



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE PRÓTESIS
ÁREA DE PRÓTESIS REMOVIBLE
ASIGNATURA DE PRÓTESIS TOTALES**

**“EFECTO DEL CONSUMO DE UNA BEBIDA LÁCTEA ENRIQUECIDA CON
PROBIÓTICO DURANTE 6 MESES EN EL RECUENTO DE LEVADURAS DEL
GÉNERO *Candida* Y BACTERIAS DEL GÉNERO *Lactobacillus* EN ADULTOS
MAYORES PORTADORES DE PRÓTESIS REMOVIBLE CON Y SIN ESTOMATITIS
PROTÉSICA ASOCIADA A CANDIDIASIS ORAL”**

Daniela Andrea Cornejo Soto

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE

CIRUJANO-DENTISTA

TUTOR PRINCIPAL

Prof. Dra. Ximena Lee M.

TUTORES ASOCIADOS

Prof. Dra. Carla Lozano M.

Prof. Dr. Cristian Vergara N.

Adscrito a Proyecto FONIS SA13I10116

Santiago - Chile

2016



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
DEPARTAMENTO DE PRÓTESIS
ÁREA DE PRÓTESIS REMOVIBLE
ASIGNATURA DE PRÓTESIS TOTALES**

**“EFECTO DEL CONSUMO DE UNA BEBIDA LÁCTEA ENRIQUECIDA CON
PROBIÓTICO DURANTE 6 MESES EN EL RECUENTO DE LEVADURAS DEL
GÉNERO *Candida* Y BACTERIAS DEL GÉNERO *Lactobacillus* EN ADULTOS
MAYORES PORTADORES DE PRÓTESIS REMOVIBLE CON Y SIN ESTOMATITIS
PROTÉSICA ASOCIADA A CANDIDIASIS ORAL”**

Daniela Andrea Cornejo Soto

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE

CIRUJANO-DENTISTA

TUTOR PRINCIPAL

Prof. Dra. Ximena Lee M.

TUTORES ASOCIADOS

Prof. Dra. Carla Lozano M.

Prof. Dr. Cristian Vergara N.

Adscrito a Proyecto FONIS SA13I10116

Santiago - Chile

2016

DEDICATORIA

Dedicado a las dos mujeres que más admiro y amo en este mundo: a mi mamá Roxana Elena, por brindarme siempre su apoyo y cariño incondicional, por enseñarme el valor de la responsabilidad y perseverancia en el trabajo, por la educación que me entrega día a día y por ser mi gran ejemplo de mamá, esposa e hija; a mi abuelita Elena de las Mercedes, por ser mi profesora favorita y enseñarme desde pequeña la importancia de estudiar, por cuidarme y protegerme siempre, estoy infinitamente agradecida de todo lo que me han entregado en estos 25 años, es por eso, que esta tesis es para ustedes.

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, Roxana y Carlos, por su amor y cariño incondicional, por su paciencia y apoyo en todas mis decisiones, y por haberme dado la oportunidad de estudiar lo yo que quería.

A mis hermanos, Pablo y Rodrigo, por su compañía y preocupación.

A los amigos que forjé y me acompañaron en este camino, en especial a Valeska, por su amistad y apoyo en los buenos y malos momentos.

A la Dra. Ximena Lee, por otorgarme la posibilidad de ser partícipe de esta investigación y su ayuda en el desarrollo de este trabajo.

A la Dra. Carla Lozano, por su paciencia, compromiso y ayuda conmigo para llevar a cabo esta investigación.

Al Dr. Vergara, por su buena voluntad y ayuda en el área estadística de este trabajo.

ÍNDICE

RESUMEN	1
1. INTRODUCCIÓN Y MARCO TEÓRICO	3
1.1. Adultos mayores en Chile	3
1.2 Salud oral de los adultos mayores	3
1.3 Estomatitis protésica	5
1.4 Candidiasis oral	7
1.5 Tratamiento y prevención de EP asociada a candidiasis oral	8
1.6 Bacterias del género <i>Lactobacillus</i>	9
1.7 Probióticos	10
2. HIPÓTESIS	13
3. OBJETIVO GENERAL	13
4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
5. METODOLOGÍA	14
5.1 Tipo de estudio	14
5.2 Población objetivo y muestra	14
5.3 Definición de ciego	16
5.4 Preparación de bebidas lácteas	16
5.5 Técnicas de recolección de la información	17
5.6 Procesamiento de muestras	18
5.7 Plan de análisis de datos	20
6. RESULTADOS	21
6.1 Recuento de levaduras del género <i>Candida</i>	21
6.2 Recuento de bacterias del género <i>Lactobacillus</i>	25
7. DISCUSIÓN	28
7.1 Levaduras del género <i>Candida</i>	28
7.2 Bacterias del género <i>Lactobacillus</i>	32
8. CONCLUSIONES	36
9. PROYECCIONES DEL ESTUDIO	37
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39
11. ANEXOS Y APÉNDICES	46
11.1 Consentimiento informado	46
11.2 Ficha clínica	50

RESUMEN

Introducción: La población adulta mayor (60 años o más), ha ido en aumento en los últimos años en Chile. La enfermedad oral más prevalente en los sujetos portadores de prótesis removible de este grupo etario es la estomatitis protésica (EP), la cual se caracteriza por inflamación y eritema de la mucosa adyacente a la prótesis removible. La etiología es multifactorial, siendo uno de los principales factores los elevados recuentos de levaduras del género *Candida*. Debido a que el tratamiento convencional con fármacos no está exento de efectos adversos, en desmedro de la salud general de los adultos mayores, es que se han realizado novedosos estudios que involucran el uso de cepas de *Lactobacillus* como probióticos para el tratamiento de enfermedades infecciosas, incluida la estomatitis protésica asociada a candidiasis oral. El objetivo de este estudio es evaluar el efecto del consumo de un lácteo enriquecido con probiótico durante 6 meses en el recuento de levaduras del género *Candida* y bacterias del género *Lactobacillus* en adultos mayores portadores de prótesis removible con y sin estomatitis protésica asociada a candidiasis oral.

Metodología: En este estudio participaron 53 adultos mayores portadores de prótesis removible con y sin EP pertenecientes a un ELEAM y a la Clínica Odontológica de la Universidad de Chile (COUCH), respectivamente. Previa firma de consentimiento informado, a cada individuo se le realizó un examen clínico y ficha clínica para conformar los grupos de estudio: EP con probiótico (n=20), EP con placebo (n=15), sano con probiótico (n=8), sano con placebo (n=10). Se tomaron muestras de saliva no estimulada para su procesamiento y análisis, al inicio y a los 6 meses de tratamiento. Para el recuento microbiológico, diluciones de saliva se sembraron en medio Sabouraud-agar para levaduras del género *Candida* (LGC) y medio MRS agar para bacterias del género *Lactobacillus* (BGL). Los datos se analizaron con los Test estadístico Shapiro-Wilk y Wilcoxon, considerando significativo un valor $p < 0,05$.

Resultados: Al comparar los grupos de estudio al inicio y a los 6 meses de tratamiento, se observó una disminución significativa en los recuentos de LGC en los sujetos con EP que consumieron el probiótico. El grupo sano con probiótico y los grupos que consumieron el placebo presentaron una disminución en los

recuentos de LGC pero sin diferencia estadística. En relación al recuento de BGL, todos los grupos presentaron disminución pero ésta no fue significativa.

Conclusiones: El consumo de un lácteo enriquecido con probiótico, de manera regular, disminuye el recuento de LGC, en adultos mayores portadores de prótesis removible con estomatitis protésica asociada a candidiasis oral, sugiriendo su uso como coadyuvante en la prevención y tratamiento de esta enfermedad. El consumo de un lácteo enriquecido con probiótico influye en forma variable en el recuento de BGL. La asociación entre los *Lactobacillus* y su rol en la patogenia de la EP asociada a candidiasis oral aun no está definida.

1. INTRODUCCIÓN Y MARCO TEÓRICO

1.1 Adultos mayores en Chile

En las últimas décadas, la distribución de edad de la población mundial ha sufrido cambios significativos, debido a los avances en medicina y a la tendencia sostenida del aumento de la esperanza de vida, por lo que también, la proporción de adultos mayores (de 60 años o más), ha ido en aumento en comparación con otros grupos etarios (Petersen, 2003). Según estimaciones de la Organización de las Naciones Unidas, se calcula que para el año 2050 la población adulto mayor, superará inclusive la cantidad de adultos jóvenes.

A nivel nacional, los datos aportados por el Instituto Nacional de Estadística (INE), demuestran que nuestro país también está viviendo este proceso de transición demográfica. Según el censo del año 2002, un 11,4% de la población correspondían a adultos mayores; en el último censo aplicado el año 2012, esta cifra aumentó a un 15%, lo que corresponde 2,6 millones de adultos mayores en Chile; y se proyecta que para el año 2025 se superen los 3 millones de personas correspondientes a ese grupo etario (Pavez, 2003). A raíz de esto, es importante considerar qué se está haciendo en nuestro país para que este aumento en la expectativa de vida de las personas sea coherente con su calidad de vida, a nivel físico, mental y social.

1.2 Salud oral de los adultos mayores

Los adultos mayores es el grupo etario más dañado en su salud oral por no haber recibido durante su vida las medidas de prevención y tratamientos adecuados y oportunos para mantener su salud oral, lo que les ha significado presentar múltiples secuelas, tales como: gran desdentamiento, policaries, enfermedades gingivales y periodontales, y en algunos casos, infecciones de la mucosa oral. Asimismo pueden producirse cánceres bucales y observarse manifestaciones orales de enfermedades sistémicas (Petersen, 2005).

En la Encuesta Nacional de Salud aplicada en Chile en el año 2003, una de las patologías evaluadas fue el estado de salud oral de la población de 65 años y

más. Según los resultados arrojados por esta investigación, sólo el 1% de la población de esa edad tenía todos sus dientes, y la tercera parte de ella era desdentada total. Por otro lado, en el grupo de los desdentados parciales, el promedio de dientes remanentes fue de 7. Del total de adultos mayores evaluados, un 63,2% era portador de prótesis removible, de los cuales el 37,1% las utiliza en ambos maxilares, el 25,3% las porta únicamente en el maxilar superior y sólo el 0,8% usaba prótesis exclusivamente en el maxilar inferior (MINSAL, 2003).

Un importante problema de salud pública es planificar la salud oral para este grupo de pacientes, en los que evitar una mayor pérdida dentaria es de particular importancia, en conjunto con recuperar la función y estética alteradas por el desdentamiento (Preshaw y cols., 2011).

En Chile, para contribuir a mejorar los problemas de salud oral de la población adulta y en el marco de las Garantías Explícitas en Salud, se incorporó en el año 2007, la Garantía Salud Oral Integral para adultos de 60 años, cuyo objetivo es mejorar la accesibilidad, oportunidad, calidad y satisfacción usuaria a los beneficiarios legales de 60 años del sistema público de salud, realizando prestaciones odontológicas orientadas a disminuir el daño en salud oral y rehabilitar protésicamente la pérdida de dientes. La cobertura de este programa fue de un 27,7% de la población inscrita el año 2014, efectuándose un total de 38.000 prótesis dentales (MINSAL, 2015).

La rehabilitación oral en base a prótesis removible es una de las alternativas más utilizadas para tratar el desdentamiento en adultos mayores, debido a su bajo costo económico y fácil accesibilidad. Sin embargo, el uso de este tipo de prótesis tiene un costo biológico asociado a los tejidos orales, ya que impacta negativamente en diferentes aspectos de la salud oral, aumentando los niveles de placa bacteriana y gingivitis, así como también, la mayor probabilidad de desarrollar caries dentales, especialmente caries radiculares. Por lo que resulta necesario realizar periódicamente controles odontológicos para mantener la salud oral de este grupo de pacientes (Preshaw y cols., 2011). Asimismo, el uso de

prótesis removible incrementa la posibilidad de desarrollar lesiones en la mucosa oral; siendo la más prevalente, la estomatitis protésica (Espinoza y cols., 2003).

1.3 Estomatitis protésica

La estomatitis protésica (EP) se define como un proceso inflamatorio de la mucosa adyacente a la prótesis removible parcial o total (Budtz-Jorgensen, 1974). Clínicamente se caracteriza por ser una lesión que afecta el paladar duro, casi invariablemente asintomática, aunque en excepciones se puede presentar con dolor, prurito o sensación de ardor, y en ocasiones se asocia con queilitis angular y/o glositis romboidal media (Gendreau y Loewy, 2011; Figueiral y cols., 2007).

