



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLÓGÍA
DEPARTAMENTO DE PRÓTESIS
ASIGNATURA PRÓTESIS TOTALES**

“Efecto del consumo de leche enriquecida con probiótico en las características salivales de adultos mayores portadores de prótesis removible con y sin estomatitis protésica asociada a candidiasis oral, a 12 meses de iniciada la intervención”

Luis Alberto Pulgar Bustos

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

TUTOR PRINCIPAL

Prof. Dra. Ximena Lee Muñoz

TUTORES ASOCIADOS

Prof. Dra. Carla Lozano Moraga

Prof. Dr. Juan Pablo Aitken Saavedra

TUTOR EXPERTO

Prof. Dr. Cristian Vergara Nuñez

**Adscrito a Proyecto FONIS SA13I20116
Santiago – Chile
2016**



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLÓGÍA
DEPARTAMENTO DE PRÓTESIS
ASIGNATURA PRÓTESIS TOTALES**

“Efecto del consumo de leche enriquecida con probiótico en las características salivales de adultos mayores portadores de prótesis removible con y sin estomatitis protésica asociada a candidiasis oral, a 12 meses de iniciada la intervención”

Luis Alberto Pulgar Bustos

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

TUTOR PRINCIPAL

Prof. Dra. Ximena Lee Muñoz

TUTORES ASOCIADOS

Prof. Dra. Carla Lozano Moraga

Prof. Dr. Juan Pablo Aitken Saavedra

TUTOR EXPERTO

Prof. Dr. Cristian Vergara Nuñez

**Adscrito a Proyecto FONIS SA13I20116
Santiago – Chile
2016**

Agradecimientos

A mis padres, por el amor, los valores y por siempre estar ahí cuando los necesite. Por impulsarme a alcanzar todas mis metas y darme las herramientas para lograrlo, a pesar de las múltiples adversidades que se presentaron en el camino.

A mis hermanos, porque los amo y no habría sido lo mismo sin ustedes. Cada recuerdo, sonrisa, juego y pelea me han llevado a ser lo que soy.

A mi abuelita, que siempre dio todo y más de lo que tenía de sí para vernos felices. Por esos días con lluvia en que llegaba a la casa a darnos su amor.

A Carolina, por el apoyo en este último año y que me cuidó cuando estuve mal en términos de salud. Por esa pasión que entregas en cada proyecto y que supiste traspasarla a mí y nuestra relación. Esa sonrisa que cambia hasta el más gris de los días.

A mis amigos, Jorge, Fernando, Francisco, Rafael B., Matias, Javier, Rafael C., Diego V., Diego I., Catalina, Mane, Daniela, Valeska, y muchos otros, porque sin ustedes este camino habría sido demasiado monótono. Agradezco cada momento, risa y carrete. Los quiero.

A la Dra. Ximena Lee y la Dra. Carla Lozano, por darme la oportunidad de trabajar en este proyecto FONIS y sacar adelante la parte final de mi formación profesional. Agradecer la paciencia y las ganas de siempre educar.

A todos los profesores a lo largo de mi vida, por la fe, confianza y conocimiento que depositaron en mí.

Y por último, al Club Universidad de Chile, por todas las penas y alegrías. Por esa pasión que marca a todos sus hinchas y que los hace vivir de forma intensa. Agradezco a mi viejo por este legado.

ÍNDICE

1.	RESUMEN.....	1
2.	MARCO TEÓRICO.....	3
	Adultos Mayores.....	3
	Estomatitis Protésica.....	4
	Factores relacionados al hospedero.....	6
	Factores relacionados a <i>Candida</i>	12
	Tratamiento de Estomatitis Protésica.....	13
	Uso de Probióticos.....	14
	Propósito de la investigación.....	15
3.	HIPOTESIS Y OBJETIVOS.....	16
	Hipótesis.....	16
	Objetivo General.....	16
	Objetivos Específicos.....	16
4.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
	Tipo de estudio.....	17
	Población objetivo y Muestra.....	17
	Criterios de Inclusión y Exclusión.....	18
	Procedimiento de aleatorización.....	18
	Definición de ciego.....	18
	Preparación de las bebidas lácteas.....	19
	Técnicas de recolección de la información.....	19
	Procesamiento de las muestras.....	20
	Análisis estadístico de datos.....	21
5.	RESULTADOS.....	23
	Análisis de características salivales por grupo, a tiempo 0 y 12 meses del inicio de la intervención.....	23
	pH salival.....	23
	Velocidad de flujo salival (ml/min).....	26
	Concentración Total de Proteínas en saliva ($\mu\text{g}/\text{min}$).....	29
	Análisis de características salivales analizadas entre grupos, a tiempo 0 y 12 meses del consumo del lácteo.....	32

6.	DISCUSIÓN.....	33
7.	CONCLUSIONES.....	41
8.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	42
9.	ANEXOS.....	47
	Anexo 1: Consentimiento informado.....	47
	Anexo 2: Ficha clínica.....	53

