L. reuteri* PTA5289. Todos los probióticos bajo prueba coagregaron con patógenos orales y *S. mutans* mostró una mayor capacidad de coagregar con todas las cepas que los otros patógenos. Entre los organismos probióticos, *L. acidophilus* coagregó mejor que los otros.

Otro estudio usó dos polvos de disolución, uno con *L. rhamnosus* y otro con placebo, en donde los análisis de datos arrojaron una disminución estadísticamente significativa de los niveles de *S. mutans* (Jindal G et al, 2011). De igual manera, hubo una reducción significativa de caries al usar yogurt con *L. rhamnosus* (Aminabadi et al, 2011), como también al usar leche con el probiótico (Juneja et al, 2012).

En relación a la enfermedad periodontal, Teughels et al. (Teughels W et al. 2008) han sugerido que la recolonización de un saco periodontal después del pulido y alisado radicular puede ser mediada por la introducción de microbios capaces de inhibir la adhesión de patógenos periodontales comunes, como *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis*, *Prevotella intermedia*, y *T. forsythia*.

El fundamento del concepto recolonización se encuentra en el principio de que la aplicación subgingival de estreptococos orales, *Streptococcus sanguinis* KTH-4, *Streptococcus salivarius* TOVE y *Streptococcus mitis* BMS, mejorarían el cambio de una microbiota lejos de periodontopatógenos (Teughels W et al. 2008). Mejores resultados radiográficos de curación de los sacos periodontales después de pulido y alisado radicular se registraron cuando se aplicaron las bacterias beneficiosas en comparación con los controles en un modelo de perro (Nackaerts O et al. 2008). Sin embargo, más estudios *in vivo* son necesarios para sostener el enfoque de la terapia de reemplazo. Estudios en humanos, como el de Tekce y colaboradores (Tekce M et al. , 2015) lograron identificar la colonización del probiótico *L. reuteri* en los sacos periodontales de pacientes con periodontitis crónica hasta los 90 días después de la administración del probiótico. Los resultados de este estudio muestran diferencias significativas intergrupales versus placebo en los parámetros clínicos (profundidad al sondaje, índice de placa, índice

de sangrado e índice gingival) para periodontitis. Reducciones significativas de [la](#) PS fueron observadas en el grupo con probióticos versus el grupo placebo en los controles a los 21, 90, 180 y 360 días ( $p < 0,05$ ).

### Relevancia del Problema.

Se considera que la periodontitis es un problema de salud pública. Constituye la segunda causa de pérdida de dientes en la población adulta chilena (Gamonal J et al., 1998), tiene un impacto negativo en la calidad de vida de la población (Espinoza I et al. 2013) y un alto costo económico asociado al tratamiento de la enfermedad (Gamonal J et al. 1998).

La enfermedad periodontal sigue siendo un problema importante en salud pública y los enfoques de manejo existentes no han logrado impactar sobre la porción de la población en mayor riesgo, como también los que tienen la enfermedad más severa. Los planteamientos preventivos y de tratamiento actuales son parcialmente eficaces y esto parece ser principalmente porque el enfoque de tratamiento es en el manejo del biofilm, dejando de lado el control de la inflamación y el daño que ésta produce en los tejidos (Tonetti MS et al. 2011).

Considerando los efectos beneficiosos de los probióticos, esta terapia podría servir como un complemento al tratamiento periodontal y/o actuar como [reemplazo a](#) la antibioterapia periodontal. El uso de probióticos en aplicaciones para el cuidado oral está ganando impulso como elemento coadyuvante en las terapias periodontales (Vivekananda MR et al. 2010). Sin embargo, más estudios son necesarios para evaluar la eficacia de los probióticos con un correcto diseño metodológico en la prevención y/o tratamiento de las enfermedades periodontales (Yanine et al. 2013).

## **HIPÓTESIS.**

En pacientes con periodontitis crónica tratados con terapia periodontal convencional no quirúrgica, la administración de *L. rhamnosus* SP1 genera una mejora en los parámetros clínicos periodontales, en comparación con un placebo.

## **OBJETIVOS.**

### Objetivo General

Evaluar el efecto de la administración diaria del probiótico *L. rhamnosus* SP1 en los parámetros clínicos periodontales en pacientes con periodontitis crónica tratados con terapia periodontal convencional no-quirúrgica al término de la intervención y a los 3 meses de seguimiento, comparado con un tratamiento periodontal no-quirúrgico más placebo en el mismo período de tiempo.

### Objetivos Específicos

- Determinar los parámetros clínicos periodontales en pacientes con periodontitis al inicio, término de la intervención y a los 3 meses de seguimiento, en el grupo experimental y grupo control.
  
- Comparar los parámetros clínicos de grupo experimental y control al inicio término de la intervención a los 3 meses de seguimiento.

## MATERIALES Y MÉTODOS.

### Población estudio, criterios clínicos de inclusión y exclusión

Pacientes con periodontitis crónica fueron reclutados de la Clínica Odontológica de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile. El tamaño de la muestra en pacientes con periodontitis fue calculado considerando diferencias de al menos 1 mm entre los grupos para cambios en el NIC en sitios con  $\geq 7$  mm, asumiendo una desviación estándar de 0.9 mm, un poder estadístico de un 80% y un alfa de 0.05. Basado en estos cálculos, se determinó un número de 14 individuos para el grupo experimental y la misma cantidad para el grupo control.

- **Criterios de Inclusión:** Pacientes fumadores y no fumadores que posean  $\geq 12$  dientes naturales, excluyendo terceros molares. Los pacientes fueron diagnosticados con periodontitis crónica si poseían:  $\geq 35$  años y  $\geq 5$  dientes con sacos periodontales con profundidad al sondaje (PS)  $\geq 4$  mm, pérdida de NIC  $\geq 1$  mm, sangrado al sondaje en al menos 20% de los sitios examinados y reabsorción ósea marginal determinada radiográficamente.

- **Criterios de Exclusión:** Tratamiento periodontal anterior, presentar enfermedad sistémica, [mujeres](#) embarazadas, estar en tratamiento con anticoagulantes, antibióticos o terapia con antiinflamatorios no esteroideos en los 6 meses anteriores al estudio.

### Implementación del ensayo clínico

[Se realizó](#) un estudio aleatorizado, controlado con placebo, de diseño clínico enmascarado [con el propósito de](#) evaluar los efectos de probióticos en los parámetros clínicos periodontales cuando son usados como coadyuvantes al tratamiento periodontal convencional no quirúrgico. Luego del reclutamiento, el cual se realizó mediante un sondeo inicial, los individuos fueron asignados aleatoriamente al grupo control o al grupo experimental, considerando el género,

edad y el hábito tabáquico luego del examen de las características basales.

La aleatorización fue ocultada mediante el uso de contenedores de igual apariencia, numerados secuencialmente, que contenían las dosis para el período comprendido del estudio de probióticos o placebo. La secuencia de asignación fue generada por un investigador, quien tuvo una mínima relación con las mediciones y el tratamiento, mediante el uso de una tabla de número aleatorios. Ésta fue ocultada hasta el final del análisis de datos. El código de la aleatorización fue develado cuando todos los datos clínicos fueron recolectados después del tiempo de intervención.

Posteriormente, cada participante fue asignado al grupo experimental o al grupo control. Todos recibieron una instrucción de higiene oral y un tratamiento periodontal completo, consistente en terapia periodontal no quirúrgica con pulido y alisado radicular (PAR) por cuadrante, y una terapia de soporte periodontal cada 3 meses. Los grupos fueron:

- Grupo experimental: Posterior al tratamiento de PAR, recibieron un sobre con un polvo de disolución oral que contenía *L. rhamnosus* SP1 ( $1 \times 10^8$  unidades formadoras de colonia/sobre), el cual debieron disolver en 200 ml de agua e ingerirlo después del cepillado nocturno, una vez al día por 3 meses.

- Grupo control: Posterior al tratamiento de PAR, recibieron un sobre con un polvo de disolución oral placebo, el cual tenía el mismo sabor, textura y apariencia que el grupo experimental. Debían disolverlo en 200 ml de agua e ingerirlo después del cepillado dental nocturno, una vez al día por 3 meses.

Después de la asignación a cualquiera de los grupos experimental o placebo, los pacientes, tratantes, evaluador de resultado, recolector de datos, y analista de datos fueron enmascarados.

Los parámetros clínicos, incluyendo profundidad al sondaje (PS), posición de encía, pérdida de nivel de inserción clínica (NIC), sangrado al sondaje (IS) e

índice de placa (IP), fueron obtenidos de todos los dientes presentes al inicio del estudio, en seis sitios periodontales por diente, sin incluir los terceros molares. Se utilizó una sonda manual de primera generación (UCN-15, Hu Friedy, Chicago, IL, USA). Se aproximó la medición al milímetro superior. Un examinador calibrado realizó todas las mediciones en los pacientes. Los parámetros clínicos fueron registrados al inicio del estudio (día 0), al finalizar la intervención con probiótico, y a los 3 meses de seguimiento (Anexo 1 y 2).

### Variables de resultado

Las variables de resultado fueron NIC, PS, IP e IS, los porcentajes de sitios con un NIC  $\geq 5\text{mm}$ ,  $\geq 6\text{mm}$ ,  $\geq 7\text{mm}$ , porcentaje de dientes con un NIC  $\geq 5\text{mm}$ ,  $\geq 6\text{mm}$ ,  $\geq 7\text{mm}$  y número de sujetos con un NIC  $\geq 5\text{mm}$ ,  $\geq 6\text{mm}$ ,  $\geq 7\text{mm}$ .