El diagnóstico de EP es clínico (Figura 1) y ha sido clasificada por Newton en 3 tipos de acuerdo a su severidad (Koeck, 2007):

- Hiperemia Puntiforme o tipo I: Lesión inflamatoria simple y localizada, caracterizada por la presencia de petequias en la mucosa que está en relación de contacto con la prótesis.
- Hiperemia difusa atrófica o tipo II: Lesión inflamatoria simple generalizada. Se observa eritema difuso sin hiperplasia en la mucosa de soporte de la prótesis.
- Hiperemia Papilomatosa o tipo III: Lesión inflamatoria crónica con hiperplasia papilar granulomatosa. Se ubica generalmente en la parte media del paladar duro o asociada a un reborde residual reabsorbido y móvil, en presencia de una prótesis removible en mal estado.

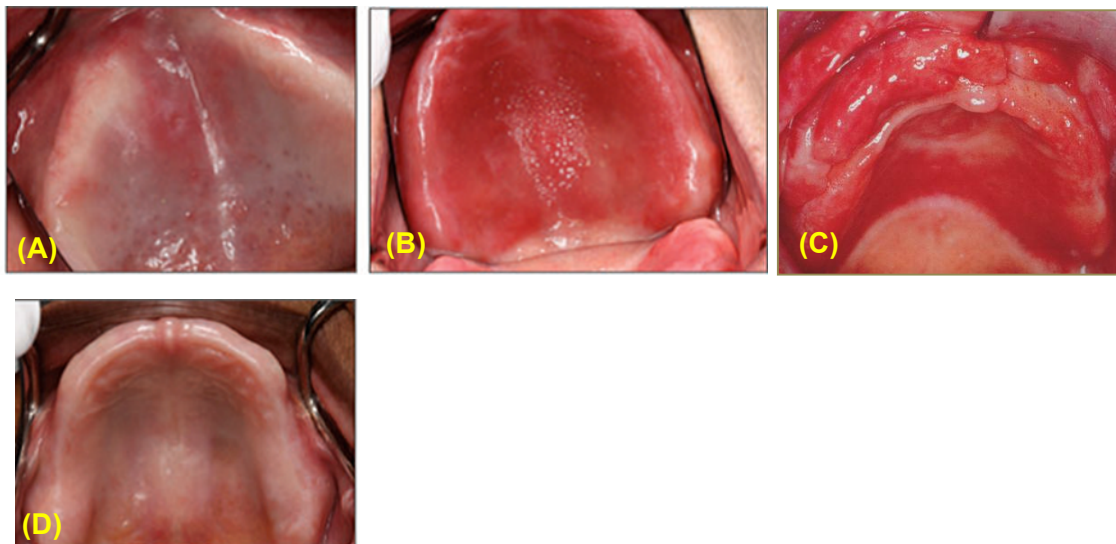


Figura 1: Fotografías clínicas de estomatitis protésica según estadios de Newton y en condiciones normales. (A): Tipo I; (B): Tipo II; (C): Tipo III; (D): Sano. Adaptado de Gendreau y cols., 2011.

Los estudios epidemiológicos sobre EP reportan una prevalencia de un 15 a un 70% de esta condición en portadores de prótesis removible, siendo mayor en sujetos ancianos y personas del género femenino (Gendreau y Lowey, 2011). La prevalencia de EP en pacientes con prótesis parcial removible varía entre un 1,1 a un 36,7%, mientras que en pacientes portadores de prótesis total removible esa cifra aumenta entre un 6,5 y 75% (Emami y cols., 2012).

La Etiología de EP es multifactorial, se asocia con los siguientes factores: (Emami y cols., 2012):

- Mecánico: mal estado de las prótesis, desajuste protésico, reacción al uso continuo (nocturno) de la prótesis.
- Microbiano: producto de la mala higiene oral y protésica, el microambiente oral que se genera en presencia de esta lesión oral favorece la proliferación de microorganismos patógenos. Los más relevantes en esta enfermedad son las levaduras del género *Candida* (LGC).
- Endógeno: flujo salival disminuido, reducción de defensas inmunitarias.
- Sistémico: ciertas enfermedades o condiciones sistémicas, como por ejemplo, Diabetes Mellitus, deficiencia de vitamina A, uso prolongado de antibióticos o inmunosupresores, entre otras.

- Asociado a los materiales: como reacción alérgica hacia algún componente del acrílico.
- Origen desconocido: idiopático.

Si bien EP es de origen multifactorial, la falta de higiene oral y protésica, en conjunto con el desajuste de las prótesis, son factores claves para el desarrollo de esta enfermedad. Sumado a esto, el rol de levaduras del género *Candida*, específicamente *Candida albicans*, en el desarrollo de EP, se ha asociado con el crecimiento patógeno de esta levadura en la superficie protésica y mucosa oral. Se ha demostrado que los recuentos de LGC son mayores en pacientes con estomatitis protésica en comparación con pacientes sanos portadores de prótesis removible (Gendreau y Loewy, 2011; Lee y cols., 2013).

1.4 Candidiasis oral

La candidiasis oral es una infección micótica oportunista predominantemente causada por *Candida albicans* en conjunto con otras especies del género *Candida* (Song, 2009).

La candidiasis oral se caracteriza clínicamente por la aparición de manchas o pápulas blanquecinas en la lengua, el interior de las mejillas y en el paladar, formando una capa mucosa cremosa y muy adherente. En algunos casos puede extenderse y cubrir la faringe, o incluso alcanzar las comisuras de la boca. En la mayoría de los casos, los pacientes con esta condición se quejan de dolor, molestias o con trastorno de sabor en la lengua (Hoshi y cols., 2011).

La candidiasis oral afecta principalmente a las personas con trastornos del sistema inmunológico, pacientes recibiendo quimioterapia para el tratamiento del cáncer o que estén consumiendo medicamentos inmunosupresores, pacientes infectados por el VIH y sujetos portadores de prótesis removible (Martins y cols., 2014).

Candida albicans es una levadura dimórfica, crece en forma unicelular o como hongo pluricelular dependiendo de las condiciones ambientales,

principalmente temperatura. Es capaz de vivir como organismo comensal normal en la cavidad oral de sujetos sanos. Es la levadura más frecuentemente aislada en la cavidad oral, la cual bajo ciertos factores, en un hospedero susceptible, se convierte en virulento desarrollando la enfermedad de candidiasis oral (Brooks y cols., 2002; Salerno y cols., 2011).

Se ha demostrado que la presencia de prótesis dentales removibles es un factor predisponente para la aparición de patologías relacionadas con *Candida*. Los estudios clínicos han demostrado que *C. albicans* no sólo es capaz de adherirse a las superficies mucosas, sino también a las resinas acrílicas de las prótesis dentales (Salerno y cols., 2011).

La estomatitis protésica asociada a *Candida* es la forma más prevalente de candidiasis oral y afecta alrededor del 60 a 75% de los portadores de prótesis. Un 71,4% de los pacientes diagnosticados con EP presenta colonización por *C. albicans*, siendo la principal especie patógena en EP, aunque diversos estudios han aislado otras especies también involucradas en la patogénesis, como *C. dubliniensis* o *C. glabrata* (William y cols., 2011; Salerno y cols., 2011).

Estudios clínico-microbiológicos han demostrado que el recuento de levaduras del género *Candida* es mayor en pacientes con EP y éste aumenta con la severidad según la clasificación de Newton, predominando *C. albicans* sobre *C. no albicans* (Lee y cols., 2013).

1.5 Tratamiento y prevención de EP asociada a candidiasis oral

La prevención de la EP asociada a candidiasis oral depende por un lado, del paciente, en la medida que él mantenga una buena higiene oral y protésica, no utilice las prótesis durante la noche y acuda a controles periódicos para evaluar el estado de su prótesis y salud oral general. Por otro lado, dependerá del odontólogo la confección de prótesis funcionales y correctamente adaptadas a los tejidos de soporte, además de brindarle al paciente la instrucción necesaria para la óptima higienización de su boca y de la prótesis (Felton y cols., 2011).

El tratamiento convencional de la EP asociada a candidiasis oral es mixto. Para controlar el factor mecánico, se desgasta la prótesis en las zonas de compresión de la mucosa y/o se realiza el rebasado de la prótesis con acondicionador de tejidos hasta que la mucosa y tejidos orales se encuentren sanos. Luego se confecciona una nueva prótesis, funcional y adaptada a los tejidos de soporte. Sumado a esto, es importante identificar y controlar los factores sistémicos del paciente que puedan predisponer o exacerbar el desarrollo de esta enfermedad. Además, el control del factor microbiano consta de instrucción de higiene oral y protésica, prohibición del uso nocturno de la prótesis y terapia farmacológica que incluye el uso de antifúngicos tópicos y/o sistémicos, siendo la nistatina y el fluconazol los más utilizados, respectivamente (Catalán, 1984; Salerno y cols., 2011; Williams y cols., 2011).

En la práctica clínica, algunos fármacos antifúngicos, como el miconazol, interactúan con otros fármacos e inducen alteraciones hepáticas en los pacientes, mientras que la nistatina tiene un sabor desagradable, y algunos individuos presentan problemas gastrointestinales, como náuseas, vómitos y diarrea. Por lo tanto, es deseable promover la salud a través de terapias naturales o alternativas (Oliver, 2004).

La Bacterioterapia es una forma alternativa y prometedora para combatir las infecciones mediante el uso de bacterias inocuas para desplazar microorganismos patógenos. Estudios *in vitro* y clínicos actuales, señalan el uso de probióticos como un tratamiento alternativo para la disminución de la infección por *Candida* en los portadores de prótesis removible (Caglar y cols., 2005; Hasslöf, 2010; Ishikawa y cols., 2015).

1.6 Bacterias del género *Lactobacillus* (BGL)

Los *Lactobacillus* son bacterias ácidos-lácticas, Gram-positivas, anaerobias facultativas, que crecen en diversidad de condiciones y forman parte de la microbiota normal de la boca, tracto gastrointestinal y genitourinario humano (Makarova, 2006; García, 2009). Son altamente acidogénicos y acidúricos; en la cavidad oral comprenden aproximadamente el 1% de la microbiota total cultivable

(Haukioja, 2010).

Los *Lactobacillus* ha sido uno de los géneros bacterianos mayormente estudiados por el rol de algunas de sus especies en la actividad de caries, específicamente en el avance de la caries dentinaria. En la cavidad oral, los *Lactobacillus* que encontramos con mayor prevalencia son: *L. paracasei*, *L. gasseri*, *L. fermentum* y en menor cantidad se pueden encontrar: *L. salivarius*, *L. plantarum*, *L. crispatus* y *L. rhamnosus* (Caglar y cols., 2005).

Se ha sugerido que no todas las cepas de *Lactobacillus* tienen un efecto inductor de caries (Näse y cols., 2001), por el contrario, estudios *in vitro* y clínicos han demostrado efectos beneficiosos de este género de bacterias. Por ejemplo, *Lactobacillus* pueden ejercer efectos positivos en la cavidad oral mediante inhibición de *Streptococcus* y crecimiento de *Candida*, además, la presencia de ciertas cepas de *Lactobacillus*, entre ellas, *L. paracasei*, disminuiría la adhesión de la levadura a células de la mucosa oral (Mailänder y cols., 2011; Badet y Thebaud, 2008; Meurman, 2005; Caglar y cols., 2005; He y cols., 2009; Haslöff y cols., 2010).

L. rhamnosus GG (ATCC 53103), es uno de los miembros del género *Lactobacillus* más estudiado. Fue aislado en 1985 inicialmente del intestino humano y se ha observado que produce compuestos con potencial actividad inhibitoria contra diferentes especies bacterianas, incluido los *Streptococcus* cariogénicos (Meurman, 2005).

1.7 Probióticos

Los probióticos se definen como “microorganismos vivos, principalmente bacterias, que son seguros para el consumo humano y, cuando se ingieren en cantidades suficientes, tienen efectos beneficiosos sobre la salud humana más allá de la nutrición básica”. Esta definición ha sido aprobada por la Organización de Alimentación y Agricultura de las Naciones Unidas (FAO) y la Organización Mundial de la Salud (OMS). Existen diversos tipos de probióticos, siendo los más reconocidos, por su aporte en la estimulación y modulación del sistema inmune:

Lactobacillus spp., *Bifidobacterium* spp. y *Saccharomyces boulardii* (Sazawal y cols., 2006; Bonifait y cols., 2009).