1. RESUMEN

Introducción: La población de adultos mayores ha presentado un importante incremento a nivel nacional y mundial. La lesión de la mucosa oral más prevalente en esta población es la estomatitis protésica (EP), definida como proceso inflamatorio crónico de la mucosa masticatoria, asociada al uso de prótesis removible (PR). Su etiología aún no está determinada, pero se asocia fuertemente a factores del hospedero y levaduras del género *Candida*. La alteración de los parámetros bioquímicos salivales como pH, velocidad de flujo salival (VFS) y concentración total de proteínas en saliva ha sido relacionada con esta enfermedad, pudiendo jugar un rol en la patogenia de la EP. El uso de probióticos genera un efecto beneficioso en el sistema inmune, mejorando así la salud general, pero aún es escasa la información sobre su potencial rol en la cavidad oral. El propósito de este estudio fue analizar el efecto del consumo de un lácteo enriquecido con probiótico, durante 6 meses, en los parámetros salivales de adultos mayores portadores de PR con y sin EP a los 12 meses de iniciado el estudio.

Material y Métodos: El estudio incluyó 43 adultos mayores, pertenecientes a un establecimiento de larga estadía para adultos mayores (ELEAM) o a la clínica de Prótesis Totales, de la Clínica Odontológica de la Universidad de Chile (COUCH), todos portadores de PR con o sin EP, que consumieron el lácteo los primeros 6 meses. La muestra se dividió en 4 grupos: individuos con EP que consumieron el lácteo con probiótico, individuos con EP que consumieron el lácteo sin probiótico, individuos sanos que consumieron el lácteo con probiótico e individuos sanos que consumieron el lácteo sin probiótico. Se obtuvieron muestras salivales al inicio del estudio (T_0) y luego a los 12 meses (T_{12}), las cuales fueron analizadas para determinar VFS, pH y concentración total de proteínas en la saliva.

Resultados: Hubo una disminución significativa en el pH de aquellos sujetos que consumieron el lácteo sin probiótico al T_{12} . En cuanto a la VFS, se observó una disminución significativa en ambos grupos de individuos con EP al T_{12} . En la concentración de proteínas totales en saliva hubo diferencias estadísticas en todos los grupos analizados al T_{12} .

Conclusiones: No es posible comprobar un efecto del probiótico en el pH salival o VFS. Es posible relacionar el consumo de probiótico con un aumento en la

concentración total de proteínas en saliva, sin embargo, para comprobar esta correlación son necesarios futuros estudios cualitativos que establezcan un perfil proteico de cada grupo estudiado.

2. MARCO TEÓRICO

ADULTOS MAYORES:

La población mundial ha experimentado grandes cambios en las últimas décadas, especialmente en lo que concierne a los adultos mayores (mayores de 60 años). Según la ONU, en el año 2002 la población de adultos mayores ascendía a 600 millones, proyectándose un crecimiento de 2 billones para el año 2050, pasando de un 10% a un 21% de la población mundial (Organización de Naciones Unidas, 2002).

Chile no está alejado de esta realidad, ya que está viviendo una etapa avanzada de transición al envejecimiento demográfico. En la década del 70 los adultos mayores no representaban más del 8% de la población, aumentando a 11,4% en el año 2002, proyectándose un 14,7% para el año 2015 y un 20% para el año 2025 que correspondería a 3,8 millones de personas (Superintendencia de Salud, 2006; Instituto Nacional de Estadísticas, 2007; Servicio Nacional del Adulto Mayor, 2009). Además, la expectativa de vida ha aumentado por sobre los 80 años de edad (en el caso de las mujeres), por lo que el envejecimiento debe ser valorado como un logro que genera oportunidades e impone desafíos para alcanzar una mejora en la calidad de vida (Servicio Nacional del Adulto Mayor, 2009).

El envejecimiento es un proceso inexorable, irreversible e individual que comienza en la etapa adulta, pero se intensifica a partir de la sexta década de la vida. Afecta a todos los sistemas, órganos y tejidos y su compromiso es mayor y más complejo a medida que aumenta la edad (Servicio Nacional del Adulto Mayor, 2009; Ministerio de Salud, 2010). Esto ha creado las condiciones para el aumento de las enfermedades crónicas no transmisibles como la hipertensión arterial, dislipidemia, diabetes, insuficiencia renal, entre otras, las que además se diferencian al comparar género, nivel socioeconómico y zona urbana/rural (Ministerio de Salud, 2003).

A nivel oral, hasta los años 70, el envejecimiento se limitaba al problema de la pérdida de dientes (Ministerio de Salud, 2010). Según datos de la Encuesta Nacional de Salud, el 75% de la población de 65 años y más son desdentados

parciales (promedio de 7 dientes remanentes), de los cuales 37,1% porta prótesis removible (PR) en ambos maxilares, 25,3% en el maxilar superior y 0,8% en el inferior. Respecto a la percepción de la necesidad de utilizar PR el 25,3% de las personas declaró necesitar el uso de prótesis dental (Ministerio de Salud, 2003; Ministerio de Salud, 2010).