Los subanálisis de estas variables de resultados se realizaron teniendo en cuenta la PS inicial. Una PS se consideró poco profunda si su medida inicial fue  $\leq 3\text{mm}$ , moderado si su medida inicial fue entre 4 y 6 mm y profundo si fue  $\geq 7\text{mm}$ .

En este estudio se usó el nivel de riesgo de progresión de enfermedad modificado de Lang y Tonetti (2003), considerando la PS (Lang y Tonetti, 2003) como variable de éxito.

## Operacionalización de variables.

**Tabla 1.** Variable Ordinal.

Variable	Tipo de Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Codificación	Codificación
<b>Riesgo de Progresión de Enfermedad (RPE) (Lang y Tonetti, 2003)</b>	Categórica Ordinal	Evaluación de la prevalencia de sacos periodontales residuales.	Nivel de Riesgo de Progresión de la Enfermedad basado en la evaluación del parámetros especificado en la definición.	- Bajo RPE: Pacientes con todos los parámetros dentro de las categoría "bajo riesgo" o -a lo más- un parámetro en la categoría "riesgo moderado" - Moderado RPE: Pacientes tienen al menos dos parámetros en la categoría moderada, pero máximo un parámetro en la categoría alto riesgo. - Alto RPE: Pacientes con al menos dos parámetros en la categoría alto riesgo.	Bajo RPE Moderado RPE Alto RPE

**Tabla 2.** Variables Nominales.

Variable	Tipo de Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Codificación	Unidad de Medida	Índice
<b>Sangrado al Sondaje</b>	Categórica Dicotómica	Presencia de sangrado en el surco gingival o saco periodontal luego de realizar el sondaje de un sitio.	Porcentaje de sitios con sangrado gingival producido hasta 15 segundos después de la introducción de la sonda periodontal en el surco gingival o saco periodontal del total.	- Sitio sin sangrado: 0 - Sitio con sangrado: 1	Porcentaje	Índice de sangrado= No sitios (+)/total sitios*100
<b>Nivel de Placa</b>	Categórica dicotómica	Presencia de depósitos blandos ubicados en la porción cervical del diente.	Porcentaje de sitios con presencia de depósitos blandos ubicados en la porción cervical de las superficies bucal, mesial, lingual y distal del total.	- Sitio sin placa: 0 - Sitio con placa: 1	Porcentaje	Índice de placa= No sitios (+)/total sitios*100

**Tabla 3.** Variables Numéricas.

<b>Variable</b>	<b>Tipo de Variable</b>	<b>Definición Conceptual</b>	<b>Definición Operacional</b>	<b>Codificación</b>	<b>Unidad de Medida</b>
<b>Profundidad al Sondaje</b>	Cuantitativa continua	Distancia desde el margen gingival al punto de mayor penetración apical de la sonda en cada sitio examinado.	Distancia en milímetro desde el margen gingival al punto de mayor penetración apical de la sonda en cada sitio examinado.	Valor numérico	Milímetros
<b>Nivel de Inserción Clínica</b>	Cuantitativa continua	Distancia desde la unión amelocementaria al punto de mayor penetración apical de la sonda en cada sitio examinado.	Registro en mm, mediante el cálculo aritmético: Profundidad de Sondaje – Posición de la encía.	Valor numérico	-Milímetros

### Consideraciones éticas.

El protocolo de este estudio fue revisado y aprobado por la Comité de Ética de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile. Además, se rige según el marco legal que regula a los Ensayos Clínicos en Chile, y en conformidad con la Declaración de Helsinki de 1975, revisada en el año 2000.

A cada participante que cumplió con los criterios de inclusión, le fue entregado un consentimiento informado para que sea revisado, consentido y firmado por él para su aprobación e ingreso al estudio (Anexo 4). A todos los participantes se le informó de su salud oral. Todos los participantes fueron instruidos para mejorar su higiene oral y recibieron un tratamiento periodontal completo y terapia de mantención periodontal cada 3 meses durante el período del estudio.

### Análisis estadístico.

Se utilizó el test de Shapiro Wilk para determinar la normalidad de las variables cuantitativas continuas.

Los datos cuantitativos fueron registrados como media  $\pm$  desviación estándar (DE) para todos los parámetros investigados. El test de Wilcoxon y el test de Mc Nemar fueron usados para comparar los parámetros intragrupal. A su vez, el test U de Mann-Whitney y el test Exacto de Fisher fueron usados para comparar los parámetros intergrupales.

Un nivel de un 95% de confianza fue considerada como estadísticamente significativa ( $p < 0,05$ ). El análisis estadístico fue realizado usando Microsoft Excel® 2011 y el paquete estadístico de Stata® 12 (StataCorp, College Station, TX).

## RESULTADOS.

Se reclutaron 28 pacientes los cuales fueron distribuidos en el grupo experimental (PAR + Probiótico) y el grupo control (PAR + Placebo) en igual cantidad. Ambos grupos fueron compuestos por un 50% de pacientes de género femenino y un 50% del masculino. La media de edad del grupo experimental fue de  $52,7 \pm 7,3$  años, y del grupo control fue de  $46,9 \pm 10,3$  años. Todos los pacientes terminaron el estudio y no se reportaron efectos adversos. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las variables demográficas entre ambos grupos (Tabla 4).

**Tabla 4.** Información inicial de pacientes en los grupos de tratamiento.

Variable	Grupos Tratamiento		p-value
	PAR + Probióticos (n=14)	PAR + Placebo (n=14)	
<b>Edad</b> <sup>1</sup> (años)	52,7 ± 7,3	46,9 ± 10,3	0,306
<b>Género</b> <sup>2</sup> (m/f)	7/7.	7/7.	1
<b>Fumadores</b> <sup>2</sup>	4	2	0,628
<b>NIC</b> <sup>1</sup> (mm)	3,3 ± 0,8	3,1 ± 1,0	0,496
<b>PS</b> <sup>1</sup> (mm)	2,7 ± 0,6	2,5 ± 0,3	0,289
<b>IS</b> <sup>1</sup> (%)	41,1 ± 16,3	33,8 ± 16,1	0,325
<b>IP</b> <sup>1</sup> (%)	63,1 ± 18,5	52,1 ± 20,7	0,226

PAR: Pulido y Alisado Radicular; NIC: Nivel de Inserción Clínica; PS: Profundidad al Sondaje; IS: Índice de Sangrado; IP: Índice de Placa. <sup>1</sup>Test de Mann Whitney U; <sup>2</sup>Test exacto de Fisher

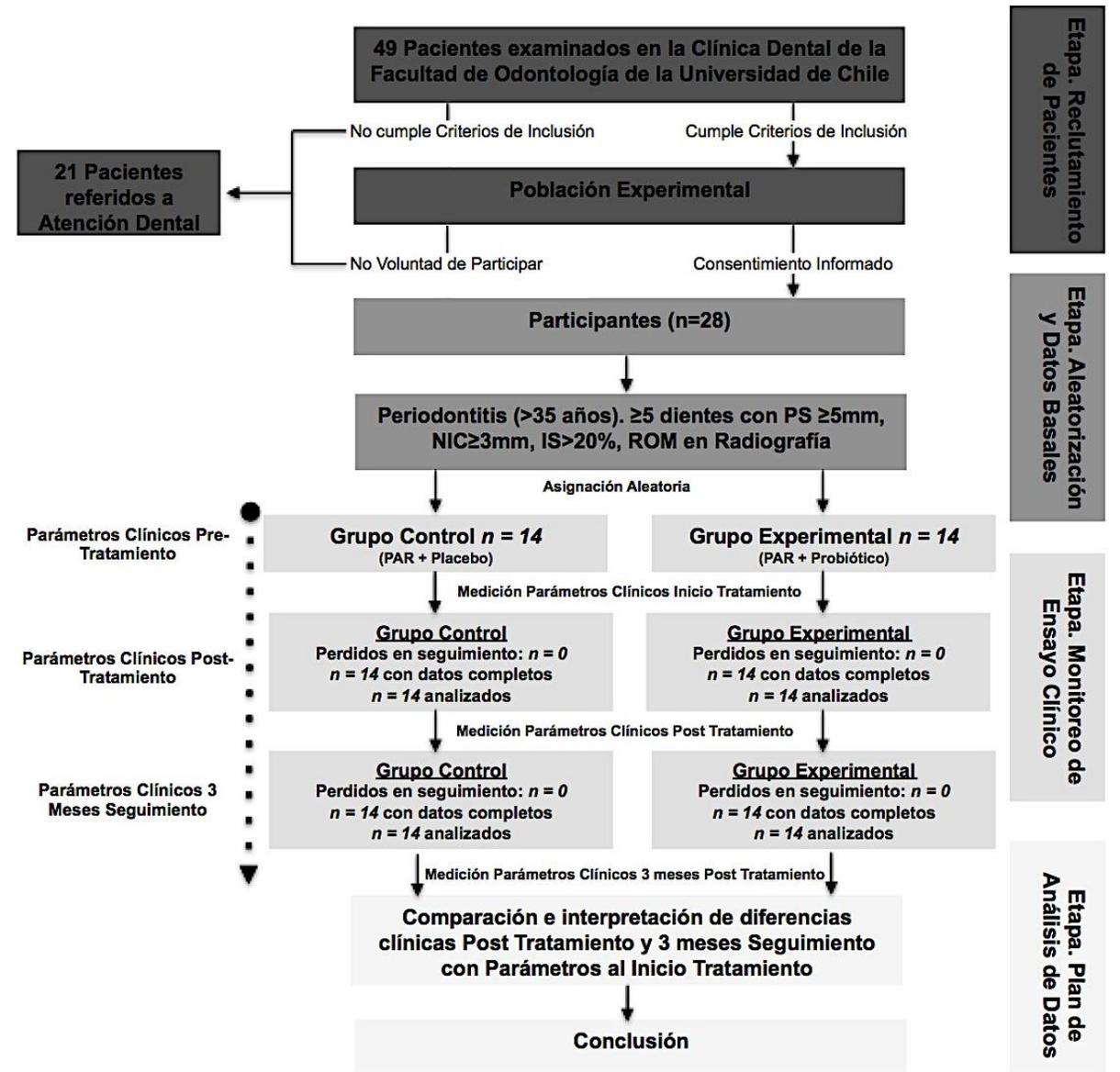


Figura 1. Flujograma.