En la actualidad muchos estudios avalan el uso de probióticos como beneficio a la salud general de las personas. Existe evidencia científica que confirman sus potenciales benéficos en condiciones como infecciones gastrointestinales, genitourinarias, alergias, desórdenes de colon y hasta cáncer, entre otras funciones (Amara y Shibl, 2015).

El mecanismo de acción de estos microorganismos todavía no se ha logrado entender completamente, se han realizado algunas propuestas entre las que destacan: normalización de la microbiota intestinal, modulación de la respuesta inmune y efecto metabólico. Es importante mencionar que no todos los probióticos tienen la misma eficacia, puesto que cada cepa confiere distintos beneficios al hospedero. Asimismo se ha visto que la combinación de éstas pueden potenciar algunos efectos y comportarse de manera sinérgica (Haukioja, 2010; Meurman, 2005).

Los vehículos ideales para el consumo diario de probióticos, son los productos lácteos, como el yogur, la leche y el queso; considerando los beneficios nutricionales que proporcionan estos alimentos (Caglar, 2005).

Los estudios de probióticos en salud oral son relativamente nuevos. Se ha propuesto que las propiedades ideales de éstos serían: unión a superficies dentales, producción de sustancias antimicrobianas contra los patógenos orales, alteración de las condiciones ambientales de la cavidad bucal y reducción de la respuesta inflamatoria (Bonifait y cols., 2009).

Estudios clínicos recientes consideran a los probióticos como una alternativa de tratamiento válida en el control de las enfermedades periodontales, ya que mejora las condiciones del hospedero, reduce la profundidad de la bolsa, la inflamación, el sangrado gingival y la halitosis (Muñoz y Alarcón, 2010). Por otro lado, la evidencia científica señala que los probióticos disminuyen los recuentos de

Streptococcus mutans, sugiriendo un efecto positivo en la prevención de la caries dental (Laleman y cols., 2014).

En relación a probióticos y candidiasis oral, se ha observado que su uso puede aliviar síntomas y reducir el potencial patogénico de especies del género *Candida* (Stamatova y Meurman, 2009). Otras investigaciones han señalado que el consumo diario de un producto lácteo con probióticos en adultos mayores disminuye el recuento de LGC, lo que sugiere su posible uso en el control de la candidiasis oral (Hatakka y cols., 2007; Mendonça y cols., 2012).

Un reciente estudio observó el efecto de un producto probiótico con las cepas *L. rhamnosus*, *L. acidophilus* y *B. bifidum*, en pacientes de avanzada edad portadores de prótesis removible con candidiasis oral asintomática. La presentación de este producto fue en cápsulas, las cuales se utilizaron directamente en la mucosa palatal. Se concluyó que el producto probiótico fue eficaz para reducir la colonización de LGC en la cavidad oral, lo que sugiere su uso en la prevención y tratamiento de candidiasis oral (Ishikawa y cols., 2015).

Debido a que los estudios en relación a probióticos y candidiasis oral son escasos, sumado al hecho de que la EP asociada a candidiasis oral es una enfermedad prevalente en adultos mayores portadores de prótesis removible y cuyo tratamiento convencional no está exento de efectos adversos, en desmedro de la salud general de este grupo etario, es que, este estudio busca aportar evidencia para el consumo de probióticos como coadyuvante al tratamiento y prevención de la EP asociada a candidiasis oral. En este proyecto de investigación se realizó recuento de LGC y BGL en adultos mayores portadores de prótesis removible con y sin estomatitis protésica, que consumen leche enriquecida con o sin probiótico, al inicio y a los 6 meses de tratamiento.

2. HIPÓTESIS

Los adultos mayores portadores de prótesis removible con y sin estomatitis protésica asociada a candidiasis oral, que consumen leche enriquecida con probiótico, presentan una disminución en el recuento de levaduras del género *Candida* y diferencia en el recuento de bacterias del género *Lactobacillus*, en comparación con los adultos mayores portadores de prótesis removible con y sin estomatitis protésica asociada a candidiasis oral que consumen leche sin la adición del probiótico (placebo).

3. OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto del consumo de leche enriquecida y no enriquecida con probiótico en la ocurrencia de levaduras del género *Candida* (LGC) y bacterias del género *Lactobacillus* (BGL), en adultos mayores portadores de prótesis removible con y sin estomatitis protésica asociada a candidiasis oral.

4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 4.1 Cuantificar LGC, proveniente de sujetos portadores de prótesis removible con y sin estomatitis protésica asociada a candidiasis oral, los cuales consumen leche enriquecida con probiótico o placebo al inicio y a los 6 meses de tratamiento.
- 4.2 Cuantificar BGL, proveniente de sujetos portadores de prótesis removible con y sin estomatitis protésica asociada a candidiasis oral, los cuales consumen leche enriquecida con probiótico o placebo al inicio y a los 6 meses de tratamiento.
- 4.3 Comparar los resultados microbiológicos de los grupos de estudio al inicio y a los 6 meses de tratamiento.

5. METODOLOGÍA

5.1 Tipo de Estudio

Este estudio es un ensayo clínico controlado aleatorizado, triple enmascaramiento (ciego) de 6 meses de duración.

5.2 Población objetivo y muestra

Los sujetos de estudio fueron adultos mayores institucionalizados provenientes de ELEAM (establecimientos de larga estadía para adultos mayores), perteneciente a la Comuna de Independencia, Santiago, Región Metropolitana, Chile. Los sujetos sanos correspondieron a pacientes de la asignatura de Prótesis Totales de la Clínica Odontológica de la Universidad de Chile (COUCH). La muestra se conformó por sujetos de ambos sexos, según los criterios de inclusión y exclusión que se presentan a continuación:

Criterios de Inclusión:

- Adultos mayores (≥ 60 años) sanos, o con enfermedades de base controladas por el médico tratante, que utilicen prótesis removibles totales o parciales, ya sea de base metálica y/o acrílicas, con y sin signos clínicos de EP.
- Aceptación de participar en este estudio, previa firma del consentimiento informado (Anexo 11.1).

Criterios de Exclusión:

- Adultos mayores con enfermedades de base no controladas.
- No portadores de prótesis removible.
- Sujetos que manifiesten intolerancia a bebidas lácteas o alergia a alguno de sus componentes.
- Sujetos que estén bajo tratamiento antibiótico, antifúngico o esterooidal por cualquier vía de administración.
- Sujetos que requieran tratamiento odontológico de urgencia.
- No aceptación de participar en este estudio.

El número de individuos que conformó la muestra final del estudio se obtuvo luego de realizar el examen clínico y utilizar los criterios de exclusión en todos los adultos mayores que aceptaron participar tanto de los ELEM, como de la Clínica Odontológica de la Universidad de Chile.

Se examinaron a 129 adultos mayores, de los cuales 76 sujetos pertenecían a un ELEM y 53 sujetos asistían a la COUCH. La muestra final, que cumplía con los criterios de inclusión de esta investigación, en un principio estuvo conformada por 80 adultos mayores, 40 sujetos pertenecientes a un ELEM y 40 pacientes de la COUCH, sin embargo, a los 6 meses de estudio sólo quedaron 53 participantes. Las causas de la reducción de la muestra son diversas: algunos adultos mayores fueron trasladados a otros ELEM, se negaron a seguir participando, fallecieron o dejaron de asistir a la COUCH. Asimismo algunas muestras de saliva fueron insuficientes para su procesamiento en el laboratorio, por lo tanto, no se contabilizaron para la muestra final.

Se conformaron dos grupos según su condición: adultos mayores portadores de prótesis removible con EP asociada a candidiasis oral y adultos mayores portadores de prótesis removible sin EP. Luego, según el tipo de lácteo que consumieron, cada grupo se dividió aleatoriamente en dos nuevos subgrupos.

Finalmente, la muestra estuvo conformada por 35 (66%) adultos mayores portadores de prótesis removible con EP, que pertenecían a un ELEM y 18 (34%) adultos mayores portadores de prótesis removible sin EP, que asistían a la COUCH. Del grupo de estudio con EP, 15 de ellos consumieron el lácteo con probiótico y 20 sujetos el placebo. En el grupo de estudio de sujetos sin EP (sanos), 8 consumieron el lácteo con probiótico y 10 el placebo (Tabla 1). Todos los sujetos de estudio recibieron el tratamiento durante 6 meses.

Tabla 1: Grupos de estudio conformados con la muestra final.

Grupo de estudio	Descripción	n
Experimental	Adultos mayores portadores de prótesis removible con EP asociada a candidiasis oral que consumieron lácteo enriquecido con probiótico	n=20
	Adultos mayores portadores de prótesis removible con EP asociada a candidiasis oral que consumieron lácteo sin la adición del probiótico	n=15
Control	Adultos mayores portadores de prótesis removible sin EP que consumieron lácteo enriquecido con probiótico	n=8
	Adultos mayores portadores de prótesis removible sin EP que consumieron lácteo sin la adición del probiótico	n=10

5.3 Definición de ciego

Los clínicos examinadores, investigadores, encargados de los hogares, adultos mayores y quienes analizaron los datos, no tuvieron conocimiento del grupo de estudio que se les fue asignado.

5.4 Preparación de bebidas lácteas

Para los grupos que consumieron el probiótico: recibieron diariamente durante 6 meses, 200 mL de leche semidescremada con 10^7 UFC/gr de la cepa probiótica *L. rhamnosus* GG.

Para los grupos que consumieron el placebo: recibieron diariamente durante 6 meses, 200 mL de leche semidescremada sin la adición de la cepa probiótica (placebo).

La administración del lácteo fue para todos los grupos durante la mañana, entre 9 y 11 horas, en conjunto o no, con su desayuno regular. Ambos lácteos tuvieron la misma fórmula en polvo desarrollada con 18% de materia grasa, bajo poder higroscópico, fácil disolución y reconstitución. La información nutricional para una porción de 200 mL será: Energía: 130 Kcal; Proteínas: 6,5 g; Lípidos 6,5 g; Hidratos de carbono 9,3 g. Para evitar sesgos, ambos productos tuvieron las mismas características organolépticas y nutricionales.

Se trabajó con la empresa Macro Food S.A. ©, la cual siendo especialista en alimentos en polvo deshidratados y concentrados, se encargó de fabricar la leche en polvo tanto para los grupos que consumieron el probiótico como para los placebo.

5.5 Técnicas de recolección de la información

5.5.1 Examen clínico

Se diseñó una ficha clínica para esta investigación (Anexo 11.2), la cual tuvo como objetivo diagnosticar y clasificar a los sujetos de estudio. Los exámenes clínicos fueron realizados por dos equipos de odontólogos docente-clínicos, de las áreas de Rehabilitación Oral y Patología de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, capacitados y calibrados en el diagnóstico de lesiones de mucosa oral y determinar tipo de EP asociado al uso de prótesis removible. Se realizó una calibración a los examinadores, de acuerdo a los criterios de la OMS para el diagnóstico de lesiones de mucosa oral, aceptándose al menos un índice de Kappa de 0,7. Los exámenes clínicos se llevaron a cabo en la institución de residencia de cada adulto mayor perteneciente a un ELEM y en la Clínica Odontológica de la Universidad de Chile en

los pacientes de la asignatura de Prótesis Totales. Se utilizó un espejo dental y luz artificial tipo LED para el examen intraoral.

5.5.2 Métodos microbiológicos

5.5.2.1 Toma de muestras

La toma de muestras se llevó a cabo en cada institución partícipe de este estudio. Ese día, los sujetos debieron estar en ayunas mínimo dos horas, no fumar, ni realizar procedimientos de higiene oral previo a la toma de muestra. Asimismo se solicitó la suspensión de colutorios orales 15 días antes de la recolección.

Esta investigación tuvo dos fases de toma de muestras, una en tiempo cero, antes del consumo del lácteo con o sin probiótico, y otra a los 6 meses de tratamiento.

5.5.2.2 Muestra de saliva no estimulada

A cada sujeto se le solicitó asumir la posición de cochero descrita por Schultz y utilizada por Navazesh (1993), y depositar saliva durante 5 minutos en un tubo plástico estéril previamente pesado y rotulado. El traslado de las muestras se realizó en un medio refrigerado (4°C) al Laboratorio de Bioquímica y Biología Oral de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile. El procesamiento de muestras fue realizado antes de 4 horas desde la toma de éstas.