Los tejidos orales tampoco escapan a este proceso de envejecimiento: se aprecian cambios tisulares como adelgazamiento epitelial, disminución en la vascularización tisular, reducción de tejido adiposo y pérdida de resistencia y elasticidad (Ministerio de Salud, 2010).

Actualmente, al conservarse más dientes y los tejidos ser más susceptibles a lesiones, la gama de problemas es mayor. A nivel dental y tejidos de soporte dentario destaca en frecuencia la caries dental y enfermedad periodontal (Guggenheimer y Moore, 2003; Ministerio de Salud, 2010). A nivel mucoso la prevalencia de las lesiones se distribuye de la siguiente manera: estomatitis protésica, seguido de hiperplasia irritativa, varicosidades de la mucosa oral, lesiones pigmentadas solitarias, úlcera traumática, entre otras (Espinoza y cols., 2003). Por tanto, cabe resaltar que la lesión oral más prevalente es la estomatitis protésica (EP), afectando al 22,3% de la muestra total y al 34% de los sujetos portadores de PR (Espinoza y cols., 2003).

ESTOMATITIS PROTÉSICA:

La EP se define como un proceso inflamatorio crónico de la mucosa de soporte protésico, que se caracteriza por inflamación y eritema, y que puede observarse en sujetos parcial o totalmente desdentados portadores de PR. Su prevalencia varía en las poblaciones, alcanzando hasta dos tercios de los portadores de prótesis, afecta principalmente a adultos mayores y no existen diferencias entre sexos (Figueiral y cols., 2007; Gendreau y Loewy, 2011). Es generalmente asintomática y un porcentaje menor experimenta dolor, picazón o ardor (Gendreau y Loewy, 2011).

Newton en 1962 clasificó la EP en 3 tipos, según severidad clínica (Koeck, 2007) (Figura 1):

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

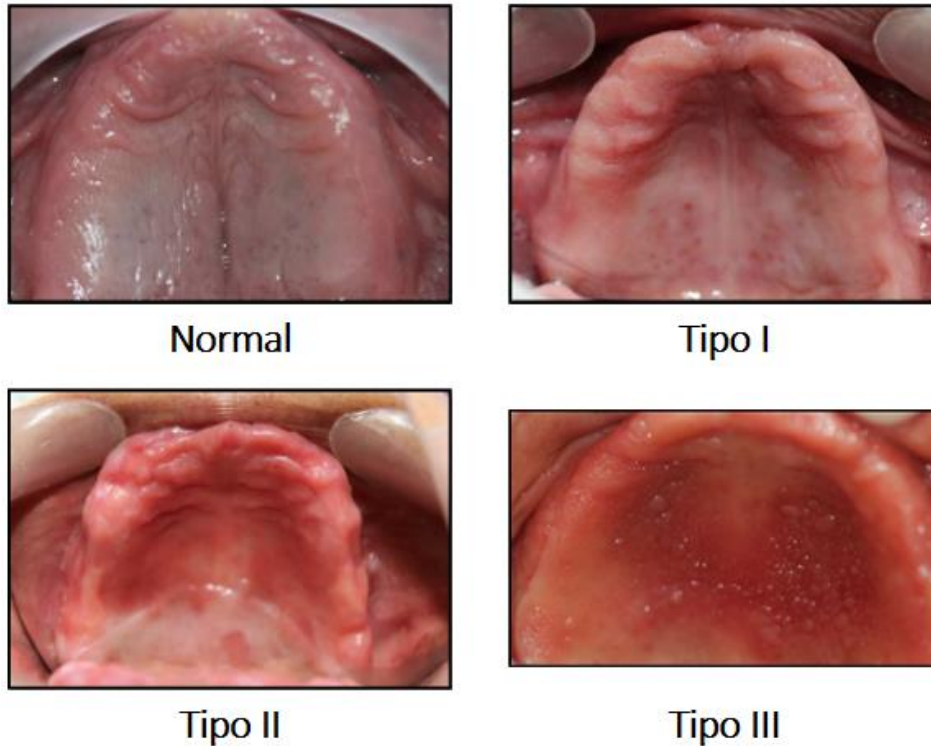


Figura 1. Fotografías de EP y su severidad basadas en la Clasificación de Newton.

Se aprecia con mayor frecuencia a nivel maxilar, en el paladar duro (Maller y cols., 2010). La EP tipo I y II son más comunes que la EP tipo III en portadores de prótesis parcial maxilar. Además, es más común en prótesis totales que en parciales (Emami y cols., 2012).

Si bien la etiología de esta enfermedad aún no está determinada, varios autores coinciden en que es compleja y de carácter multifactorial, y por el momento han definido una relación entre ciertos factores asociados al hospedero (locales y sistémicos) y relacionados a levaduras del género *Candida* (Aguirre,

2002; Gendreau y Loewy, 2011; Salerno y cols., 2011; Emami y cols., 2012) que serán descritos a continuación y se esquematizan en la Figura 2.