En relación a los parámetros clínicos registrados al inicio del estudio, el NIC y la PS del grupo experimental fue en promedio de  $3,3 \pm 0,8$  mm y  $2,7 \pm 0,6$  mm respectivamente, mientras que en el grupo control fue de  $3,1 \pm 1,0$  mm y  $2,5 \pm 0,3$  mm. El IS registrado en el grupo experimental fue en promedio de  $41,1 \pm 16,3\%$  y en el grupo control  $33,8 \pm 16,1\%$ , a su vez, el IP en el grupo experimental fue en promedio de  $63,1 \pm 18,5\%$  y en el grupo control  $52,1 \pm 20,7\%$  correspondientemente. No se hallaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos (Tabla 6).

Al estratificar la muestra de los grupos experimental y control en el parámetro PS, se observó una media inicial de  $7 \pm 0$  mm en el grupo experimental y  $7,9 \pm 0,8$  mm para los sacos profundos,  $0,9 \pm 1,8$  mm y  $1,0 \pm 2,1$  mm respectivamente para el porcentaje de sitios mayor o igual a 7 mm y 4 pacientes respectivamente con sitios mayores o iguales a 7 mm. El número de pacientes con un RPE fueron 3 pacientes para el grupo experimental y 4 para el grupo control.

**Tabla 5.** Promedio  $\pm$  Desviación Estándar (DE) de las medidas de Profundidad al Sondaje (PS) al inicio y en los seguimientos.

Variable	Día 0		Término Intervención		Seguimiento 3 meses	
	PAR + Probióticos (n = 14)	PAR + Placebo (n = 14)	PAR + Probióticos (n = 14)	PAR + Placebo (n = 14)	PAR + Probióticos (n = 14)	PAR + Placebo (n = 14)
<b>PS (mm)</b>						
Total	2,7 $\pm$ 0,6	2,5 $\pm$ 0,3	2,2 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	2,1 $\pm$ 0,2 <sup>b</sup>	2,1 $\pm$ 0,4 <sup>a</sup>	2,2 $\pm$ 0,2 <sup>b</sup>
Sacos superficiales	2,2 $\pm$ 0,2	2,1 $\pm$ 0,2	1,9 $\pm$ 0,2 <sup>a</sup>	1,9 $\pm$ 0,2	2,1 $\pm$ 0,5	2,0 $\pm$ 0,3
Sacos medios	4,3 $\pm$ 0,3	4,5 $\pm$ 0,4	2,9 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	3,2 $\pm$ 0,9 <sup>b</sup>	2,8 $\pm$ 0,6 <sup>a</sup>	3,0 $\pm$ 0,7 <sup>b</sup>
Sacos profundos	7 $\pm$ 0	7,9 $\pm$ 0,8	3,8 $\pm$ 0,6	4,8 $\pm$ 1,6	3,3 $\pm$ 2,1	4,9 $\pm$ 0,2
<b>% Sitios con PS</b>						
$\geq 5$ mm	7,4 $\pm$ 10,6	5,8 $\pm$ 5,6	4,2 $\pm$ 8,7 <sup>a</sup>	2,2 $\pm$ 2,2	4,1 $\pm$ 8,9 <sup>a</sup>	2,7 $\pm$ 2,5
$\geq 6$ mm	2,9 $\pm$ 6,2	1,8 $\pm$ 2,9	1,6 $\pm$ 3,4	1,1 $\pm$ 1,7	1,0 $\pm$ 1,4	1,1 $\pm$ 1,3
$\geq 7$ mm	0,9 $\pm$ 1,8	1,0 $\pm$ 2,1	0,7 $\pm$ 1,3	0,1 $\pm$ 0,3	0,3 $\pm$ 0,5	0,4 $\pm$ 0,6
<b>% Dientes con PS</b>						
$\geq 5$ mm	24,3 $\pm$ 26,1	18,5 $\pm$ 14,6	12,2 $\pm$ 18,9 <sup>a</sup>	7,1 $\pm$ 5,4	11,9 $\pm$ 21,1 <sup>a</sup>	9,8 $\pm$ 8,2
$\geq 6$ mm	10,9 $\pm$ 20,7	4,5 $\pm$ 5,2	5,6 $\pm$ 11,5	3,4 $\pm$ 4,9	3,9 $\pm$ 5,2	4,6 $\pm$ 6,3
$\geq 7$ mm	4,4 $\pm$ 8,8	2,6 $\pm$ 4,8	2,9 $\pm$ 5,4	0,4 $\pm$ 1,2	1,4 $\pm$ 2,3	1,8 $\pm$ 2,9
<b>Número de pacientes con PS</b>						
$\geq 5$ mm	14	13	10	11	8 <sup>a</sup>	10
$\geq 6$ mm	11	7	6 <sup>a</sup>	6	7	8
$\geq 7$ mm	4	4	4	1	4	6
<b>Número de pacientes según el riesgo de progresión de la enfermedad (Lang y Tonetti, 2003)</b>						
Bajo RPE	10	7	13	10	11	11
Moderado RPE	1	3	0	4	2	2
Alto RPE	3	4	1	0	1	1

PAR: Pulido y Alisado Radicular; PS: Profundidad al Sondaje; RPE: Riesgo de Progresión de la Enfermedad. Las diferencias estadísticas entre el inicio de la intervención (Día 0) y los seguimientos (Término de intervención y 3 meses seguimiento) fue determinada usando los test Wilcoxon y de Mc Nemar (las letras "a" y "b" indican diferencias estadísticas entre los puntos de tiempo para los grupos de tratamiento y de placebo, respectivamente). Las diferencias estadísticas intergrupales en cada punto de tiempo fue determinada usando los test de U de Mann Whitney y Exacto de Fisher (\* $p < 0,05$ ).

Se observaron disminuciones en las medias de PS al término de la intervención y a los 3 meses de la intervención los cuales fueron registrados en la Tabla 5, encontrándose diferencias significativas entre los datos iniciales y los seguimientos para el total de los sitios en el grupo tratamiento como en el grupo placebo.

Además, disminuciones significativas fueron registradas para los sacos periodontales medios y para el porcentaje de sitios con una  $PS \geq 5$  mm, siendo en el primer caso para ambos grupos al finalizar la intervención, y en el segundo sólo para el grupo tratamiento, también en ambos puntos de tiempo. El porcentaje de dientes con una  $PS \geq 5$  mm disminuyó significativamente en el grupo tratamiento al finalizar la intervención y en los 3 meses seguimiento. El número de pacientes con una  $PS \geq 5$  mm también presentó una disminución significativa a los tres meses de seguimiento.

Continuando, se observó una disminución en las medias para el NIC de  $4,2 \pm 0,9$  mm inicial a  $3,9 \pm 1,2$  mm para el grupo experimental a los 3 meses de la intervención y desde un  $4,9 \pm 1,3$  mm inicial a  $4,3 \pm 1,6$  mm para el grupo control en el mismo período de tiempo. Para el IS, una disminución de  $41,1 \pm 16,3\%$  inicial a  $29,7 \pm 10,5\%$  para el grupo experimental y desde  $33,8 \pm 16,1\%$  inicial a  $27,9 \pm 8,9\%$  para el grupo control y para el IP una disminución desde  $63,1 \pm 18,5\%$  inicial a  $30,4 \pm 16,1\%$  para el grupo experimental y desde  $52,1 \pm 20,7\%$  inicial a  $29,0 \pm 14,5\%$  para el grupo control, ambos parámetros registrados a los 3 meses de la intervención (Tabla 6). Se encontraron diferencias significativas entre los datos iniciales y los seguimientos intragrupal para el IS e IP en el grupo experimental y para el IP en el grupo placebo. No se determinaron diferencias significativas intergrupales en ningún período de seguimiento.

**Tabla 6.** Promedio  $\pm$  Desviación Estándar (DE) de las medidas de Nivel de Inserción Clínica (NIC), Índice de Sangrado (IS) e Índice de Placa (IP) al inicio y en los seguimientos.