5.6 Procesamiento de muestras

5.6.1 Recuento de levaduras del género *Candida*

Para obtener la cantidad de unidades formadoras de colonias por mL de saliva (UFC/mL saliva), se realizó el método de recuento viable en medio selectivo sólido (placa agar). La muestra de saliva se homogeneizó en un Vortex (Thermolyne Maxi Mix II) durante 30s., para luego realizar una dilución 1/10 v/v en buffer salino fosfato (PBS 1x): 137 mM NaCl, 2,7 mM KCl, 10 mM Na₂HPO₄, pH 7,4 estéril. Luego se sembraron 100 μ L de la muestra de saliva directa (sin diluir) y 100 μ L

de la dilución, por duplicado, en placas de agar Sabouraud suplementados con tetraciclina a una concentración final de 5 µg/mL. Las placas se incubaron en estufa a 30°C durante 48 h.

Se realizó análisis macroscópico para contabilizar las colonias desarrolladas en las placas compatibles con LGC (Figura 2). El análisis microscópico se efectuó con un microscopio de transmisión con aumento 40X, esto fue para confirmar que las colonias observadas en las placas estén formadas por microorganismos micromorfológicamente compatibles con levaduras y descartar presencia de otros microorganismos como bacterias. El resultado de cada recuento se multiplicó por el factor de dilución.

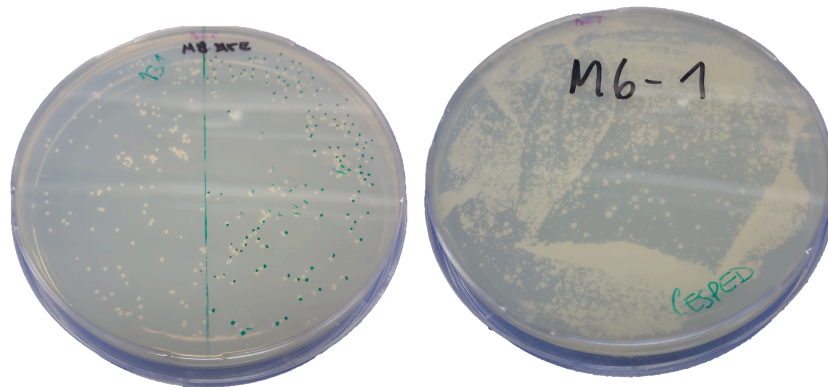


Figura 2: Placas de agar Sabouraud con colonias de levaduras del género *Candida* provenientes de muestras de saliva no estimulada de adultos mayores portadores de prótesis removible.

5.6.2 Recuento de bacterias del género *Lactobacillus*

Las muestras de saliva total fueron homogeneizadas y posteriormente diluidas 1/1000 y 1/10000 ν/ν en tampón PBS 1x. Se tomaron 100 µL de cada dilución para ser sembradas, por duplicado, en medio MRS agar para realizar el recuento de *Lactobacillus* spp. (Figura 3). Las placas fueron incubadas durante 24 h a 37°C y a una atmósfera de 5% CO₂. Transcurrido el tiempo de incubación, mediante análisis macroscópico, las colonias presentes en las placas fueron cuantificadas y expresadas como UFC/mL.

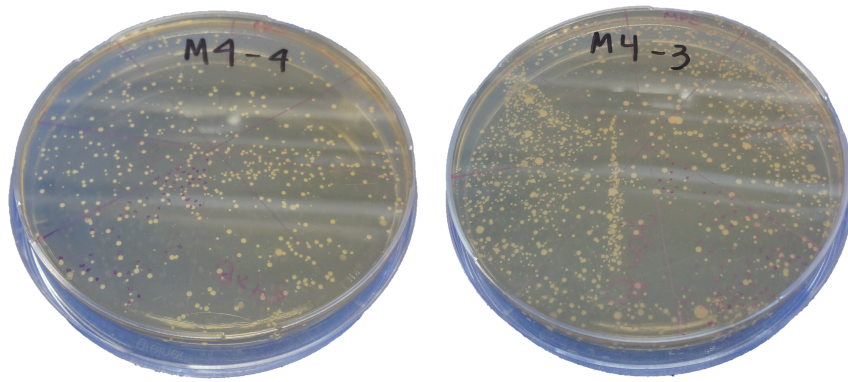


Figura 3: Placas de agar MRS con colonias de bacterias del género *Lactobacillus* provenientes de muestras de saliva no estimulada de adultos mayores portadores de prótesis removible.

5.7 Plan de análisis de datos

Los datos que se obtuvieron del recuento de microorganismos, fueron tabulados en una planilla Excel 2010® y procesados con el software estadístico Stata® versión 12. Las variables en estudio fueron los recuentos de LGC y BGL, las cuales fueron comparadas en tiempo 0 y 6 meses en los sujetos con o sin EP que consumieron leche enriquecida con probiótico o placebo.

Posteriormente, para evaluar si la distribución de estas variables cuantitativas son normales se aplicó el test Shapiro Wilk, obteniendo como resultado una distribución no normal para el recuento de *Candida* y *Lactobacillus* spp. Por lo tanto, para comparar los grupos de estudio se aplicó el test no paramétrico de Wilcoxon.

Debido a que el tamaño muestral del grupo de sujetos sanos que consumieron el lácteo enriquecido con probiótico es muy reducido, sólo se realizó un análisis descriptivo y no estadístico de éste.

6. RESULTADOS

En el presente estudio se midieron los recuentos de LGC y BGL en adultos mayores portadores de prótesis removible con y sin EP, que consumieron un lácteo enriquecido con probiótico o placebo durante 6 meses.

La muestra final fue conformada por 53 sujetos, de los cuales 76% (n=40) eran de género femenino y 24% (n=13) de género masculino; con un promedio de edad de 79,98 años (rango entre 60 y 109 años).

Antes de analizar las variables, se aplicó el Test de Shapiro-Wilk para determinar el tipo de distribución de datos, mostrando una distribución no normal ($p < 0,05$), tanto para el recuento de LGC, como para las BGL. Por consiguiente, se aplicó el Test de Wilcoxon en ambas variables para comparar los grupos de estudio en los dos períodos de tiempo.

6.1 Recuento de LGC en muestras de saliva pertenecientes a sujetos con y sin EP, antes y después del tratamiento lácteo con o sin probiótico.

En relación al análisis estadístico del recuento de LGC en todos los grupos de estudio, al inicio y a los 6 meses de tratamiento, los resultados son los siguientes:

- 6.1.1 En el grupo de adultos mayores con EP que consumieron el lácteo enriquecido con probiótico, el recuento LGC, al inicio del estudio, la mediana fue de 1987 (Rango 1734) UFC/mL, mientras que al medirla a los 6 meses de tratamiento ésta fue de 981,5 (Rango 865,63) UFC/mL (Figura 4), observándose una disminución en el recuento de LGC con diferencia estadísticamente significativa ($p = 0,0309$).

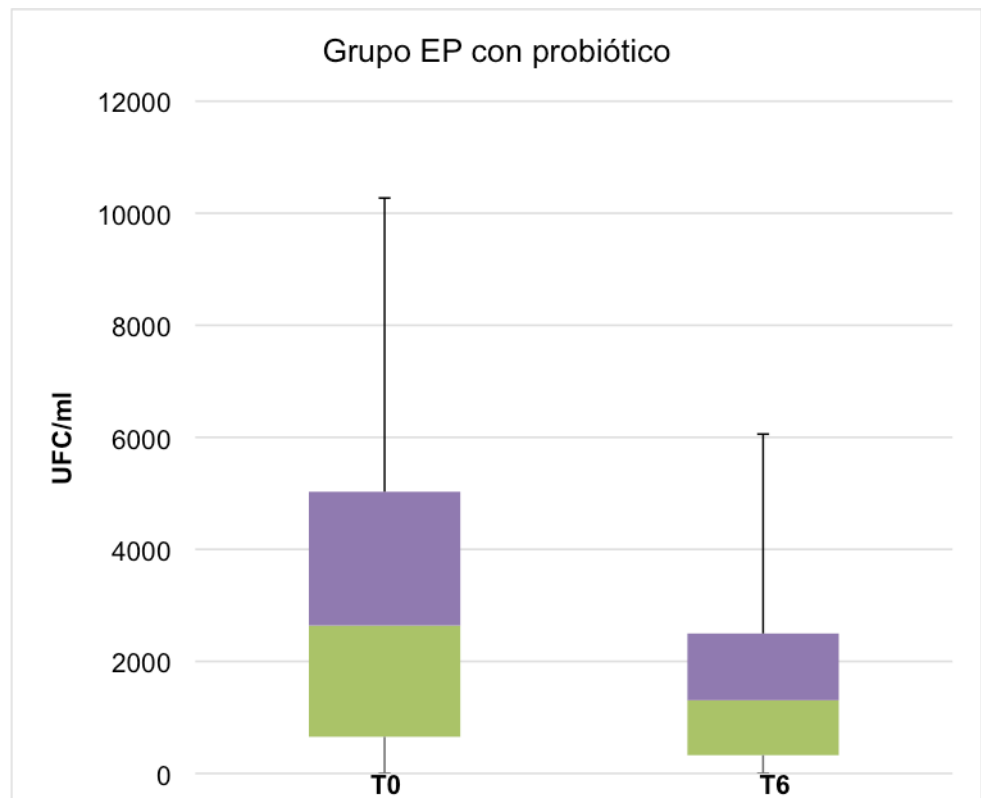


Figura 4: Recuento de LGC (UFC/mL) en sujetos con EP que consumieron lácteo con probiótico en tiempo 0 (T0) y 6 meses (T6). Con diferencia significativa ($p=0,0309$).

6.1.2 En el grupo de adultos mayores con EP que consumieron el lácteo sin la adición del probiótico, el recuento LGC, presentó una mediana de 2048,44 (Rango 1234,37) UFC/mL al inicio del estudio, mientras que después de 6 meses de tratamiento ésta fue de 1867,1 (Rango 6011,12) UFC/mL (Figura 5), observándose una disminución en el recuento de LGC sin diferencia estadística ($p=0,1790$).

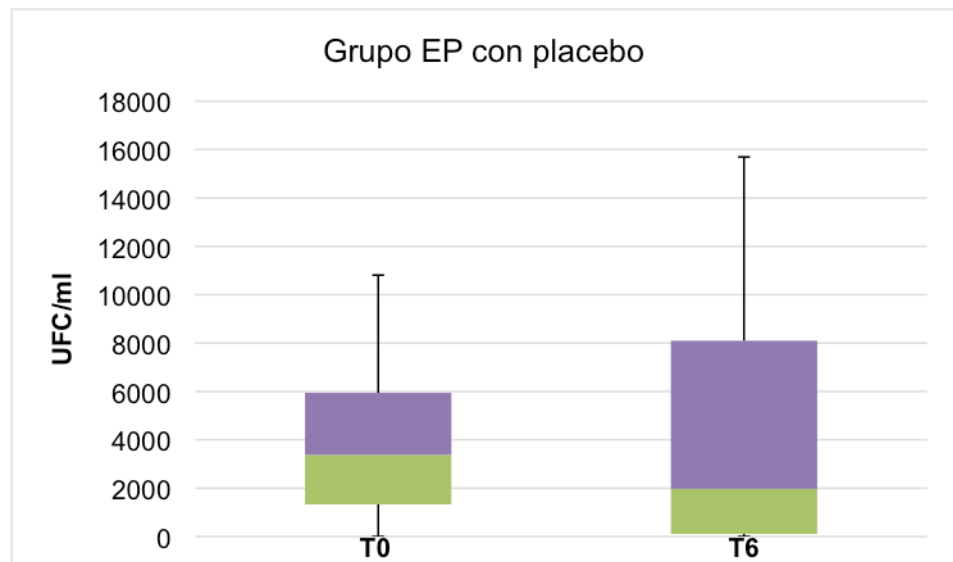


Figura 5: Recuento de LGC (UFC/mL) en sujetos con EP que consumieron lácteo sin la adición del probiótico en tiempo 0 (T0) y 6 meses (T6). n.s.:sin diferencias significativas.

6.1.3 En el grupo de adultos mayores sanos que consumieron el lácteo enriquecido con probiótico, el recuento de LGC, presentó una mediana de 84,125 (Rango 136,38) UFC/mL al inicio del estudio, mientras que después de 6 meses de tratamiento ésta fue de 61,875 (Rango 177,63) UFC/mL (Figura 6).