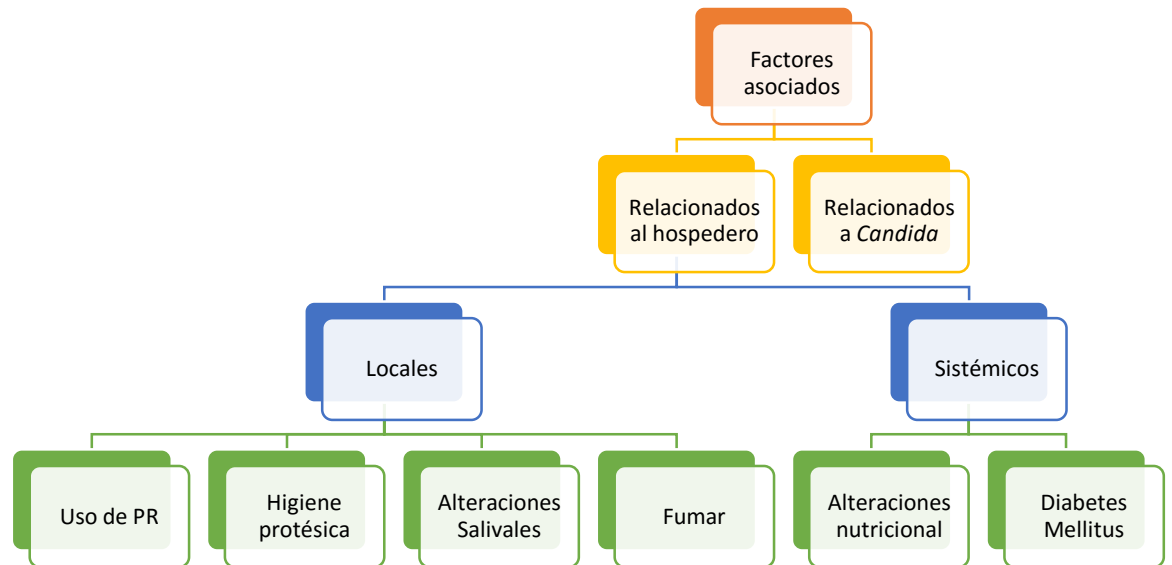


Figura 2. Factores asociados al desarrollo de EP.

I. Factores relacionados al hospedero

a. Locales:

Uso de PR

El uso de PR, pero específicamente su uso continuo, es considerado uno de los factores de riesgo primarios ya que incrementa la duración del trauma local sobre los tejidos de soporte en aquellas PR en mal estado y/o desajustadas (Kossioni, 2011). El trauma inducido se ve favorecido por una pobre retención de las PR maxilares y disminución de la dimensión vertical (Figueiral y cols., 2007; Maller y cols., 2010). Lo anterior causa una disminución del pH y del flujo salival, dificultando la llegada de anticuerpos salivales y favoreciendo la proliferación de ciertos microorganismos, destacando las levaduras del género *Candida* (LGC) (Aguirre, 2002). Además, se ha observado una menor tasa de EP en PR parciales en comparación a las totales, lo que podría deberse a las características de los materiales (acrílico versus metal) y la cantidad de tejido cubierto (Emami y cols., 2012).

Deficiente higiene protésica

La higiene de las PR, considerando el hábito y su frecuencia, es considerada un factor de riesgo crítico para EP según diversos estudios (Kulak-Ozkan y cols., 2002, Gendreau y Loewy, 2011; Kossioni, 2011; Salerno y cols., 2011; Emami y cols., 2012) pero Figueiral y cols. (2007) no encontró diferencias significativas. Un gran porcentaje de los portadores de PR se higieniza de la misma forma que la dentición natural y no utilizan métodos complementarios, como soluciones desinfectantes comerciales (Gendreau y Loewy, 2011). Sumado a esto, y como se mencionó anteriormente, el uso continuo y/o nocturno está asociado a una pobre higiene oral, que mantiene un microambiente anaerobio y de bajo pH (Gendreau y Loewy, 2011).

Una deficiente limpieza genera rápidamente un *biofilm* adherente y acumula placa protésica patogénica, que tiene el potencial de colonizar la mucosa oral (Gendreau y Loewy, 2011). El *biofilm* y placa protésica tienen una compleja composición: bacterias Gram-positivas (*Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Actinomyces* y *Lactobacillus* principalmente) y especies fúngicas (LGC, principalmente *Candida albicans*) (Salerno y cols., 2011).