Variable	Día 0		Término Intervención		Seguimiento 3 meses	
	PAR + Probióticos (n = 14)	PAR + Placebo (n = 14)	PAR + Probióticos (n = 14)	PAR + Placebo (n = 14)	PAR + Probióticos (n = 14)	PAR + Placebo (n = 14)
<b>NIC (mm)</b>	4,2 $\pm$ 0,9	4,9 $\pm$ 1,3	3,8 $\pm$ 0,9 <sup>a</sup>	4,2 $\pm$ 1,4	3,9 $\pm$ 1,2	4,3 $\pm$ 1,6
<b>IS</b>						
Total	41,1 $\pm$ 16,3	33,8 $\pm$ 16,1	28,2 $\pm$ 10,2 <sup>a</sup>	23,6 $\pm$ 14,8 <sup>b</sup>	29,7 $\pm$ 10,5 <sup>a</sup>	27,9 $\pm$ 8,9
<b>IP</b>						
Total	63,1 $\pm$ 18,5	52,1 $\pm$ 20,7	31,2 $\pm$ 18,3 <sup>a</sup>	26,5 $\pm$ 15,1 <sup>b</sup>	30,4 $\pm$ 16,1 <sup>a</sup>	29,0 $\pm$ 14,5 <sup>b</sup>

PAR: Pulido y Alisado Radicular; NIC: Nivel de Inserción Clínica; IS: Índice de Sangrado e IP: Índice de Placa. Las diferencias estadísticas entre el inicio de la intervención (Día 0) y los seguimientos (Término de intervención y 3 meses seguimiento) fue determinada usando los test Wilcoxon y de Mc Nemar (las letras "a" y "b" indican diferencias estadísticas entre los puntos de tiempo para los grupos de tratamiento y de placebo, respectivamente). Las diferencias estadísticas intergrupales en cada punto de tiempo fue determinada usando los test de U de Mann Whitney y Exacto de Fisher (\* $p < 0,05$ ).

Finalmente, las mediciones para la PS fueron expresadas en deltas considerando las mediciones al inicio del estudio, al término de la intervención y a los 3 meses de la intervención. Se observó un delta promedio de disminución para los sitios periodontales en general de 0,5  $\pm$  0,2 mm para el grupo experimental y 0,4  $\pm$  0,4 mm para el grupo control al comparar los datos obtenidos al inicio y finalizando la intervención, y de 0,6  $\pm$  0,3 mm para el grupo experimental y de 0,4  $\pm$  0,4 mm para el grupo control al comparar los datos obtenidos al inicio y a los 3 meses después de la intervención. Para el porcentaje de sitios mayores o iguales a 6 mm se observó un delta promedio de disminución de 1,3  $\pm$  2,9% para el grupo experimental y 0,6  $\pm$  2,0% para el grupo control al comparar los datos obtenidos al inicio y finalizando la intervención, y de 1,9  $\pm$  5,1% para el grupo experimental y 0,7  $\pm$  2,6% para el grupo control al comparar los datos obtenidos al inicio y a los 3 meses después de la intervención. Amplios deltas fueron observados en el porcentaje de dientes con profundidades al sondaje mayores o iguales a 6 mm al comparar al término de la intervención y a los 3 meses de la intervención para el grupo experimental comparando con el grupo control (Tabla 7). Sin embargo, no se encontró diferencias significativas al realizar el análisis intergrupar del grupo tratamiento con el grupo placebo.

**Tabla 7.** Deltas  $\pm$  Desviación Standard (DS) de los parámetros clínicos.

Variable	Grupos Tratamiento			
	Día 0- Término Intervención		Día 0- Seguimiento 3 meses	
	PAR + Probióticos (n=14)	PAR + Placebo (n=14)	PAR + Probióticos (n=14)	PAR + Placebo (n=14)
<b>PS (mm)</b>				
Total	-0,5 $\pm$ 0,2	-0,4 $\pm$ 0,4	-0,6 $\pm$ 0,3	-0,4 $\pm$ 0,4
Sacos superficiales	-0,2 $\pm$ 0,2	-0,1 $\pm$ 0,2	-0,06 $\pm$ 0,4	-0,06 $\pm$ 0,3
Sacos medios	-1,5 $\pm$ 0,5	-1,3 $\pm$ 0,6	-1,5 $\pm$ 0,5	-1,4 $\pm$ 0,5
Sacos profundos	-1,0 $\pm$ 1,7	-0,9 $\pm$ 1,5	-1,1 $\pm$ 1,5	-0,9 $\pm$ 1,5
<b>% Sitios con PS</b>				
$\geq 5$ mm	-3,2 $\pm$ 2,8	-3,6 $\pm$ 5,3	-3,3 $\pm$ 2,9	-3,0 $\pm$ 5,6
$\geq 6$ mm	-1,3 $\pm$ 2,9	-0,6 $\pm$ 2,0	-1,9 $\pm$ 5,1	-0,7 $\pm$ 2,6
$\geq 7$ mm	-0,2 $\pm$ 0,7	-0,9 $\pm$ 2,1	-0,6 $\pm$ 1,9	-0,6 $\pm$ 2,0
<b>% Dientes con PS</b>				
$\geq 5$ mm	-12,1 $\pm$ 9,6	-11,4 $\pm$ 13,4	-12,3 $\pm$ 10,1	-8,6 $\pm$ 13,9
$\geq 6$ mm	-4,9 $\pm$ 10,1	-1,1 $\pm$ 4,1	-4,9 $\pm$ 10,1	0,1 $\pm$ 5,6
$\geq 7$ mm	-1,5 $\pm$ 4,6	-2,2 $\pm$ 4,6	-1,5 $\pm$ 4,6	-0,7 $\pm$ 4,6
<b>Inserción Ganada (mm)</b>	0,05 $\pm$ 0,1	0,7 $\pm$ 1,3	0,05 $\pm$ 0,1	0,7 $\pm$ 1,0
<b>IS (%)</b>	-12,9 $\pm$ 15,9	-10,3 $\pm$ 14,6	-12,9 $\pm$ 15,9	-5,9 $\pm$ 14,9
<b>IP (%)</b>	-32,0 $\pm$ 16,0	-25,6 $\pm$ 14,4	-32,0 $\pm$ 16,0	-23,0 $\pm$ 13,5

PAR: Pulido y Alisado Radicular; PS: Profundidad al Sondaje; IS: Índice de Sangrado e IP: Índice de Placa. Las diferencias estadísticas intergrupales en cada punto de tiempo fue determinada usando el test de U de Mann Whitney (\*p <0,05).

Los deltas de ganancia de inserción registrados al término de la intervención fueron de  $0,05 \pm 0,1$  mm para el grupo experimental y de  $0,7 \pm 1,3$  mm para el grupo control; los registrados a los 3 meses de la intervención fueron de  $0,3 \pm 0,6$  mm para el grupo experimental y de  $0,7 \pm 1,0$  mm para el grupo control. Para el IS, los deltas registrados fueron de  $12,9 \pm 15,9\%$  para el grupo experimental y de  $10,3 \pm 14,6\%$  para el grupo control al término de la intervención y de  $11,3 \pm 14,4\%$  para el grupo experimental y de  $5,9 \pm 14,9\%$  para el grupo control a los 3 meses de la intervención. Por último, para el IP los deltas registrados fueron de  $32,0 \pm 16,0\%$  para el grupo experimental y de  $25,6 \pm 14,4\%$  para el grupo control al término de la intervención y de  $32,7 \pm 11,4\%$  para el grupo experimental y de  $23,0 \pm 13,5\%$  para el grupo control a los 3 meses de la intervención.

## DISCUSIÓN.

Siguiendo los consejos de las revisiones sistemáticas, la influencia de los probióticos en la salud oral necesita aun datos más concluyentes. En este contexto, el objetivo de este ensayo clínico aleatorizado, enmascarado y controlado con un placebo fue evaluar el posible efecto de la administración diaria del probiótico *L. rhamnosus* SP1 en los parámetros clínicos periodontales en pacientes con periodontitis crónica tratados con terapia periodontal convencional no-quirúrgica, además de comparar dichos parámetros con un grupo control en el cual fue administrado un placebo, con un seguimiento de 3 meses post intervención.

Los resultado de este trabajo mostraron diferencias significativas intragrupalas al inicio de la intervención, finalizada la intervención y a los 3 meses de seguimiento, ya que el uso conjunto de terapia periodontal más la administración de probiótico mejoraron los parámetros clínicos con valores promedios para PS, IP e IS estadísticamente significativos al compararlos con el inicio de la terapia, en ambos grupos. Además, se observó un valor promedio de 0,05 mm de NIC ganado en el grupo con probiótico a los 3 meses, no encontrándose diferencia estadística. A su vez, disminuyó especialmente el porcentaje de sitios con una PS  $\geq$  5 mm, el número de sitios con una PS  $\geq$  5 mm y el número de pacientes con una PS  $\geq$  5 mm en el grupo con probiótico con una diferencia estadísticamente significativa al grupo control.

Los resultados muestran que los pacientes usando probióticos exhibieron significativamente menores sacos periodontales lo que produjo que más pacientes bajaran a la menor categoría en términos riesgo de progresión de la enfermedad según Lang & Tonetti (2003). Esto resultados pueden ser atribuidos a los efectos de la terapia periodontal convencional no-quirúrgica. Resultados similares fueron encontrados en el grupo placebo.

Recientemente, se pueden encontrar revisiones de probióticos y salud oral (Teughels et al. 2008, Teughels et al. 2011, Stamatova & Meurmann 2009, Yanine

2013). Varios estudios revelan que probióticos ayudan en reducir la inflamación gingival (Krasse et al. 2006, Twetman et al. 2008), mejoran la salud periodontal (Shimauchi et al, 2008) y disminuyen las concentraciones de periodontopatógenos incluyendo *P. gingivalis* en saliva y placa subgingival (Ishikawa et al. 2003, Matsuoka et al. 2006). En contraste, Staab et al. (2009) revela no haber encontrado cambios estadísticamente significativos en los parámetros clínicos de la gingivitis en un ensayo clínico piloto.