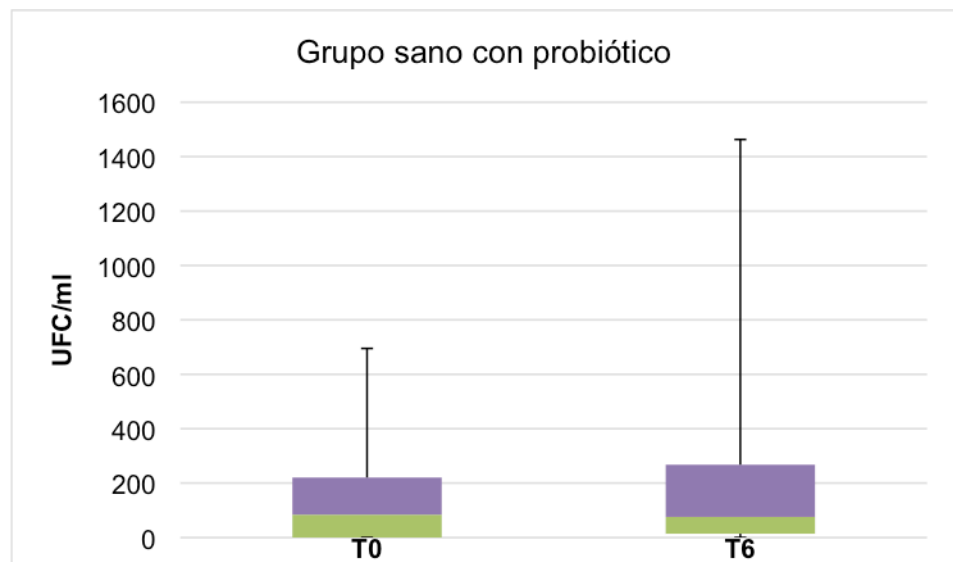


Figura 6: Recuento de LGC (UFC/mL) en sujetos sanos que consumieron lácteo con probiótico en tiempo 0 (T0) y 6 meses (T6).

6.1.4 En el grupo de adultos mayores sanos que consumieron el lácteo sin la adición del probiótico, el recuento de LGC, presentó una mediana de 524,75 (Rango 998,87) UFC/mL al inicio del estudio, mientras que después de 6 meses de tratamiento, ésta fue de 214,125 (Rango 623,57) UFC/mL (Figura 7), observándose una disminución en el recuento de LGC sin diferencia estadística ($p=0,9594$).

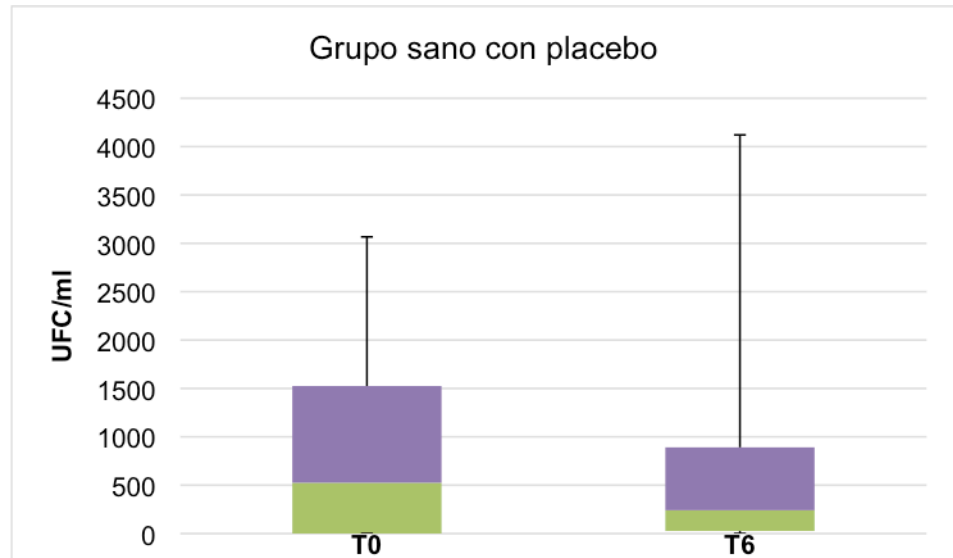


Figura 7: Recuento de LGC (UFC/mL) en sujetos sanos que consumieron lácteo sin la adición del probiótico en tiempo 0 (T0) y 6 meses (T6). n.s.:sin diferencias significativas.

A continuación se presenta un resumen de las medianas del recuento de LGC en tiempo 0 y 6 meses de todos los grupos de estudio, con su respectivo análisis estadístico (Tabla 2).

Tabla 2. Resumen del recuento de LGC y valor de p al inicio y a los 6 meses de tratamiento en todos los grupos de estudio.

Grupo de estudio	Tiempo 0 (UFC/mL)	Tiempo 6 meses (UFC/mL)	Diferencia estadística (p)
EP+ probiótico	1987	981,5	$p=0,0309$
EP + placebo	2048,44	1867,1	$p=0,1790$
Sano + probiótico	84,125	61,875	-
Sano + placebo	524,75	214,125	$p=0,9594$

Test de Wilcoxon; $p<0,05$ significativo.

6.2 Recuento de BGL en muestras de saliva pertenecientes a los sujetos con y sin EP, antes y después del tratamiento lácteo con o sin probiótico.

En relación al análisis estadístico del recuento de BGL en todos los grupos de estudio, al inicio y a los 6 meses de tratamiento, los resultados son los siguientes:

6.2.1 En el grupo de adultos mayores con EP que consumieron el lácteo enriquecido con probiótico, el recuento BGL, presentó una mediana de 165×10^4 (Rango 1397250) UFC/mL al inicio del estudio, mientras que después de 6 meses de tratamiento ésta fue de $109,5 \times 10^4$ (Rango 1018750) UFC/mL (Figura 8), observándose una disminución en el recuento de BGL sin diferencia estadística ($p=0,2115$).

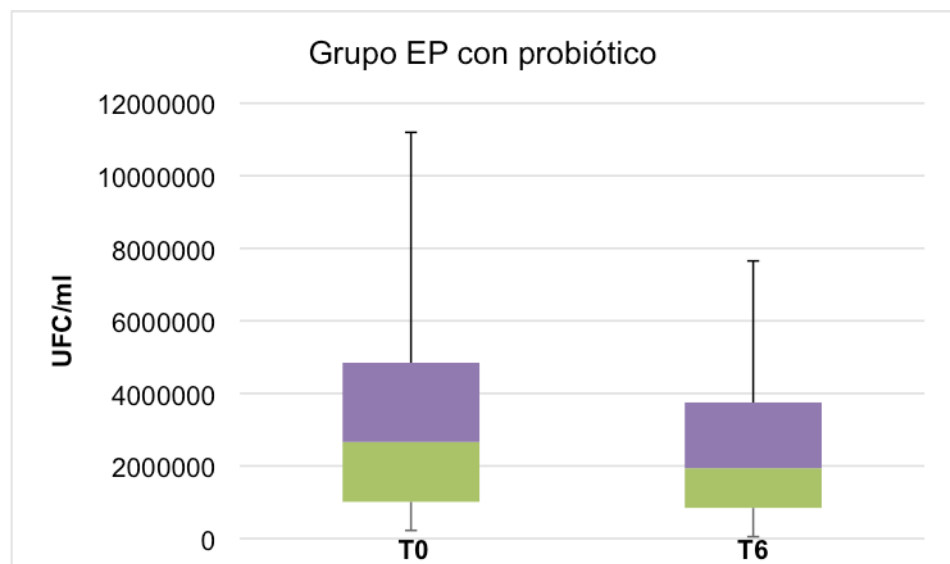


Figura 8: Recuento de BGL (UFC/mL) en sujetos con EP que consumieron lácteo con probiótico en tiempo 0 (T0) y 6 meses (T6). n.s.:sin diferencias significativas.

6.2.2 En el grupo de adultos mayores con EP que consumieron el lácteo sin la adición del probiótico, al inicio del estudio, el recuento de BGL presentó una mediana de $154,7 \times 10^4$ (Rango 1188687,5) UFC/mL, mientras que a los 6 meses de tratamiento ésta fue de 182×10^4 (Rango 1978875) UFC/mL (Figura 9), observándose una disminución

en el recuento de BGL sin diferencia estadística ($p=0,9702$).

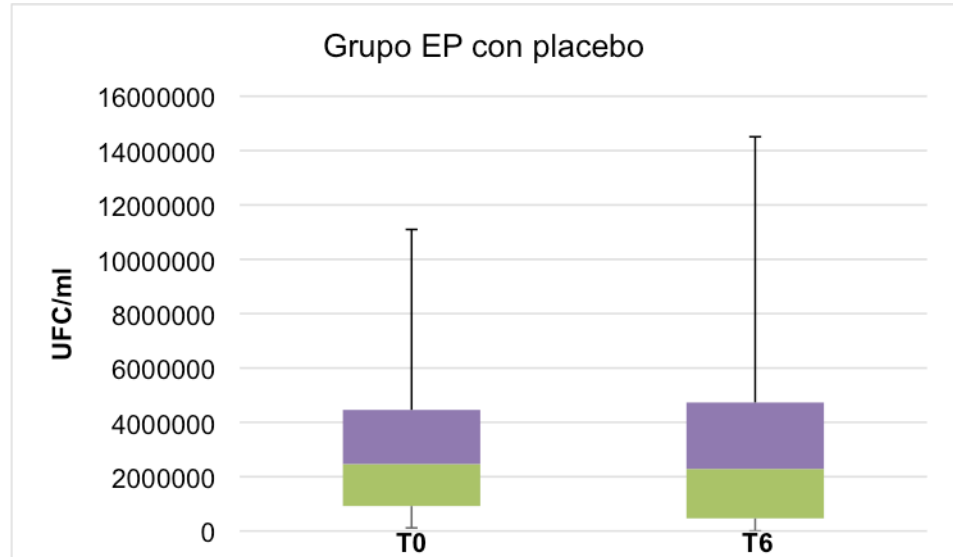


Figura 9: Recuento de BGL (UFC/mL) en sujetos con EP que consumieron lácteo sin la adición del probiótico en tiempo 0 (T0) y 6 meses (T6). n.s.:sin diferencias significativas.

6.2.3 En el grupo de adultos mayores sanos que consumieron el lácteo enriquecido con probiótico, el recuento de BGL, presentó una mediana de $296,6 \times 10^4$ (Rango 5964750) UFC/mL al inicio del estudio, mientras que ésta fue de $58,68 \times 10^4$ (Rango 453187, 5) UFC/mL a los 6 meses de tratamiento (Figura 10).

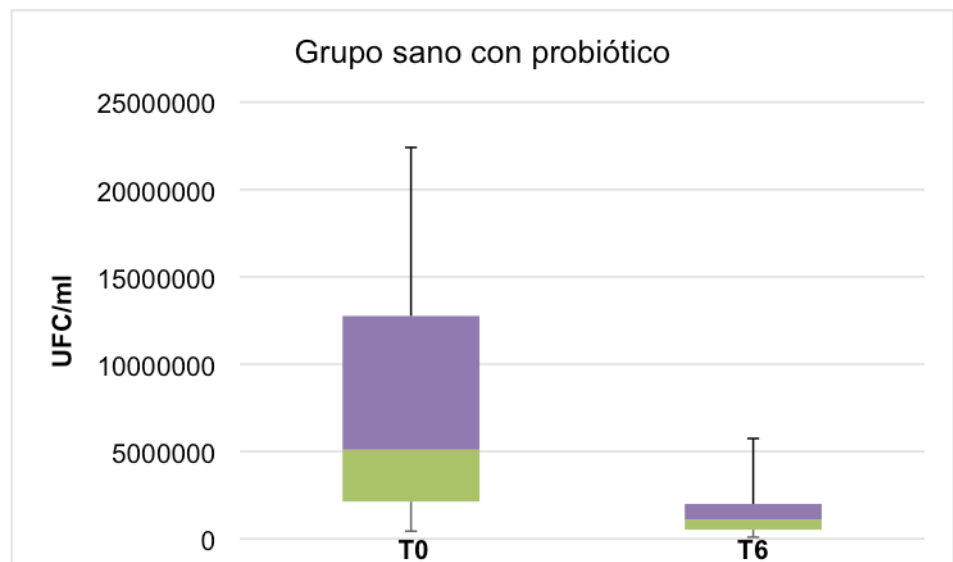


Figura 10: Recuento de BGL (UFC/mL) en sujetos sanos que consumieron lácteo con probiótico en tiempo 0 (T0) y 6 meses (T6).