Alteraciones Salivales

La saliva es un fluido biológico compuesto de moléculas que constituyen el principal mecanismo de defensa contra factores traumáticos e infecciosos, mediante un efecto de limpieza mecánica de los tejidos orales (Zárate y cols., 2004; Fenoll-Palomares y cols., 2004). Son estas moléculas, tales como lisozimas, histatinas, lactoferrina, calprotectina e Inmunoglobulina A (IgA) las que le confieren propiedades antimicrobianas a la saliva (Fenoll-Palomares y cols., 2004). Por esto, las alteraciones cuantitativas y/o cualitativas en la saliva, pueden tener efectos adversos locales tales como: desarrollo de caries dental, dificultades masticatorias e infecciones orales (Fenoll-Palomares y cols., 2004). Por otro lado, el ambiente templado de la cavidad oral, una alta humedad y suministro regular de alimento fomenta el crecimiento de microorganismos aerobios y anaerobios, que en conjunto forman un ecosistema complejo y estable (Nieuw Amerongen y Veerman, 2002), dentro de los que destacan las LGC, las cuales son microorganismos comensales y componentes normales de la cavidad oral en alrededor 50-60% de

la población de adultos sanos (Gendreau y Loewy, 2011; Thein y cols., 2006). La disminución o ausencia total de saliva induce el cambio y desequilibrio de las comunidades microbianas, lo que inhibe la adaptación normal de los comensales (Salerno y cols., 2011).

Existe una gama de estudios que indica que alteraciones en la Velocidad de Flujo Salival (VFS) y pH podrían contribuir al desarrollo y mantención de la EP asociada a candidiasis oral (Aguirre, 2002; Fenoll-Palomares y cols., 2004; Gendreau y Loewy, 2011; Altarawneh y cols., 2013), aunque Figueiral y cols. (2007) fallaron al intentar encontrar una asociación entre EP y características salivales (pero sí hallaron una relación significativa entre una alta presencia de levaduras e hiposalivación y pH salival disminuido). Ambos parámetros mencionados más la concentración de proteínas salivales serán descritos a continuación:

pH salival

La saliva tiene varios sistemas o componentes encargados de la protección de la cavidad oral, donde tenemos como ejemplo el sistema tampón salival bicarbonato/carbonato para una rápida neutralización de los ácidos (Nieuw Amerongen y cols., 2004). En el estudio de Chopde y cols. (2012) se observó que el pH salival de los individuos con EP era menor (5,12) comparado al de los sanos (5,71), además, condiciones de pH bajo en saliva aumentan la colonización de *C. albicans*. Un pH bajo reduce el crecimiento de algunos comensales mientras incrementa la adhesión y proliferación de LGC, asimismo es óptimo para la actividad de proteasas y lipasas que son los factores de virulencia más importantes de *C. albicans* por sus efectos citotóxicos y citolíticos (Salerno y cols., 2011). Por otra parte, una alta ingesta de hidratos de carbono constituye una fuente de nutrientes para las LGC, que, al ser microorganismos fermentativos, generan metabolitos ácidos que contribuyen a la mantención de este microambiente ácido (Salerno y cols., 2011; Chopde y cols., 2012).

Velocidad de Flujo Salival

La velocidad de flujo salival (VFS) se describe como la secreción salival durante un periodo de tiempo y dicho flujo es variable durante el día. Numerosos

estudios proponen valores normales de VFS, considerándose éste de 0,3 a 0,4 mL/min y valores de 0,1 a 0,2 mL/min son clasificados como hiposalivación (hiposialia) (Navazesh, 1993).

La secreción salival es continua a lo largo del día, difiere entre sujetos y el volumen total es de un promedio de 500-600 ml. Las propiedades y composición de la saliva difieren si la secreción es estimulada (degustar, oler o masticar alimentos) o no estimulada (Proctor, 2000). La saliva total no estimulada, basal o de reposo, es la secreción basal proveniente de las glándulas salivales menores en ausencia de estímulos exógenos, está presente la mayor parte del día y es la principal responsable de la protección de los tejidos orales (Dawes, 1996). Esta saliva sufre una variación circadiana donde la mínima secreción es a las 6AM y la máxima a las 6PM (Proctor, 2000). Hay evidencia de que la saliva no estimulada disminuye con la edad, aunque esto podría deberse al consumo de medicamentos (Proctor, 2000). En cambio, la saliva estimulada proviene de las glándulas salivales mayores y es producida ante estímulos, principalmente masticatorios, por estos motivos junto a la localización de estas glándulas se hace de mayor dificultad su obtención (Mandel y Wotman, 1976).

La disminución de la VFS se ha relacionado con: consumo de medicamentos (por su efecto anticolinérgico muscarínico), radiación en cabeza y cuello y enfermedades autoinmunes como el Síndrome de Sjögren (Proctor, 2000); lo que impide el efecto de barrido mecánico de la saliva (que dificulta la adhesión de levaduras) y el poder antifúngico dado por las proteínas salivales (Aguirre, 2002). Asimismo, Campisi y cols. (2008) señalan que variaciones cualitativas y cuantitativas del flujo salival de adultos mayores pueden actuar como factores predisponentes a la colonización de LGC. Siguiendo la misma línea, Pereira-Cenci y cols. (2008) observó un mayor recuento de LGC en sujetos con velocidad de flujo salival (VFS) disminuida, en relación a los sujetos con VFS normal.