Según la literatura publicada, hasta ahora se han reportado algunos ensayos clínicos que utilizan probióticos agregados a la terapia periodontal, aunque sólo se han empleado especies de probióticos *L. reuteri*, *L. casei*, *Lactobacillus salivarius*, *L. brevis*, *Bacillus subtilis*, mas no se lograron encontrar estudios que utilicen la especie *L. rhamnosus* SP1 o su clon *L. rhamnosus* GG como coayudantes en el tratamiento de la periodontitis crónica (Krasse et al. 2006, Riccia et al. 2007, Shimauchi et al. 2008, Mayanagi et al. 2009, Tsubura S et al. 2009, Staab et al. 2009, Iwamoto et al. 2010, Vivekanada et al. 2010, Teughels W et al. 2013, Vicario et al. 2013, Maekawa, et al 2014, Ince G et al. 2015, Tekce M et al. , 2015).

Al realizar una revisión de trabajos publicados, encontramos algunos estudios que evalúan el impacto que pueden tener los probióticos en los parámetros clínicos como coadyuvante en el tratamiento inicial de la periodontitis en pacientes con enfermedad periodontal (Twetman et al. 2009, Staab et al. 2009, Vivekanada et al. 2010, Teughels et al. 2013, Vicario et al. 2013, Ince G et al. 2015). Aunque la duración de la ingesta del suplemento probiótico y los períodos de evaluación o seguimiento difieren entre los estudios, en términos generales los resultados de dichos estudios son consistentes con los encontrados en el presente trabajo de investigación.

El trabajo de Vivekanda MR et al. (2010), en el que evaluaron el efecto que presenta el probiótico *L. reuteri* administrado dos veces al día por tres semanas en el tratamiento de la enfermedad periodontal, en donde también observamos un tamaño muestral similar, aunque el seguimiento del trabajo fue de hasta 42 días.

Los resultados exhibidos también expresaron mejoras significativas en los parámetros clínicos de la periodontitis crónica en los seguimientos a los 21 y 42 días, sin embargo no se observan diferencias significativas intergrupales al comparar con el grupo placebo. Teughels et al. (2013) demostró una reducción significativa en sacos periodontales profundos y moderados cuando probióticos fueron usados como coadyuvantes en la terapia periodontal por 3 meses. Así mismo en 2013, Vicario M et al. realizaron un ensayo clínico también controlado con placebo, con una administración de 30 días de probióticos sin una intervención mecánica, lo que resultó en diferencias significativas en el porcentaje diario de sitios con una PS de 4-5 mm a favor del grupo probiótico.

Existe un estudio con un tamaño muestral y diseño similar (Tekce M et al., 2015), aunque con un seguimiento de hasta 1 año y con una especie de probiótico distinta, *L. reuteri*. El objetivo de este estudio fue evaluar los efectos clínicos y microbiológicos del probiótico mencionado como coadyuvante a una terapia periodontal inicial con dosis dos veces al día durante 3 semanas, y determinar si *L. reuteri* puede o no colonizar sacos periodontales en pacientes con periodontitis crónica. Los resultados de este estudio muestran diferencias significativas intergrupales versus placebo en los parámetros clínicos (profundidad al sondaje, índice de placa, índice de sangrado e índice gingival) para periodontitis. Reducciones significativas de PS fueron observadas en el grupo con probióticos versus el grupo placebo en los controles a los 21, 90, 180 y 360 días ( $p < 0,05$ ). Además, no se logró detectar a *L. reuteri* en los sacos periodontales más allá del día 180, aunque la detección del probiótico no es necesaria para observar sus efectos benéficos, tal como declaran algunos investigadores (Teughels et al. 2008, Teughels et al. 2011, Adams 2010). Mismos resultados (Ince G et al. 2015) fueron encontrados en un trabajo idéntico al recientemente mencionado, utilizando la misma cepa probiótica y con seguimiento a 360 días, también encontrando diferencias estadísticas intergrupales en todos los seguimientos.

De esta combinación de resultados, se puede especular que los probióticos podrían ser un adyuvante útil en el tratamiento periodontal convencional no-quirúrgico de sacos periodontales  $> 4$  mm en pacientes con periodontitis crónica.

Las diferencias en reducción de la PS en este estudio pueden ser atribuidos a todos las sustanciales acciones antimicrobianas mencionadas con anterioridad, sino también en su acción en una vasta variedad de células que modulan el sistema inmune hacia una acción anti-inflamatoria (Teughels et al. 2011). A pesar de estas afirmaciones, sería también difícil hacer conclusiones aludiendo a los resultados basados en la limitada cantidad de ensayos clínicos controlados sobre probióticos. Por otro lado, las reducciones en las medidas de PS seguidas de PAR para el grupo experimental fueron similares a las relatadas por la literatura en el rango de 0,4 – 1,7 mm para sacos periodontales medianos lo que es consistente con nuestros resultados (Hung & Douglass 2002).

Iniesta et al. (2012) reportó que la administración diaria de probióticos (*L. reuteri*) durante 4 semanas resultan en una reducción en el número de periodontopatógenos en la microbiota subgingival sin una asociación significativa en parámetros clínicos en pacientes con gingivitis. Hallström et al. demostraron que la ingesta diaria de dosis de probióticos por 3 semanas no afectan significativamente en la acumulación de placa, la reacción inflamatoria o la composición del biofilm durante gingivitis inducidas experimentalmente, aunque tratamientos periodontales realizados por un profesional fueron ejecutados en su estudio. Debido a que la disrupción del biofilm es obligatoria para que un agente terapéutico muestre resultados (Socransky & Haffajee 2002), la falta de una terapia periodontal inicial y adecuada puede ser la razón para los resultados distintos. En un intento por mejorar el impacto de las dosis de probióticos en nuestro estudio, la aplicación del probiótico en los pacientes fue realizada inmediatamente después de recibir la terapia periodontal, según recomienda Teughels (Teughels et al. 2011), además de ingerirla con agua todos los días después del cepillado nocturno durante 3 meses.

Es importante mencionar las limitaciones de los resultados obtenidos, en donde no se pudieron obtener diferencias significativas inter-grupales del grupo experimental y su control con placebo, en ningún periodo de seguimiento. A su vez, y pese a que el seguimiento en este estudio es mayor al que se observa en la mayoría de los trabajos publicados que se lograron revisar, un seguimiento a 3

meses podría no presentar los resultados potenciales que podrían mostrar los probióticos como coadyuvante en el tratamiento periodontal.

Ensayos clínicos con adecuados diseños, tamaños muestrales y seguimientos en el tiempo mayores serían recomendados. De esta misma forma es importante que puedan ser evaluados los efectos de otras cepas probióticas, con tal de aumentar la evidencia que existe actualmente respecto a los probióticos y la salud oral y permitan ir en dirección a poder determinar qué cepa de probiótico es más efectiva que otra para una enfermedad determinada, en qué dosis, en qué vía de administración y durante cuanto tiempo.

Los resultados obtenidos muestran significativamente una mejoría en los parámetros clínicos en el grupo probiótico al compararlos con el inicio del tratamiento lo que permite apoyar la idea de que *L. rhamnosus* SP1 podría generar mejorías en los parámetros clínicos como coadyuvante en el tratamiento de pacientes con periodontitis crónica.

## **CONCLUSIONES.**

Los parámetros clínicos de los pacientes en el grupo experimental mostraron una mejoría significativa al término de la intervención y a los 3 meses de seguimiento al ser comparados con el inicial, atribuibles al tratamiento periodontal no-quirúrgico combinado con el consumo diario de *L. rhamnosus* SP1.

Los resultados del presente estudio indican que no se encontraron diferencias significativas entre el grupo experimental y el grupo control en ninguno de los parámetros clínicos estudiados en los períodos de tiempo analizados.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

- Abbayya K, Puthanakar NY, Naduwinmani S, Chidambar YS (2015). Association between Periodontitis and Alzheimer's Disease. N Am J Med Sci. 2015 Jun;7(6):241-6. doi: 10.4103/1947-2714.159325.
- Ahrné S, Nobaek S, Jeppsson B, Adlerberth I, Wold AE, Molin G (1998). The normal *Lactobacillus* flora of healthy human rectal and oral mucosa. J Appl Microbiol. 1998 Jul;85(1):88-94.
- Aminabadi NA, Erfanparast L, Ebrahimi A, Oskouei SG (2011). Effect of chlorhexidine pretreatment on the stability of *salivary lactobacilli* probiotic in six- to twelve-year-old children: a randomized controlled trial. Caries Res. 2011;45(2):148-54. doi: 10.1159/000325741. Epub 2011 Mar 31.
- Armitage GC (1995). Clinical evaluation of periodontal diseases. Periodontol 2000. Feb;7:39-53.
- Armitage GC (1999). Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. Ann Periodontol. Dec;4(1):1-6.
- Armitage GC (2004). Periodontal diagnoses and classification of periodontal diseases. Periodontol 2000. 2004;34:9-21.
- Berezow AB, Darveau RP (2011). Microbial shift and periodontitis. Periodontol 2000. 2011 Feb;55(1):36-47. doi: 10.1111/j.1600-0757.2010.00350.x.

- Bernardeau M, Vernoux JP, Henri-Dubernet S, Guéguen M (2008). Safety assessment of dairy microorganisms: the *Lactobacillus* genus. *Int J Food Microbiol.* 2008 Sep 1;126(3):278-85. Epub 2007 Aug 22.
  