6.2.4 En el grupo de adultos mayores sanos que consumieron el lácteo sin la adición del probiótico, al inicio del estudio, la variable BGL, presentó una mediana de $261,6 \times 10^4$ (Rango 6752375) UFC/mL, mientras que a los 6 meses de tratamiento ésta fue de $129,9 \times 10^4$ (Rango 2397750) UFC/mL (Figura 11), observándose una disminución en el recuento de BGL sin diferencia estadística ($p=0,2026$).

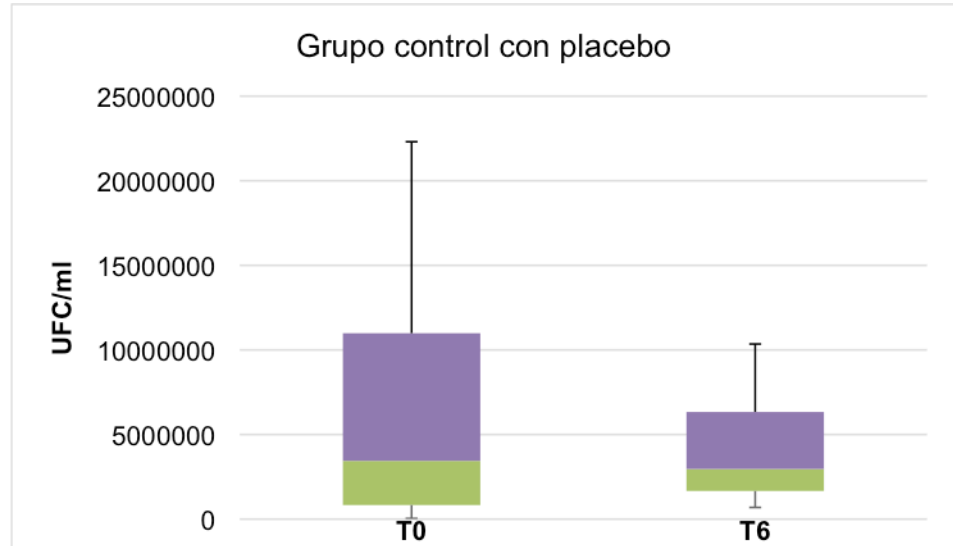


Figura 11: Recuento de BGL (UFC/mL) en sujetos sanos que consumieron lácteo sin la adición del probiótico en tiempo 0 (T0) y 6 meses (T6). n.s.: sin diferencias significativas.

A continuación se presenta un resumen de las medianas del recuento de BGL en tiempo 0 y 6 meses de todos los grupos de estudio, con su respectivo análisis estadístico (Tabla 3).

Tabla 3. Resumen del recuento de BGL y valor de p al inicio y a los 6 meses de tratamiento en todos los grupos de estudio.

Grupo de estudio	Tiempo 0 (UFC/mL)	Tiempo 6 meses (UFC/mL)	Diferencia estadística (p)
EP+ probiótico	165×10^4	$109,5 \times 10^4$	$p=0,2115$
EP + placebo	$154,7 \times 10^4$	182×10^4	$p=0,9702$
Sano + probiótico	$296,6 \times 10^4$	$58,68 \times 10^4$	-
Sano + placebo	$261,6 \times 10^4$	$129,9 \times 10^4$	$p=0,2026$

Test de Wilcoxon; $p < 0,05$ significativo.

7. DISCUSIÓN

Se ha evidenciado que un alto recuento de levaduras del género *Candida* se asocia fuertemente con la presencia clínica de estomatitis protésica (Lee y cols., 2013). Es por eso, que la disminución de los recuentos de levaduras beneficia directamente al estado de salud oral del individuo. Por otro lado, las bacterias del género *Lactobacillus*, han sido ampliamente estudiadas por su rol en la actividad de caries, no obstante, hay escasos estudios que relacionen este tipo de bacterias con estomatitis protésica (Caglar y cols., 2005). El uso de probióticos puede ser un enfoque complementario a los agentes antifúngicos en la prevención y tratamiento de estomatitis protésica asociada a candidiasis oral.

En el presente estudio se suministró diariamente una bebida láctea durante 6 meses enriquecida con probiótico o placebo en adultos mayores portadores de prótesis removible, con y sin estomatitis protésica asociada a candidiasis oral. El objetivo fue evaluar el efecto de un lácteo enriquecido con la cepa probiótica *L. rhamnosus* GG en los recuentos de levaduras del género *Candida* y bacterias del género *Lactobacillus*, durante 6 meses de tratamiento.

7.1 Levaduras del género *Candida*

El grupo de sujetos con EP que consumieron el lácteo enriquecido con probiótico, presentó una disminución con diferencia estadística, al comparar el recuento de LGC en tiempo 0 y 6 meses. Este resultado concuerda al reportado por Kraft-Bodi y cols. (2015), quienes realizaron un estudio experimental de 12 semanas de duración, en el cual, adultos mayores pertenecientes a hogares de reposo, consumieron diariamente una cápsula con 2 cepas del probiótico *Lactobacillus reuteri* (DSM PTA 17938 y ATCC 5289); y en este estudio se observó una disminución con diferencia estadística en el recuento de LGC en el grupo experimental, no así, en el grupo placebo. Si bien se utilizaron distintas cepas de *Lactobacillus* y diferente forma de administración, se puede reforzar la hipótesis de que el consumo diario de una cepa probiótica disminuye los recuentos de LGC, ayudando al estado de salud oral del individuo.

Uno de los primeros estudios relacionados con este tema, fue realizado por Hatakka y cols. (2007), cuyo objetivo fue evaluar el consumo diario de queso enriquecido con probióticos en el recuento de LGC, durante 16 semanas en sujetos adultos mayores sanos. Se observó una reducción del 32% en el recuento de LGC con diferencia estadística. No obstante, el vehículo de administración del probiótico y tiempo de tratamiento fueron distintos, sumado a que los sujetos de estudio diferían en su condición de salud oral, se puede decir que el resultado del grupo experimental con probiótico en esta investigación es similar al reportado por estos autores.

Otro reciente estudio (Ishikawa y cols., 2015), tuvo como objetivo evaluar el efecto a corto plazo de los probióticos en la reducción del nivel de infección por *Candida* en adultos mayores portadores de prótesis removible con candidiasis oral. A diferencia del presente estudio, en éste se utilizaron cápsulas con bacterias liofilizadas (*L. rhamnosus* HS111, *L. acidophilus* HS101 y *Bifidobacterium bifidum*) de manera tópica, directamente en la superficie palatal de los sujetos, una vez al día durante 5 semanas. Se observó una disminución con diferencia estadística en el recuento de LGC en el grupo experimental, lo que determinó que el producto probiótico de múltiples especies fue eficaz en la reducción de la colonización de LGC en la cavidad oral. Si bien este estudio es novedoso, el uso tópico de estas bacterias podría tener un costo y complejidad de uso mayor que el consumo de un lácteo enriquecido con ellas, considerando además que consumir vía sistémica una bebida láctea enriquecida con probióticos no sólo actúa en la ecología oral, sino también en todo el sistema inmune del individuo. Deberían realizarse más estudios que aborden esta comparación, para justificar el uso de una u otra forma de administración.

En el grupo de sujetos con EP que consumieron el placebo, no era de esperarse una gran variación en el recuento de LGC, sin embargo, se observó una disminución a los 6 meses de tratamiento, aunque sin diferencia estadística. Este resultado es disímil al observado por Hatakka y cols. (2007), en cuya investigación se observó un aumento en los recuentos obtenidos en el grupo control a la octava semana de estudio. Por otro lado, en la investigación realizada por Kraft-Bodi y

cols. (2015), el grupo placebo no presentó diferencias en el recuento de LGC a las 16 semanas de estudio. Aunque estos resultados difieren, ya era de esperarse que el grupo placebo no presentara cambios significativos, contrastando la hipótesis de que el no consumir un probiótico diariamente, no provoca variación en el recuento de LGC, por lo tanto no beneficia la ecología oral del hospedero.

Una investigación realizada por Mendonça y cols. (2012), evaluaron si el consumo del probiótico Yakult LB® (*Lactobacillus casei* y *Bifidobacterium breve*), durante 30 días, es capaz de influir en la respuesta inmunológica específica contra *Candida* y la presencia de estas levaduras en la cavidad oral de adultos mayores sanos. Los resultados mostraron una reducción con diferencia estadística en los recuentos de LGC. Este resultado se asemeja al observado en el grupo sano con probiótico de esta investigación, que si bien no tuvo análisis estadístico por el tamaño muestral reducido, sí presentó una disminución del recuento de LGC a los 6 meses de tratamiento.

El hecho de que no se cumpliera parte de la hipótesis de esta investigación, la disminución en el recuento de LGC en el grupo de sujetos sanos que consumieron el probiótico, puede deberse a las pérdidas de muestras pertenecientes a este grupo de estudio, lo que ocasionó una reducción del tamaño muestral final, por lo que estos resultados son poco representativos. Por otro lado, como era de esperar, el grupo control que consumió el placebo, no reportó disminución con diferencia estadística en el recuento de LGC.

Si bien no fue significativa la diferencia en el recuento de LGC en los grupos que consumieron el placebo a los 6 meses de tratamiento, es interesante que disminuya el recuento numéricamente. Esto podría deberse al compromiso que adquirieron los participantes con el estudio, ya que en un principio se les explicó que esta bebida láctea puede mejorar su estado de salud oral, y adoptaron mejores hábitos de higiene oral y protésica, sobre todo los pacientes que asistían regularmente a la COUCH.

Es importante señalar que esta investigación se enmarcó en el área

microbiológica de la EP asociada a candidiasis oral, y los cambios clínicos de la lesión por EP en los pacientes fue controlada por otra tesis en paralelo que está en desarrollo adscrito a este proyecto FONIS, no obstante, se puede especular que en el grupo experimental que consumió el probiótico y presentó disminución en el recuento de LGC, es posible haya tenido cambios clínicos beneficiosos en torno a la mucosa afectada por EP, puesto que al existir menos levaduras, hay menos factores de virulencia afectando al tejido directamente.

El mecanismo de acción del probiótico consumido vía sistémica es poco conocido en relación a los beneficios en la ecología oral del hospedero, específicamente la interacción que puede tener con las LGC. Estudios de laboratorio han demostrado que el crecimiento de levaduras del género *Candida* se ve obstaculizado o incluso inhibido en presencia de *Lactobacillus* spp. derivado de probióticos (Hasslöf y cols., 2010; Ujaoney y cols., 2014). Una investigación realizada por Sookhee y cols. (2001) reportó que *Lactobacillus paracasei* y *Lactobacillus rhamnosus*, cepa utilizada en este estudio, expresaron un efecto inhibitorio contra otros microorganismos de la cavidad oral, incluyendo levaduras del género *Candida*.

Considerando lo anteriormente expuesto y aunque los trabajos de investigación que se compararon utilizaron diferentes cepas de probióticos, el concepto es el mismo: el uso de estos microorganismos para prevenir y tratar la EP asociada a candidiasis oral. Se aprueba parte de la hipótesis de este estudio, puesto que el grupo con EP que consumió el probiótico durante 6 meses, presentó una disminución con diferencia significativa en el recuento de LGC, a diferencia del grupo con EP que consumió el placebo, que no reportó diferencia significativa. Por consiguiente, el uso de probióticos, independiente de la vía y vehículo de administración podría ayudar en la prevención y tratamiento de la EP asociada a candidiasis oral.

Sería novedoso realizar nuevas investigaciones que comparen el uso de una o varias cepas de probióticos en conjunto; el vehículo y vía de administración del probiótico, en la utilización de estos microorganismos como terapia

complementaria no farmacológica para la prevención y tratamiento de la EP asociada a candidiasis oral.

7.2 Bacterias del género *Lactobacillus*

El grupo de sujetos con EP que consumieron el lácteo enriquecido con probiótico presentaron una disminución en el recuento de BGL a los 6 meses de estudio, pero sin diferencia estadística. Este resultado puede compararse con el obtenido por Li y cols. (2014), cuyo estudio aplicó probióticos (*Bifidobacterium longum*, *Lactobacillus bulgaricus* y *Streptococcus thermophilus*) de manera local, en pacientes con EP, 3 veces al día durante 4 semanas. En este caso, se observó una disminución en el recuento de BGL, aunque a diferencia de nuestro estudio, éste sí tuvo diferencia estadística. No obstante, estos estudios no son del todo comparables, ya que la investigación realizada por Li y cols. utilizó en conjunto tres bacterias probióticas, a diferencia de este estudio que sólo utilizó una (*L. rhamnosus*). Se podría suponer que la disminución reportada por dicho estudio está dada por la mezcla de cepas utilizadas en el probiótico de aplicación local.