Concentración Total de Proteínas en la saliva

Otro de los componentes protectores de la saliva corresponde a la presencia de una gran cantidad de proteínas, entre 100 a 140 proteínas distintas, de las cuales 30 a 40% provienen de las glándulas salivales, el resto proviene del suero, mucosas e incluso de microorganismos (Fabián y cols., 2008), siendo las

principales la lisozima, lactoferrina, lactoperoxidasa, inmunoglobulinas, aparte de la presencia de péptidos con actividad bactericida como las histatinas y defensinas (Nieuw Amerongen y cols., 2004) (Tabla 1). Debido a que todas estas proteínas y péptidos tienen un amplio espectro de actividad antimicrobiana, no parece haber una superposición en la funcionalidad, y es por esto que se puede explicar que la susceptibilidad a las enfermedades orales no parece estar relacionada con la concentración de un solo componente salival (Rudney, 1995). El contenido proteico de la saliva es de 0,5 a 3 mg/ml, la mayor parte proveniente de la parótida, y esta concentración es estable e independiente de la VFS (Fábián y cols., 2008), aunque el estudio de Castro y cols. (2012), indica que a medida que el ser humano envejece aumenta la concentración de proteínas en saliva.

Aún faltan estudios para relacionar la concentración de proteínas en saliva como factor o cofactor de riesgo de EP, más aún el rol específico en la etiología de cada una de los cientos de proteínas. Aun así, Byrd y cols. (2014) nos señalan que: las inmunoglobulinas están en mayor concentración en EP tipo II y III; se encontró regulación positiva de cistatinas en EP; y la desregulación de hierro o metabolismo del hierro juega un rol en la EP por medio de la lactotransferrina, que es conocida por tener actividad contra *C. albicans*, junto a actividad bactericida e inhibición del crecimiento microbiano.

Tabla 1. Proteínas más importantes presentes en la saliva y su función en el contexto de mantener la salud oral.

Proteína	Función
Ig A	Anticuerpos salivales que actúan en la primera línea de defensa inmune mediante la realización de la exclusión de antígenos en la saliva, en la capa de mucus en las superficies epiteliales y en la película adquirida sobre las superficies dentales (Fábián y cols., 2012).
Lisozima	Ejerce actividad muramidasa a través de hidrólisis de los peptidoglicanos de la pared celular bacteriana. Destruye principalmente bacterias Gram-positivas. Además, tiene una propiedad antimicrobiana no enzimática que parece ser activa contra bacterias Gram-positivas y negativas, así como hongos (Fábián y cols., 2012).

Lactoferrina	Es una glicoproteína catiónica de fijación del hierro. Es activa frente a bacterias, hongos, parásitos y virus. Su carga neta positiva y su propiedad catiónica parece ser un factor importante que puede conducir a la unión y la destrucción de las membranas celulares microbianas (Fábián y cols., 2012).
Cistatinas	Son inhibidoras de la proteasa cisteína que bloquean la acción de las proteasas endógenas, bacterianas y parasitarias (Fábián y cols., 2012). La Cistatina C tiene propiedades quimiotácticas, y desempeña un papel en la presentación de antígenos de las células dendríticas presentes en la mucosa oral (Fábián y cols., 2008).
Histatinas	Son pequeños péptidos catiónicos ricos en histidina. Ejercen propiedades antibacterianas de amplio espectro, así como antifúngicas. También muestran propiedades antivirales (Fábián y cols., 2012).
Defensinas	Son prototipos de péptidos catiónicos que se unen a la membrana celular bacteriana que está cargada negativamente. Mediante la unión a la membrana bacteriana se producen canales iónicos y poros transmembrana que lleva a la destrucción de las bacterias. También ejercen propiedades antifúngicas y antivirales, incluyendo acción contra <i>C. albicans</i> (Fábián y cols., 2012).

Hábito Tabáquico

El tabaquismo se ha asociado a formas severas de EP, y en forma específica con los fumadores pesados (consumo mayor a 15 cigarrillos por día) (Shulman y cols., 2005; Dos Santos y cols., 2010). El tabaco genera una supresión de la actividad de los leucocitos orales y cambios en la superficie de la mucosa oral, lo que aumenta la susceptibilidad a infecciones orales por *Candida* (Dos Santos y cols., 2010). Además, el humo del cigarrillo se ha asociado con bajos niveles de vitamina A (Shulman y cols., 2005).

b. Sistémicos:

Alteraciones Nutricionales

Una alta ingesta de hidratos de carbono constituye una fuente de nutrientes para las LGC, que son microorganismos fermentativos, los que generan metabolitos ácidos que contribuyen a la generación y mantención de un

microambiente ácido (Salerno y cols., 2011; Chopde y cols., 2012). En contraparte, Paillaud y cols. (2004) señalan que una deficiente nutrición proteico-energética puede estar implicada en la colonización y proliferación de levaduras en la mucosa.