- Bizzini B, Pizzo G, Scapagnini G, Nuzzo D, Vasto S (2012). Probiotics and oral health. *Curr Pharm Des.* 2012;18(34):5522-31.
  
- Bosch JA, Turkenburg M, Nazmi K, Veerman EC, de Geus EJ, Nieuw Amerongen AV (2003). Stress as a determinant of saliva-mediated adherence and coadherence of oral and nonoral microorganisms. *Psychosom Med.* 2003 Jul-Aug;65(4):604-12.
  
- Capri M, Monti D, Salvioli S, Lescai F, Pierini M, Altília S, Sevini F, Valensin S, Ostan R, Bucci L, Franceschi C (2006). Complexity of anti-immunosenescence strategies in humans. *Artif Organs.* 2006 Oct;30(10):730-42.
  
- Chapat L, Chemin K, Dubois B, Bourdet-Sicard R, Kaiserlian D (2004). *Lactobacillus casei* reduces CD8+ T cell-mediated skin inflammation. *Eur J Immunol.* 2004 Sep;34(9):2520-8.
  
- Dutzan N, Rivas C, García-Sesnich J, Henríquez L, Rivera O, Dezerega A, Hernández M, Silva N, Aguillón JC, Puente J, Vernal R, Gamonal J (2011). Levels of interleukin-21 in patients with untreated chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2011 Oct;82(10):1483-9. doi: 10.1902/jop.2011.100449. Epub 2011 Mar 15.
  
- Eke PI, Dye BA, Wei L, Slade GD, Thornton-Evans GO, Borgnakke WS, Taylor GW, Page RC, Beck JD, Genco RJ (2015). Update on Prevalence of Periodontitis in Adults in the United States: NHANES 2009 to 2012. *J Periodontol.* 2015 May;86(5):611-22. doi: 10.1902/jop.2015.140520. Epub 2015 Feb 17.
  
- Espinoza I, Thomson WM, Gamonal J, Arteaga O (2013). Disparities in aspects of oral-health-related quality of life among Chilean adults. *Community Dent Oral Epidemiol.* 2013 Jun;41(3):242-50. doi: 10.1111/cdoe.12001. Epub 2012 Sep 15.

- Faveri M, Feres M, Shibli JA, Hayacibara RF, Hayacibara MM, de Figueiredo LC (2006). Microbiota of the dorsum of the tongue after plaque accumulation: an experimental study in humans. *J Periodontol.* 2006 Sep;77(9):1539-46.
  
- Gamonal J, Mendoza C, Espinoza I, Muñoz A, Urzúa I, Aranda W, Carvajal P, Arteaga O (2010). Clinical attachment loss in Chilean adult population: First Chilean National Dental Examination Survey. *J Periodontol.* 2010 Oct;81(10):1403-10. doi: 10.1902/jop.2010.100148.
  
- Gamonal JA, Lopez NJ, Aranda W (1998). Periodontal conditions and treatment needs, by CPITN, in the 35-44 and 65-74 year-old population in Santiago, Chile. *Int Dent J.* 1998 Apr;48(2):96-103.
  
- Gibson GR, Probert HM, Loo JV, Rastall RA, Roberfroid MB (2004). Dietary modulation of the human colonic microbiota: updating the concept of prebiotics. *Nutr Res Rev.* 2004 Dec;17(2):259-75. doi: 10.1079/NRR200479.
  
- Gjermo P, Rösing CK, Susin C, Oppermann R (2002). Periodontal diseases in Central and South America. *Periodontol 2000.* 2002;29:70-8.
  
- Goodson JM (1992). Diagnosis of periodontitis by physical measurement: Interpretation from episodic disease hypothesis. *J Periodontol* 63(4): 373-382.
  
- Grossi SG, Genco RJ (1998). Periodontal disease and diabetes mellitus: a two-way relationship. *Ann Periodontol.* Jul;3(1):51-61.
  
- Gurav AN (2014). Alzheimer's disease and periodontitis--an elusive link. *Rev Assoc Med Bras.* 2014 Mar-Apr;60(2):173-80.
  
- Haffajee AD, Socransky SS (2004). Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 1994 Jun;5:78-111.

- Haffajee AD, Socransky SS, Gunsolley JC (2003). Systemic anti-infective periodontal therapy. A systematic review. *Ann Periodontol*. 2003 Dec;8(1):115-81.
  
- Haffajee AD, Torresyap G, Socransky SS (2007). Clinical changes following four different periodontal therapies for the treatment of chronic periodontitis: 1-year results. *J Clin Periodontol*. 2007 Mar;34(3):243-53.
  
- Hallström H, Lindgren S, Yucel-Lindberg T, Dahlén G, Renvert S, Twetman S (2013). Effect of probiotic lozenges on inflammatory reactions and oral biofilm during experimental gingivitis. *Acta Odontol Scand*. 2013 May-Jul;71(3-4):828-33. doi: 10.3109/00016357.2012.734406. Epub 2013 Jan 7.
  
- Haukioja A (2010). Probiotics and oral health. *Eur J Dent*. 2010 Jul;4(3):348-55.
  
- Haukioja A, Loimaranta V, Tenovuo J (2008). Probiotic bacteria affect the composition of salivary pellicle and streptococcal adhesion in vitro. *Oral Microbiol Immunol*. 2008 Aug;23(4):336-43. doi: 10.1111/j.1399-302X.2008.00435.x.
  
- Haukioja A, Yli-Knuuttila H, Loimaranta V, Kari K, Ouwehand AC, Meurman JH, Tenovuo J (2006). Oral adhesion and survival of probiotic and other lactobacilli and bifidobacteria in vitro. *Oral Microbiol Immunol*. 2006 Oct;21(5):326-32.
  
- Herrera, D, Sanz M, Jepsen S, Needleman I, Roldán S (2002). A systematic review on the effect of systemic antimicrobials as an adjunct to scaling and root planing in periodontitis patients. *J Clin Periodontol*, 2002,29 Suppl 3, pp.136-59; discussion 160-2.
  
- Hung HC, Douglass CW (2002). Meta-analysis of the effect of scaling and root planing, surgical treatment and antibiotic therapies on periodontal probing depth and attachment loss. *J Clin Periodontol*. 2002 Nov;29(11):975-86.
  
- Iniesta M, Herrera D, Montero E, Zurbriggen M, Matos AR, Marín MJ, Sánchez-Beltrán MC, Llama-Palacio A, Sanz M (2012). Probiotic effects of orally

administered *Lactobacillus reuteri*-containing tablets on the subgingival and salivary microbiota in patients with gingivitis. A randomized clinical trial. J Clin Periodontol. 2012 Aug;39(8):736-44. doi: 10.1111/j.1600-051X.2012.01914.x. Epub 2012 Jun 13.

- Ishikawa H, Akedo I, Umesaki Y, Tanaka R, Imaoka A, Otani T (2003). Randomized controlled trial of the effect of bifidobacteria-fermented milk on ulcerative colitis. J Am Coll Nutr. 2003 Feb;22(1):56-63.

- Jindal G, Pandey RK, Agarwal J, Singh M (2011). A comparative evaluation of probiotics on salivary *mutans streptococci* counts in Indian children. Eur Arch Paediatr Dent. 2011 Aug;12(4):211-5.

- Juneja A, Kakade A (2012). Evaluating the effect of probiotic containing milk on salivary *mutans streptococci* levels. J Clin Pediatr Dent. 2012 Fall;37(1):9-14.

- Kato I, Yokokura T, Mutai M (1983). Macrophage activation by *Lactobacillus casei* in mice. Microbiol Immunol. 1983;27(7):611-8.

- Kazor CE, Mitchell PM, Lee AM, Stokes LN, Loesche WJ, Dewhirst FE, Paster BJ (2003). Diversity of bacterial populations on the tongue dorsa of patients with halitosis and healthy patients. J Clin Microbiol. 2003 Feb;41(2):558-63.

- Keijser BJ, Zaura E, Huse SM, van der Vossen JM, Schuren FH, Montijn RC, ten Cate JM, Crielaard W (2008). Pyrosequencing analysis of the oral microflora of healthy adults. J Dent Res. 2008 Nov;87(11):1016-20.

- Köll-Klais P, Mändar 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. 2005 Dec;20(6):354-61.

- Kornman KS (2008). Mapping the pathogenesis of periodontitis: a new look. J

Periodontol. Aug;79(8 Suppl):1560-8. doi: 10.1902/jop.2008.080213.