Existe escasa evidencia disponible con respecto a *Lactobacillus* y su relación con estomatitis protésica, por lo mismo, las posibles interacciones de BGL con levaduras del género *Candida* y otros factores asociados al desarrollo de EP no son del todo conocidas. Un estudio, realizado por Bilhan y cols. (2009), tuvo como objetivo investigar la relación de EP con la presencia de levaduras del género *Candida* y *Lactobacillus*. La presencia de LGC fue significativamente mayor en pacientes con EP, asimismo un interesante hallazgo fue que los sujetos con EP presentaron mayor recuento de BGL en comparación con los pacientes sanos. La presencia de *Lactobacillus* pareciera jugar un papel importante en la patogenia de EP.

Debido a que aún no está clara la asociación entre BGL y EP asociada a candidiasis oral, no se puede establecer que una disminución en los recuentos de *Lactobacillus* ayude a disminuir los signos clínicos de esta enfermedad. Por otro lado, los resultados de esta investigación reportaron una disminución en el

recuento de BGL en los sujetos con EP, tanto para los que consumieron el probiótico como el placebo, pero en ambos casos no hubo diferencia estadística. Por lo tanto, no se cumple la hipótesis de que el consumo de un lácteo enriquecido con probiótico determine un cambio significativo en los recuentos de BGL en el grupo de pacientes con EP. No obstante, es importante mencionar que algunos sujetos del grupo analizado con EP presentaba dientes remanentes con caries activas y se ha evidenciado que en presencia de caries activas aumenta el recuento de *Lactobacillus* spp. en comparación con los individuos libres de caries (Thomas y cols., 2012). Esta podría ser la causa de no haber observado cambios significativos en la cantidad de bacterias *Lactobacillus*, después de 6 meses de consumo del probiótico, sin embargo, se podría especular que quizás se modificó la diversidad de especies de este tipo de bacterias en la cavidad oral. Debido a que este proyecto de investigación no consideró la identificación de especies de BGL, ésta puede ser una buena sugerencia para futuros estudios y determinar el efecto del probiótico en la variedad de *Lactobacillus* spp.

Un estudio realizado por Montalto y cols. (2004), administró en pacientes sanos entre 23-37 años, probióticos en forma líquida y cápsulas vía oral, durante 45 días, para evaluar los recuentos salivales de *Lactobacillus*. Se observó que para las dos formas de administración, el recuento de BGL aumentó significativamente, resultado disímil a lo observado en el grupo control de pacientes sanos que consumieron probióticos en este estudio, en donde se reportó una disminución en el recuento de BGL. Por otro lado, Sidhu y cols. (2015) suministraron probióticos vía oral a niños sanos, con el objetivo de evaluar cuantitativamente los recuentos de *Lactobacillus*, los resultados reportaron un aumento significativo de este tipo de bacterias después de 1 año de seguimiento. Lo anteriormente expuesto, puede deberse a que las tres investigaciones, utilizaron diferentes cepas de probióticos, variaron en el tiempo de consumo de éste y estuvieron conformadas por distintos sujetos de estudio, por lo tanto, estos estudios no son del todo comparables. Sin embargo, se puede inferir que el consumo de probióticos afecta de manera diferente el recuento de BGL según el grupo etario de los individuos.

Con respecto a la hipótesis en relación al grupo de sujetos sanos, en la cual, se planteaba una diferencia en el recuento de BGL entre el grupo probiótico y el placebo a los 6 meses de tratamiento, se establece que no se cumple, puesto que ambos grupos presentaron disminución en el recuento de *Lactobacillus* spp.

En relación a BGL, se ha establecido una fuerte correlación entre este género de bacterias presentes en saliva y el avance de la caries dental, en adultos, especialmente la caries radicular. Se ha señalado que la mayoría de las especies implicadas en este rol pertenecen al grupo de *Lactobacillus casei* (Badet y Thebaud, 2008). Desde este punto de vista, se puede inferir que un alto recuento de *Lactobacillus* es un factor de riesgo para el desarrollo de la caries dental en el individuo, determinando un rol negativo de este tipo de bacterias en boca. Sin embargo, existen algunas cepas de *Lactobacillus* con efectos benéficos en salud oral, como por ejemplo, inhibición de *Streptococcus mutans* y crecimiento de *Candida*, lo que ha determinado el uso y estudio de estas cepas benéficas como probióticos (Hasslöf y cols., 2010; Haukioja, 2010; Ujaoney, 2014). Por lo tanto, no se puede asociar siempre un alto recuento de BGL como factor de riesgo para caries, porque no todas las cepas son cariogénicas. Resultaría interesante realizar más investigaciones acerca del efecto de un probiótico en el cambio de diversidad de especies de *Lactobacillus* orales y su relación con EP asociada a candidiasis oral.

En relación al consumo de *Lactobacillus* como cepas probióticas, existe un hipotético mecanismo de acción de éstas en la cavidad oral, el cual consiste en la competencia de éste género de bacterias con los patógenos orales por los nutrientes, factores de crecimiento y sitios de adhesión. Asimismo es importante señalar que el tiempo de residencia del probiótico en la cavidad oral es variable entre cepas, y que la colonización permanente es poco probable, por lo que se sugiere su uso regular. En definitiva, consumir probióticos otorga beneficios al hospedero tanto en su salud oral como general, sin embargo, influyen de diversa manera en la ecología oral del individuo (Jain y Sharma, 2012).

Por lo anteriormente expuesto, podemos decir que las BGL tienen roles

antagonistas en la cavidad oral, en lo que respecta a EP, y que el consumo de probióticos influye de forma variable en el recuento de éstos. Lo que se reflejó en los resultados de esta investigación al ser comparados con otros estudios. Asimismo, resultaría interesante profundizar más sobre la existencia o no de un rol de este tipo de bacterias en la patogénesis o resolución de la EP asociada a candidiasis oral.

Dentro de las limitaciones del presente estudio, nos encontramos con un tamaño muestral reducido al planteado inicialmente, debido a la dificultad para la toma de muestras en adultos mayores y la pérdida de participantes por los motivos mencionados anteriormente. Sin embargo, los resultados obtenidos pueden servir de evidencia para el desarrollo de futuras investigaciones. Cada vez se vuelve más relevante el uso de probióticos para el tratamiento de enfermedades infecciosas y se puede esperar, que en un futuro serán parte de la terapia indicada a pacientes con EP asociada a candidiasis oral. Por otro lado, aunque las investigaciones que relacionan el consumo de probióticos con la presencia de *Lactobacillus* y EP, son escasas, este estudio aporta información novedosa en esta área, la cual, puede marcar un precedente para futuros estudios que relacionen este tipo de bacterias con EP asociada a candidiasis oral.

8. CONCLUSIONES

- El consumo de un lácteo enriquecido con probiótico, de manera regular, disminuye el recuento de LGC, en adultos mayores portadores de prótesis removible con estomatitis protésica asociada a candidiasis oral.
- El consumo de un lácteo enriquecido con probiótico puede ser un buen coadyuvante en la prevención y tratamiento de la EP asociada a candidiasis oral.
- El consumo de un lácteo enriquecido con probiótico, influye de forma variable en los recuentos de BGL, en los distintos grupos etarios.
- No está clara la asociación entre las bacterias del género *Lactobacillus*, y su rol en la patogenia de la estomatitis protésica asociada a candidiasis oral.

9. PROYECCIONES DEL ESTUDIO

Este estudio se realizó en el marco de un proyecto de investigación FONIS, cuyo objetivo es evaluar el efecto del consumo de bebidas lácteas enriquecidas con probiótico, en la incidencia de candidiasis oral asociada a estomatitis protésica en adultos mayores. Los resultados de este estudio reportan una significativa disminución en los recuentos de LGC, lo que demuestra el efecto benéfico de los probióticos en la cavidad oral. Sin embargo, se debe considerar que en este estudio la muestra final se redujo significativamente por los motivos mencionados con anterioridad. Por lo tanto, para futuras investigaciones, se debiera aumentar el tamaño de la muestra y realizar un sobremuestreo superior al 20% para obtener un mayor peso estadístico de los resultados. Esto con el objetivo de disminuir la pérdida de información y obtener resultados que se puedan extrapolar a la población. De igual forma, los resultados obtenidos son alentadores y sirven de evidencia para avalar el consumo de probiótico como medida preventiva y/o terapéutica para la estomatitis protésica asociada a candidiasis oral.

Debido a que la estomatitis protésica es prevalente y tiene un alto impacto en la calidad de vida de los adultos mayores portadores de prótesis removible, resulta necesario instaurar medidas terapéuticas y preventivas, como puede llegar a ser el consumo de probióticos. Es deseable que en un futuro, en Chile, se considere como meta en salud oral la disminución de la prevalencia de estomatitis protésica en adultos mayores portadores de prótesis removible, y así instaurar medidas de este tipo, como lo es el consumo de un lácteo enriquecido con probiótico, el cual tiene un menor costo económico y social que el tratamiento convencional, sumado a los beneficios concomitantes asociados al consumo de bebidas lácteas, desde un punto de vista nutricional y relacionadas con la salud general.

Con respecto a las BGL, los resultados de esta investigación no fueron concluyentes para determinar el rol de este género de bacterias en la patogenia o resolución de la estomatitis protésica asociada a candidiasis oral. Debido a que existe diversidad de especies de *Lactobacillus*, sería interesante que en futuras

investigaciones se considere la identificación de cepas de este tipo de bacterias, y no sólo su recuento. Para así también, determinar de qué forma afecta el consumo del probiótico en la ecología oral del hospedero en esta condición. Se sugiere la inclusión de este género bacteriano en nuevos estudios que relacionen la EP con el consumo de probióticos.

Próximamente, el proyecto de investigación FONIS, ha estipulado el control de muestras de saliva no estimulada a los 6 meses después de haber terminado el tratamiento probiótico detallado en este estudio, es decir, a los 12 meses de comenzado el tratamiento, con el objetivo de evaluar otros parámetros como los salivales tales como, pH y velocidad de flujo salival, además de los recuentos de LGC y BGL, esto unido a los signos y/o cambios clínicos de la mucosa alterada por EP asociada a candidiasis oral, para comparar con dichos parámetros analizados al comienzo del tratamiento.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Amara A, Shibl A. (2015). Role of Probiotics in health improvement, infection control and disease treatment and management. Saudi Pharmaceutical Journal, 23:107–114.

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

Bilhan H, Sulun T, Erkose G, Kurt H, Erturan Z, Kutay O y cols. (2009). The role of *Candida Albicans* hyphae and *Lactobacillus* in denture-related stomatitis. Clinical Oral Investigations, 13:363-368.

Bonifait L, Chandad F, Grenier D. (2009). Probiotics for oral health: myth or reality?. Journal Canadian Dental Association, 75:585-590.

Brooks G, Butel J, Morse S. (2002). Microbiología médica. 17ª ed. México D. F.- Santa F. de Bogot., El Manual Moderno, pp.661-96. Capítulo 5.

Budtz-Jorgensen E. (1974). The significance of *Candida albicans* in denture stomatitis. Scandinavian Journal of Dental Research, 82:151- 90.

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

Catalán A. (1984). Stomatitis associees au port des protheses dentaires amovibles: etiologie et traitments. Cah Prothèse, 12:59-78.

Emami E, Taraf H, de Grandmont P, Gauthier G, de Koninck L, Lamarche C. y cols. (2012). The association of denture stomatitis and partial removable dental prostheses: A systematic review. The International Journal of Prosthodontics, 25:113-119.

Espinoza I, Rojas R, Aranda W, Gamonal J. (2003). Prevalence of oral mucosal lesions in elderly people in Santiago, Chile. *Journal of Oral Pathology and Medicine*, 32:571-575

Felton D, Cooper L, Duqum I, Minsley G, Guckes A, Haug S y cols. (2011). Evidence-based guidelines for the care and maintenance of complete dentures: a publication of the American College of Prosthodontists. *Journal of Prosthodontics*, 20:1-12.