Emami y cols. (2012) reporta que la deficiencia de Vitamina A es un factor de riesgo importante para EP. Esta hipovitaminosis puede desempeñar un papel en la candidiasis a través de una posible alteración del proceso de queratinización (Shulman y cols., 2005). Adicionalmente, la Vitamina A es necesaria para el mantenimiento de la integridad de los tejidos epiteliales, influye en la respuesta inmune, es necesario para el mantenimiento y funcionamiento óptimo del sistema inmunológico y tiene un efecto anti-inflamatorio (Shulman y cols., 2005), de ahí su importante rol en la EP.

Diabetes Mellitus

El estudio de Dorocka-Bobkowska y cols. (2010) reporta la presencia de EP asociada a *Candida*, en individuos portadores de prótesis acrílica completas que padecen Diabetes Mellitus tipo 2. Esto es debido a la disminución de la resistencia y regeneración de los tejidos o al reducido espesor del epitelio oral en estos individuos (Emami y cols., 2012). Al mismo tiempo, la mantención de altos niveles de glucosa salival y cambios de tipo cualitativos en receptores epiteliales, característicos en esta patología, promueven el crecimiento y adhesión de LGC (Farah y cols., 2010).

II. Factores relacionados a *Candida*

Levaduras del género *Candida* son microorganismos comensales de la microbiota oral en salud, encontrándose a menudo en las prótesis y la mucosa oral de individuos sin signos de EP, y que puede convertirse en patógeno en situaciones que predisponen a los individuos su infección (Gendreau y Loewy, 2011; Krom y cols., 2014). Su papel en el desarrollo de la EP se asocia con su aumento excesivo del número de colonias en las superficies de prótesis y de la mucosa oral, de su capacidad para expresar factores de virulencia como

proteinasas y fosfolipasas, evadiendo los mecanismos de defensa del hospedero, y es ampliamente aceptado como un factor asociado en la etiología (Aguirre, 2002; Gendreau y Loewy, 2011; Emami y cols., 2012). Es conocida la estrecha relación entre los altos recuentos de LGC y la presencia de EP, y aumenta con la severidad clínica, siendo *C. albicans* la principal especie reportada en mucosa palatina, saliva y lengua (Abaci y cols., 2010; Lee y cols., 2013). Otras especies obtenidas de la cavidad oral son *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis* que se encuentran en menor proporción que *C. albicans* (Gendreau y Loewy, 2011) y que pueden desempeñar un papel simbiótico en la colonización inicial, formación del *biofilm* y desarrollo de EP (Byrd y cols., 2014). *C. albicans* puede crecer ya sea como formas miceliales o de hifas (Gendreau y Loewy, 2011), y a su vez Bilhan y cols. (2009) informaron una presencia significativamente mayor de hifas entre los individuos con EP, además que su presencia parece facilitar la colonización en las superficies de la mucosa y el aumento de los recuentos de *C. albicans*. Las especies *Candida* son fundamentales en el desarrollo de EP ya que inducen la respuesta inflamatoria característica de esta enfermedad (Dos Santos y cols., 2010).

Tratamiento de Estomatitis Protésica

Debido a su etiología aún no determinada, pero que es de carácter multifactorial, su tratamiento es complejo y depende de un plan integral, donde la eliminación de los factores predisponentes es el primer paso (Koteswara y cols., 2013; Pattanaik y cols., 2010). Varios son los procedimientos de tratamiento que se pueden utilizar: desde la eliminación y control de placa de la prótesis y mucosas, la necesidad de cambio de la prótesis (la suspensión de su uso también puede contribuir a la disminución del componente inflamatorio) y el uso de medicamentos antifúngicos sistémicos o locales (por ejemplo, nistatina, anfotericina B, clotrimazol, y miconazol), hasta métodos más modernos como la irradiación por microondas y la terapia fotodinámica (Koteswara y cols., 2013; Pattanaik y cols., 2010; Tay y cols., 2014). La terapia con medicamentos antifúngicos es uno de los tratamientos más utilizados, sin embargo, factores tales

como la resistencia de los hongos a estos fármacos y la toxicidad del mismo han conducido a la búsqueda de tratamientos alternativos (Tay y cols., 2014). En esta exploración por nuevas opciones, aparecen los probióticos, que son microorganismos vivos, principalmente bacterias, que son seguras para el consumo humano y, cuando se ingiere en cantidades suficientes, tienen efectos beneficiosos sobre la salud humana (Bonifait y cols., 2009; Haslöff y cols., 2010).