- Krasse P, Carlsson B, Dahl C, Paulsson A, Nilsson A, Sinkiewicz G (2006). Decreased gum bleeding and reduced gingivitis by the probiotic *Lactobacillus reuteri*. Swed Dent J. 2006;30(2):55-60.
- Kshirsagar AV, Craig RG, Moss KL, Beck JD, Offenbacher S, Kotanko P, Klemmer PJ, Yoshino M, Levin NW, Yip JK, Almas K, Lupovici EM, Usvyat LA, Falk RJ (2009). Periodontal disease adversely affects the survival of patients with end-stage renal disease. Kidney Int. 2009 Apr;75(7):746-51. doi: 10.1038/ki.2008.660. Epub 2009 Jan 21.
- Kshirsagar AV, Moss KL, Elter JR, Beck JD, Offenbacher S, Falk RJ (2005). Periodontal disease is associated with renal insufficiency in the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study. Am J Kidney Dis. 2005 Apr;45(4):650-7.
- Lang NP, Tonetti MS (2003). Periodontal risk assessment (PRA) for patients in supportive periodontal therapy (SPT). Oral Health Prev Dent. 2003;1(1):7-16.
- Latronico M, Segantini A, Cavallini F, Mascolo A, Garbarino F, Bondanza S, Debbia EA, Blasi G (2007). Periodontal disease and coronary heart disease: an epidemiological and microbiological study. New Microbiol. Jul;30(3):221-8.
- López-Píriz R, Aguilar, L, Giménez, MJ. Management of odontogenic infection of pulpal and periodontal origin Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2007;12:E154-9.
- Ma D, Forsythe P, Bienenstock J (2004). Live *Lactobacillus rhamnosus* [corrected] is essential for the inhibitory effect on tumor necrosis factor alpha-induced interleukin-8 expression. Infect Immun. 2004 Sep;72(9):5308-14.
- Maekawa T, Hajishengallis G (2014). Topical treatment with probiotic *Lactobacillus brevis* CD2 inhibits experimental periodontal inflammation and bone

loss. J Periodontal Res. 2014 Dec;49(6):785-91. doi: 10.1111/jre.12164. Epub 2014 Feb 1.

- Marsh PD (2005). Dental plaque: biological significance of a biofilm and community life-style. J Clin Periodontol. 2005;32 Suppl 6:7-15.

- Mauil S, Parampreet K, Virat G (2012) Probiotics-A new way to maintain oral health. Indian Journal of dentistry 3(2); 77-88.

- Mayanagi G, Kimura M, Nakaya S, Hirata H, Sakamoto M, Benno Y, Shimauchi H (2009). Probiotic effects of orally administered *Lactobacillus salivarius* WB21-containing tablets on periodontopathic bacteria: a double-blinded, placebo-controlled, randomized clinical trial. J Clin Periodontol. 2009 Jun;36(6):506-13. doi: 10.1111/j.1600-051X.2009.01392.x. Epub 2009 Apr 22.

- Meydani SN, Ha WK (2000). Immunologic effects of yogurt. Am J Clin Nutr. 2000 Apr;71(4):861-72.

- Mitchell-Lewis D, Engebretson SP, Chen J, Lamster IB, Papapanou PN (2001). Periodontal infections and pre-term birth: early findings from a cohort of young minority women in New York. Eur J Oral Sci. 2001 Feb;109(1):34-9.

- Morales A, Carvajal P, Romanelli H, Gómez M, Loha C, Esper ME, Musso G, Ardila CM, Duque A, Medina M, Bueno L, Andrade E, Mendoza C, Gamonal J (2015). Prevalence and predictors for clinical attachment loss in adolescents in Latin America: cross-sectional study. J Clin Periodontol. 2015 Sep 9. doi: 10.1111/jcpe.12452.

- Moreu G, Téllez L, González-Jaranay M (2005). Relationship between maternal periodontal disease and low-birth-weight pre-term infants. J Clin Periodontol. 2005 Jun;32(6):622-7.

- Nackaerts O, Jacobs R, Quirynen M, Rober M, Sun Y, Teughels W (2008). Replacement therapy for periodontitis: pilot radiographic evaluation in a dog model. *J Clin Periodontol.* 2008 Dec;35(12):1048-52. doi: 10.1111/j.1600-051X.2008.01333.x.
  
- Offenbacher S (1996). Periodontal diseases: pathogenesis. *Ann Periodontol.* 1996 Nov;1(1):821-78.
  
- Offenbacher S, Barros SP, Beck JD (2008). Rethinking periodontal inflammation. *J Periodontol.* 2008 Aug;79(8 Suppl):1577-84. doi: 10.1902/jop.2008.080220.
  
- Offenbacher S, Barros SP, Singer RE, Moss K, Williams RC, Beck JD (2007). Periodontal disease at the biofilm-gingival interface. *J Periodontol.* 2007 Oct;78(10):1911-25.
  
- Petti S, Tarsitani G, D'Arca AS (2001). A randomized clinical trial of the effect of yoghurt on the human salivary microflora. *Arch Oral Biol.* 2001 Aug;46(8):705-12.8.
  
- Pihlstrom, B. L., B. S. Michalowicz, et al. (2005). "Periodontal diseases." *Lancet* 366(9499): 1809-1820.
  
- Rakoff-Nahoum S, Paglino J, Eslami-Varzaneh F, Edberg S, Medzhitov R (2004). Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis. *Cell.* 2004 Jul 23;118(2):229-41.
  
- Riccia DN, Bizzini F, Perilli MG, Polimeni A, Trinchieri V, Amicosante G, Cifone MG (2007). Anti-inflammatory effects of *Lactobacillus brevis* (CD2) on periodontal disease. *Oral Dis.* 2007 Jul;13(4):376-85.
  
- Rudney JD (1995). Does variability in salivary protein concentrations influence oral microbial ecology and oral health? *Crit Rev Oral Biol Med.* 1995;6(4):343-67.
  
- Sha YQ, Huang Z, Chen ZB, Kang J, He L, Yu XQ (2009). Association between

periodontitis and preterm low birth weight. Beijing Da Xue Xue Bao. 2009 Feb 18;41(1):117-20.

- Shimauchi H, Mayanagi G, Nakaya S, Minamibuchi M, Ito Y, Yamaki K, Hirata H (2008). Improvement of periodontal condition by probiotics with *Lactobacillus salivarius* WB21: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. J Clin Periodontol. 2008 Oct;35(10):897-905. doi: 10.1111/j.1600-051X.2008.01306.x. Epub 2008 Aug 24.

- Socransky SS, Haffajee AD (2002). Dental biofilms: difficult therapeutic targets. Periodontol 2000. 2002;28:12-55.

- Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr (1998). Microbial complexes in subgingival plaque. J Clin Periodontol. 1998 Feb;25(2):134-44.

- Sookkhee S, Chulasiri M, Prachyabrued W (2001). Lactic acid bacteria from healthy oral cavity of Thai volunteers: inhibition of oral pathogens. J Appl Microbiol. 2001 Feb;90(2):172-9.

- Soskolne WA, Klinger A (2001). The relationship between periodontal diseases and diabetes: an overview. Ann Periodontol. Dec;6(1):91-8.

- Spahr A, Klein E, Khuseyinova N, Boeckh C, Muche R, Kunze M, Rothenbacher D, Pezeshki G, Hoffmeister A, Koenig W (2006). Periodontal infections and coronary heart disease: role of periodontal bacteria and importance of total pathogen burden in the Coronary Event and Periodontal Disease (CORODONT) study. Arch Intern Med. Mar 13;166(5):554-9.

- Staab B, Eick S, Knöfler G, Jentsch H (2009). The influence of a probiotic milk drink on the development of gingivitis: a pilot study. J Clin Periodontol. 2009 Oct;36(10):850-6. doi: 10.1111/j.1600-051X.2009.01459.x. Epub 2009 Aug 12.

- Stamatova I, Meurman JH (2009). Probiotics: health benefits in the mouth. *Am J Dent*. 2009 Dec;22(6):329-38.
  
- Teanpaisan R, Dahlén G (2006). Use of polymerase chain reaction techniques and sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for differentiation of oral *Lactobacillus* species. *Oral Microbiol Immunol*. 2006 Apr;21(2):79-83.
  
- Tekce M, Ince G, Gursoy H, Dirikan Ipci S, Cakar G, Kadir T, Yılmaz S (2015). Clinical and microbiological effects of probiotic lozenges in the treatment of chronic periodontitis: a 1-year follow-up study. *J Clin Periodontol*. 2015 Apr;42(4):363-72. doi: 10.1111/jcpe.12387. Epub 2015 Apr 10.
  
- Teles RP, Haffajee AD, Socransky SS (2006). Microbiological goals of periodontal therapy. *Periodontol 2000*. 2006;42:180-218.
  
- Teughels W, Durukan A, Ozcelik O, Pauwels M, Quirynen M, Haytac MC (2013). Clinical and microbiological effects of *Lactobacillus reuteri* probiotics in the treatment of chronic periodontitis: a randomized placebo-controlled study. *J Clin Periodontol*. 2013 Nov;40(11):1025-35. doi: 10.1111/jcpe.12155. Epub 2013 Sep 15.
  
- Teughels W, Loozen G, Quirynen M (2011). Do probiotics offer opportunities to manipulate the periodontal oral microbiota? *J Clin Periodontol*. 2011 Mar;38 Suppl 11:159-77. doi: 10.1111/j.1600-051X.2010.01665.x.
  
- Teughels W, Van Essche M, Sliepen I, Quirynen M (2008). Probiotics and oral healthcare. *Periodontol 2000*. 2008;48:111-47. doi: 10.1111/j.1600-0757.2008.00254.x.
  
- Tlaskalová-Hogenová H, Stepánková R, Hudcovic T, Tucková L, Cukrowska B, Lodinová-Zádníková R, Kozáková H, Rossmann P, Bártová J, Sokol D, Funda DP, Borovská D, Reháková Z, Sinkora J, Hofman J, Drastich P, Kokesová A (2004). Commensal bacteria (normal microflora), mucosal immunity and chronic

inflammatory and autoimmune diseases. *Immunol Lett.* 2004 May 15;93(2-3):97-108.

- Tonetti MS, Chapple IL; Working Group 3 of Seventh European Workshop on Periodontology (2011). Biological approaches to the development of novel periodontal therapies--consensus of the Seventh European Workshop on Periodontology. *J Clin Periodontol.* 2011 Mar;38 Suppl 11:114-8. doi: 10.1111/j.1600-051X.2010.01675.x.