Figueiral MH, Azul A, Pinto E, Fonseca PA, Branco FM, Scully C. (2007). Denture-related stomatitis: identification of aetiological and predisposing factors - a large cohort. *Journal of Oral Rehabilitation*, 34:448–455.

García A, Henríquez P, Retamal C, Pineda S, Delgado C, González C. (2009). Propiedades probióticas de *Lactobacillus spp* aislados de biopsias gástricas de pacientes con y sin infección por *Helicobacter pylori*. *Revista médica de Chile*, 137:369-376.

Gendreau L, Loewy Z.G. (2011). Epidemiology and etiology of denture stomatitis. *Journal of Prosthodontics*, 20:251–260.

Instituto Nacional de Estadísticas (INE), Gobierno de Chile. (2005). Proyecciones de población: Chile hacia el 2050. Monografías Estadísticas nº1, año 1.

Hasslöf P, Hedberg M, Twetman S, Stecksén-Blicks C. (2010). Growth inhibition of oral *mutans Streptococci* and *Candida* by commercial probiotic *Lactobacilli* - an *in vitro* study. *BMC Oral Health* 10-18.

Hatakka K, Ahola A, Yli-Knuuttila H. (2007). Probiotics reduce the prevalence of oral *Candida* in the elderly – a randomized controlled trial. *Journal of Dental Research*, 86:125-130.

Haukioja A. (2010). Probiotics and Oral Health. *European Journal of Dentistry*, 4:348-355.

He X, Lux R, Kuramitsu HK, Anderson MH, Shi W. (2009). Achieving probiotic effects via modulating oral microbial ecology. *Advances in Dental Research*, 21:53-56.

Hoshi N, Mori H, Taguchi H, Taniguchi M, Aoki H, Sawada T y cols. (2011). Management of oral candidiasis in denture wearers. *Journal of Prosthodontic Research*, 55:48–52.

Ishikawa K, Mayer M, Miyazima T, Matsubara V, Silva E, Paula C, Campos T, Nakamae A. (2015). A Multispecies Probiotic Reduces Oral *Candida* Colonization in Denture Wearers. *Journal of Prosthodontics*, 24: 194–199.

Jain P, Sharma P. (2012). Probiotics and their efficacy in improving Oral Health: a review. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 2:151-163.

Koeck B. (2007). *Prótesis Completas*. 4ta ed. München, Urban y Fischer, pp.344-346. Cap. 13.

Kraft-Bodi E, Jorgensen M.R, Keller M.K, Kragelund C. (2015). Effect of probiotic bacteria on oral candida in frail elderly. *Journal Dental Research*, 94:181-186.

Laleman I, Detailleur V, Else Slot D, Slomka V, Quirynen M, Teughels W. (2014). Probiotics reduce *mutans Streptococci* counts in humans: a systematic review and meta-analysis. *Clinical Oral Investigations*, 18:1539-1552.

Lee X, Gómez L, Vergara C, Astorga E, Cajas N, Ivankovic M. (2013). Association between presence of *Candida* yeast and elderly patient factors with and without denture stomatitis. *International Journal of Odontostomatology*, 7:279-285.

Li D, Li Q, Liu C, Lin M, Li X, Xiao X y cols. (2014). Efficacy and safety of probiotics in the treatment of *Candida*-associated stomatitis. *Mycoses*, 57:141-146.

Mailänder D, Wagener J, Schaller M. (2011). Potential role of probiotic bacteria in

the treatment and prevention of localised candidosis. *Mycoses*, 55:17-26.

Makarova K, Slesarev A, Wolf Y, Sorokin A, Mirkin B, Koonin E, Pavlov A, Pavlova N. y cols. (2006). Comparative genomics of the lactic acid bacteria. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103:15611–15616.

Martins N, Ferreira I, Barros L, Silva S, Henriques M. (2014). Candidiasis: Predisposing Factors, Prevention, Diagnosis and Alternative Treatment. *Mycopathologia*, 177:223-240.

Mendonça F, Santos S, Faria I, Goncalves e Silva C, Jorge A, Leao M. (2012). Effects of probiotic bacteria on *Candida* presence and IgA anti-*Candida* in the oral cavity of elderly. *Brazilian Dental Journal*, 23:534-538.

Meurman J. (2005). Probiotics: do they have a role in oral medicine and dentistry?. *European Journal of Oral Sciences*, 113:188-196.

Montalto M, Vastola M, Marigo L, Covino M, Graziosetto R, Curigliano V, y cols. (2004). Probiotic Treatment increases salivary counts of *Lactobacilli*: A double-blind, randomized, controlled study. *Digestion*, 69:53-56.

Muñoz K, Alarcón P. (2010). Efecto de los Probióticos en las Condiciones Periodontales, *Revista Clínica de Periodoncia, Implantología y Rehabilitación Oral*, 3:136-139.

Näse L, Hatakka K, Savilahti E, Saxelin M, Pönkä A, Poussa T, y cols. (2001). Effect of long-term consumption of a probiotic bacterium, *Lactobacillus rhamnosus* GG, in milk on dental caries and caries risk in children. *Caries Research*, 35: 412-20.

Navazesh M. (1993) Methods for collecting saliva. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 694: 72-77.

Oliver RJ, Dhaliwal HS, Theaker ED, Pemberton MN. (2004). Patterns of antifungal prescribing in general dental practice. *British Dental Journal*, 196:701-703.

OMS. (2003). Informe de la Segunda Asamblea Mundial sobre Envejecimiento: "Envejecimiento de la población: Hechos y cifras". Publicación de las Naciones Unidas ISBN 92-1-330176-6, Nueva York.

Pavez V, Quintana M. (2003). Manejo odontológico de pacientes ancianos con riesgo sistémico. *Revista Dental de Chile*, 94: 22-25.

Petersen PE. (2003). The World Oral Health Report 2003. Continuous improvement of oral health in the 21st century – the approach of the WHO Global Oral Health Programme. *Community Dental Oral Epidemiology*, 31: 3-23.

Petersen PE, Yamamota T. (2005). Improving the oral health of older people: the approach of the WHO Global Oral Health Programme. *Community Dental Oral Epidemiology*, 33:81-92.

Preshaw PM, Walls AW, Jakubovics NS, Moynihan PJ, Jepson NJ, Loewy Z. (2011). Association of removable partial denture use with oral and systemic health. *Journal of Dentistry* 39: 711-719.

Salerno C, Pascale M, Contaldo M, Esposito V, Busciolano M, Milillo L, y cols. (2011). *Candida*-associated denture stomatitis. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*, 16: 39-43.

Sazawal S, Hiremath G, Dhingra U, Malik P, Deb S, Black R. (2006). Efficacy of probiotics in prevention of acute diarrhea: a meta-analysis of masked, randomized, placebo controlled trials. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 16: 139-143.

Sidhu G, Mantha S, Murthi S, Sura H, Kadaru P, Kalaria D y cols. (2015). Evaluation of *Lactobacillus* and *Streptococcus mutans* by addition of probiotics in the form of curd in the diet. *Journal of Oral Health and Dental Management*, 14:

225-229.

Sokhee S, Chulasiri M, Prachyabrued W. (2001) Lactic acid bacteria from healthy oral cavity of Thai volunteers: inhibition of oral pathogens. *Journal of Applied Microbiology*, 90: 172–179.

Song X, Sun J, Store G, Hansen BF, Olsen L. (2009). Colony morphologies, species, and biotypes of yeasts from thrush and denture stomatitis. *Acta Odontológica Scandinava*, 67:248-255

Stamatova I, Meurman J. (2009). Probiotics and periodontal disease. *Periodontology 2000*, 51:141–151.

Thomas R, Zijngje V, Cicek A, de Soet J, Harmsen H, Huysmans M. (2012). Shifts in the microbial population in relation to in situ caries progression. *Caries Research*, 46:427-431

Ujaoney S, Chandra J, Faddoul F, Chane M, Wang J, Taifour L y cols. (2014). In vitro effect of over-the-counter probiotics on the ability of *Candida albicans* to form biofilm on denture strips. *Journal of Dental Hygiene*, 88:183–189.

Williams D, Lewis M. (2011). Pathogenesis and treatment of oral candidosis. *Journal of Oral Microbiology* 3: 5771.

Páginas web visitadas:

MINSAL. (2003). Encuesta Nacional de Salud. 2003. Disponible en <http://epi.minsal.cl/epi/html/invest/ENS/ENS.html> (visto 20 de octubre 2015).

MINSAL. (2010). Guía Clínica Salud Oral Integral para Adultos de 60 años. Santiago, Ministerio de Salud. Disponible en: <http://www.redsalud.gov.cl/archivos/guiasges/> (visto 20 de octubre 2015).

MINSAL. (2015). Programas odontológicos, disponible en http://web.minsal.cl/programas_odontologicos (visto 20 de octubre 2015).

OPS, OMS. (2003). Perfil del Adulto Mayor en Chile: Desarrollando respuestas integradas de sistemas de cuidado de salud para una población de rápido envejecimiento. Estudio intra-OMS, realizado por Centro de Geriatria y Gerontología UC y MINSAL. Disponible en http://www.who.int/ageing/projects/intra/phase_one/alc_intra1_finalreport_chile_es.pdf (visto 20 de octubre 2015).

11. ANEXOS Y APÉNDICES

11.1 Consentimiento

informado



Fecha de edición: 20 de agosto de 2013

CONSENTIMIENTO INFORMADO

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

INVESTIGADOR PRINCIPAL : PROF. DRA. XIMENA LEE MUÑOZ

SEDE DEL ESTUDIO DIRECCIÓN : UNIVERSIDAD DE CHILE. FACULTAD DE ODONTOLOGÍA.
: SERGIO LIVINGSTONE 943. SANTIAGO

NOMBRE DEL PACIENTE :

FECHA :

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lugar donde se realizará la intervención.

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

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

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

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

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

Firma: _____

Fecha: _____

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

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

11.2 Ficha Clínica

Código:

FICHA CLÍNICA FONIS SA13I20113

Nombre Revisor:.....

Fecha:.....

NOMBRE (s):

APELLIDOS:

GÉNERO EDAD (años) NIVEL EDUCACIONAL ESTADO CIVIL

1- Femenino

2- Masculino

1. Sin escolaridad

2. Primaria

3. Secundaria

4. Superior

1. Soltero(a)

2. Casado(a)

3. Viudo(a)

HOGAR:

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

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

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

1	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

III. **Otras condiciones**

	Sí	No
Intolerancia a la lactosa	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Tabaquismo (frecuencia)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Consumo de alcohol (frecuencia)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

FICHA CLÍNICA FONIS SA13I20113**IV. Fármacos que consume: (especifique)**

	Fármaco	Dosis
1		
2		
3		

V. Higiene oral y protésica

Higiene de:	Sí	No	Frecuencia (veces al día) 1 vez; 2 veces	¿Qué utiliza?	Sí	No
1. Dientes				1. Cepillo de dientes		
				2. Hilo/ seda dental		
				3. Cepillo interdentario		
				4. Enjuague bucal		
				5. Otro ¿cuál?		
2. Mucosas				1. Cepillo suave		
				2. Gasas		
3. Lengua				1. Limpiador lingual		
				2. Cepillo dental		
4.- Prótesis				1.- Cepillo protésico		
				2.- Cepillo dental		
				3.- Pastillas de limpieza		
				5.- Cloro		
				4.- Otro		

FICHA CLÍNICA FONIS SA13I20113

VI. Xerostomía

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

VII. Patología Oral: Mucosa Oral

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

FICHA CLÍNICA FONIS SA13I20113

VIII. ESTOMATITIS PROTÉSICA: (Clasifique según Newton)

Si No

TIPO

UBICACIÓN MAXILAR

UBICACIÓN MANDIBULAR

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

1. Paladar duro
2. Paladar
3. Reborde alveolar

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

IX. Uso de prótesis

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

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

1. Gingivitis

Ausente	<input type="checkbox"/>	Localizada	<input type="checkbox"/>	Generalizada	<input type="checkbox"/>
---------	--------------------------	------------	--------------------------	--------------	--------------------------

2. Periodontitis

Ausente	<input type="checkbox"/>	Localizada	<input type="checkbox"/>	Generalizada	<input type="checkbox"/>
---------	--------------------------	------------	--------------------------	--------------	--------------------------

Observaciones:

.....

FICHA CLÍNICA FONIS SA13I20113

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

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

XII. Edentulismo: (Clasifique según Kennedy)

Maxilar		Mandíbula	

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

Notas del examinador