- Tsubura S, Mizunuma H, Ishikawa S, Oyake I, Okabayashi M, Katoh K, Shibata M, Iizuka T, Toda T, Iizuka T (2009). The effect of *Bacillus subtilis* mouth rinsing in patients with periodontitis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2009 Nov;28(11):1353-6. doi: 10.1007/s10096-009-0790-9. Epub 2009 Aug 1.

- Twetman L, Larsen U, Fiehn NE, Stecksén-Blicks C, Twetman S (2009). Coaggregation between probiotic bacteria and caries-associated strains: an in vitro study. *Acta Odontol Scand.* 2009;67(5):284-8. doi: 10.1080/00016350902984237.

- Twetman S, Derawi B, Keller M, Ekstrand K, Yucel-Lindberg T, Stecksén-Blicks C (2009). Short-term effect of chewing gums containing probiotic *Lactobacillus reuteri* on the levels of inflammatory mediators in gingival crevicular fluid. *Acta Odontol Scand.* 2009;67(1):19-24. doi: 10.1080/00016350802516170.

- Twetman S, Stecksén-Blicks C (2008). Probiotics and oral health effects in children. *Int J Paediatr Dent.* 2008 Jan;18(1):3-10.

- Van der Velden U (2005). Purpose and problems of periodontal disease classification. *Periodontol 2000* 39:13-21.

- Vicario M, Santos A, Violant D, Nart J, Giner L (2013). Clinical changes in periodontal subjects with the probiotic *Lactobacillus reuteri* Prodentis: a preliminary randomized clinical trial. *Acta Odontol Scand.* 2013 May-Jul;71(3-4):813-9. doi: 10.3109/00016357.2012.734404. Epub 2012 Nov 26.

- Vivekananda MR, Vandana KL, Bhat KG (2010). Effect of the probiotic *Lactobacilli reuteri* (Prodentis) in the management of periodontal disease: a preliminary randomized clinical trial. J Oral Microbiol. 2010 Nov 2;2. doi: 10.3402/jom.v2i0.5344.
  
- Watts A, Crimmins EM, Gatz M (2008). Inflammation as a potential mediator for the association between periodontal disease and Alzheimer's disease. Neuropsychiatr Dis Treat. 2008 Oct;4(5):865-76.
  
- White RP Jr, Madianos PN, Offenbacher S, Phillips C, Blakey GH, Haug RH, Marciani RD (2002). Microbial complexes detected in the second/third molar region in patients with asymptomatic third molars. J Oral Maxillofac Surg. 2002 Nov;60(11):1234-40.
  
- Williams NT (2010). Probiotics. Am J Health Syst Pharm. 2010 Mar 15;67(6):449-58. doi: 10.2146/ajhp090168.
  
- Woodmansey EJ (2007). Intestinal bacteria and ageing. J Appl Microbiol. 2007 May;102(5):1178-86.
  
- Wu Z, Nakanishi H (2014). Connection between periodontitis and Alzheimer's disease: possible roles of microglia and leptomeningeal cells. J Pharmacol Sci. 2014;126(1):8-13. Epub 2014 Aug 29.
  
- Yanine N, Araya I, Brignardello-Petersen R, Carrasco-Labra A, González A, Preciado A, Villanueva J, Sanz M, Martin C (2013). Effects of probiotics in periodontal diseases: a systematic review. Clin Oral Investig. 2013 Sep;17(7):1627-34. doi: 10.1007/s00784-013-0990-7. Epub 2013 May 9.
  
- Yli-Knuuttila H, Snäll J, Kari K, Meurman JH (2006). Colonization of *Lactobacillus rhamnosus* GG in the oral cavity. Oral Microbiol Immunol. 2006 Apr;21(2):129-31.

- Yu YH, Chasman DI, Buring JE, Rose L, Ridker PM (2015). Cardiovascular risks associated with incident and prevalent periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 2015 Jan;42(1):21-8. doi: 10.1111/jcpe.12335. Epub 2015 Jan 9.

**ANEXOS Y APÉNDICES.**

**CUESTIONARIO DE SALUD BUCAL**

Día    Mes    Año  
[ ][ ][ ][ ][ ][ ]

Examinador  
[ ][ ][ ][ ]

Número de cuestionario  
[ ][ ][ ][ ][ ]

**INFORMACIÓN GENERAL**

Nombre: .....

Rut: [ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ] - [ ][ ]

Fecha Nacimiento    Día    Mes    Año  
[ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ]

Edad en Años    [ ][ ]

Sexo    0    mujer      
          1    hombre

Dirección de residencia: .....

Teléfono    C. Área    Número  
[ ][ ][ ] - [ ][ ][ ][ ][ ][ ][ ]

Comuna de Residencia: .....

**NIVEL SOCIOECONÓMICO**

1. ¿Cuál es su ocupación actual?

.....

2. ¿A qué sistema de previsión de salud pertenece usted?

- 0 Fonasa grupo A (Indigente)
- 1 Fonasa grupo B
- 2 Fonasa grupo C
- 3 Fonasa grupo D
- 4 Fonasa (no sabe el grupo)
- 5 Fuerzas Armadas y de Orden
- 6 Isapre
- 7 Otro    ¿Cuál?: .....

8 Ninguno

9 No sabe



- 1 1 vez al día, todos los días
- 2 2 veces al día, todos los días
- 3 3 o más veces al día, todos los días

9 ¿Usa usted cepillo para lavarse los dientes?

- 0 No
- 1 Sí

10 Si usa cepillo, ¿Qué tipo de cepillo usa usted?

- 0 Suave
- 1 Medio
- 2 Duro
- 3 No sabe

11 ¿Usa usted pasta de dientes?

- 0 No
- 1 Sí

12 ¿Además de pasta y cepillo, usa usted regularmente otro elemento para lavarse los dientes?

- 0 Ninguno
- 1 Seda dental
- 2 Enjuagatorio
- 3 Otro ¿Cuál? .....

#### HÁBITO TABÁQUICO

13 ¿Ha fumado usted alguna vez?

- 0 Nunca ha fumado
- 1 Fumaba pero lo dejó
- 2 Fuma actualmente

14 Si fuma, ¿Hace cuántos años lo hace?

 años

15 ¿Cuántos cigarrillos fuma usted en promedio al día?

 cigarrillos/día

16 ¿Ha intentado usted alguna vez dejar de fumar?

- 0 No

1 Sí

17 Si ha dejado de fumar, ¿cuánto tiempo lleva sin fumar?

meses

## ACTA DE APROBACIÓN DE PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

---

---

ACTA N°: 2012/08

1. Acta de aprobación de protocolo de estudio N° 2012/11
2. Miembros permanentes del Comité Ético-Científico de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile participantes en la aprobación del Proyecto:

**Dr. Juan Cortés**  
Presidente del CEC

**Dr. Eduardo Rodríguez**  
Miembro permanente del CEC

**Dra. Karin Lagos**  
Miembro permanente del CEC

**Dr. Alejandro Escobar**  
Miembro permanente del CEC

3. **Fecha de Aprobación:** 12/09/2012
4. **Título completo del proyecto:** “Biological plaque control in periodontal diseases: understanding variability of microbiome/immune response and implementation of a conventional periodontal treatment combined with probiotics” FONDECYT REGULAR id\_12566-3-1. Versión 04/07/2012
5. **Investigador responsable:** Dr. Jorge Gamonal Aravena, académico del Departamento de Odontología Conservadora Facultad de Odontología, Universidad de Chile
6. **Institución:** Facultad de Odontología, Universidad de Chile y Fondecyt
7. **Documentación Revisada:**
  - Protocolo versión en inglés del Proyecto: “Biological plaque control in periodontal diseases: understanding variability of microbiome/immune response and implementation of a conventional periodontal treatment combined with probiotics” FONDECYT REGULAR id\_12566-3-1. Versión 04/07/2012
  - Documentos de Consentimiento informado para Pacientes adultos, para padres de adolescentes y Asentimiento informado versión 12/09/2012
  - Currículo del investigador responsable y de Coinvestigadores

## ACTA DE APROBACIÓN DE PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN

**8. Carácter del estudio y de la muestra:** Ensayo Clínico Aleatorizado en doble ciego con uso de placebo. Se compararán dos tipos de tratamiento para la enfermedad periodontal en una población de adultos y de adolescentes.

**9. Fundamentación de la aprobación ética**

Este proyecto busca probar, basándose en el análisis de la microbiota oral, que un tratamiento para la enfermedad periodontal combinado con probióticos es mejor que los tratamientos estándares.

Los investigadores han incorporado en los documentos de consentimiento y asentimiento informado las siguientes modificaciones sugeridas por este Comité:

- La Modalidad de Notificación de efectos adversos.
- Un punto que señala que si los pacientes con periodontitis del grupo experimental no logran mejoría -como los pacientes del grupo control- serán tratados nuevamente sin costo asociado.

En consecuencia, el Comité Ético Científico de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, aprueba el estudio "Biological plaque control in periodontal diseases: understanding variability of microbiome/immune response and implementation of a conventional periodontal treatment combined with probiotics" FONDECYT REGULAR id\_12566-3-1, Versión 04 de Julio de 2012.

C/C.

Investigador Responsable

Secretaría C.E.C.



**María Angélica Torres V**  
**DDS, MSc, PhD**  
Presidente (S) del CEC