USO DE PROBIÓTICOS

Los probióticos son un suplemento microbiano que afecta beneficiosamente al hospedero restaurando su homeostasis (He y cols., 2009). El fundamento para su uso reside en el efecto beneficioso para el sistema inmune del hospedero permitiendo mantener o restaurar la microbiota natural (Twetman y Keller, 2012), mejorando así el estado de la salud general (Caglar y cols., 2005). Posibles acciones en el entorno oral son la competencia en sitios de unión, la producción de sustancias antimicrobianas y la activación y regulación de la respuesta inmune (Haslöff y cols., 2010).

Existen numerosos tipos de probióticos, siendo los más reconocidos, por su aporte en la estimulación y modulación del sistema inmune, bacterias del género *Lactobacillus spp.* (*L. rhamnosus* GG, *L. rhamnosus* LB21, *L. reuteri*, *L. paracasei*, *L. brevis* CD2), *Bifidobacterium spp.*, y la levadura *Saccharomyces boulardii* (Sazawal y cols., 2006; Cagetti y cols., 2013), que en la cavidad oral se ha visto que reducen la prevalencia de *Streptococcus* y *Candida* (Badet y Thebaud, 2008; He y cols., 2009). Los probióticos pueden ser distribuidos en productos alimenticios de diferentes formas, siendo mediante lácteos como leche, yogur y queso la forma más común en que *Lactobacillus spp.* es incorporado a la dieta, ya que simplifica su consumo por parte del hospedero (Caglar y cols., 2005).

Son pocos los estudios que se han enfocado en los efectos de los probióticos en la cavidad oral. Tal es el caso de Hatakka y cols. (2007) quienes realizaron un estudio en adultos mayores que consumieron queso con una mezcla de probióticos (*Lactobacillus rhamnosus* GG, *L. rhamnosus* LC705, *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermanii* JS) y observaron que se redujo la prevalencia de *Candida* e hiposalivación y sensación de boca seca, resultado que

sigue la línea de lo descrito por Ishikawa y cols. (2015), cuyo estudio determinó una reducción de la colonización por *Candida* en la cavidad oral, y por Li y cols. (2014), los que declaran disminuir niveles de dolor, hiperemia y prevalencia de *Candida* spp en individuos con EP asociada a candidiasis. Desde otro ángulo, Köhler y cols. (2012) constataron que el ácido láctico producido por algunas cepas probióticas disminuiría el pH salival sin favorecer la expresión de EP asociada a candidiasis, interfiriendo con el crecimiento de las levaduras. Asimismo, el consumo de probióticos aumenta la respuesta inmune secretora específica contra estas levaduras, como es el caso de las inmunoglobulinas (Dos Santos y cols., 2009; Mendonça y cols., 2012).

PROPÓSITO DE LA INVESTIGACIÓN

Si bien la EP es la lesión oral más prevalente en adultos mayores, y tomando en cuenta las condiciones sistémicas y orales de este grupo etario, es que se hace necesaria la búsqueda de terapias complementarias o alternativas de tratamiento, con el fin de mejorar la calidad de vida de esta importante, y cada vez mayor, fracción de la población chilena y mundial.

En el presente estudio se evaluaron los parámetros salivales VFS, pH y concentración de proteínas totales salivales en sujetos portadores de PR con y sin EP, lesión oral asociada a candidiasis oral, a 12 meses de iniciada la intervención, que consumieron un producto lácteo enriquecido con probiótico durante 6 meses. Estos parámetros salivales se compararon con aquellos obtenidos en individuos con similares características pero que consumieron lácteo sin probiótico, y con los datos obtenidos al inicio del estudio.

Se pretende encontrar una correlación entre el consumo de probiótico y la modificación de los parámetros orales ya mencionados.

Es importante mencionar que una tesis adscrita al mismo proyecto y que está paralelamente en desarrollo analizará el recuento de LGC en esta misma población con las características ya mencionadas.

3. HIPOTESIS Y OBJETIVOS

HIPÓTESIS.

El consumo de leche enriquecida con probiótico, durante un período de 6 meses, modifica los parámetros salivales VFS, pH y concentración de proteínas en sujetos portadores de PR con EP asociada a candidiasis, a los 12 meses de iniciada la intervención, en comparación al grupo que posee esta enfermedad, pero que consume leche sin probiótico.

OBJETIVO GENERAL.

Evaluar el efecto del consumo de una leche enriquecida con probiótico, durante un período de 6 meses, en los parámetros bioquímicos salivales (VFS, pH y concentración de proteínas) de adultos mayores portadores de PR con EP a los 12 meses de iniciada la intervención.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

Objetivo específico 1

Determinar VFS, pH y concentración de proteínas totales en saliva de sujetos adultos mayores portadores de PR con EP asociada a candidiasis y sin EP que consumen leche enriquecida con o sin probiótico a 12 meses de iniciada la intervención.

Objetivo específico 2

Comparar inter e intra grupo los parámetros bioquímicos salivales obtenidos en tiempo cero, con los parámetros obtenidos luego de 12 meses de iniciada la intervención.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de estudio

Ensayo clínico controlado aleatorizado triple enmascaramiento (ciego) de 12 meses de duración.

4.1 Población Objetivo y Muestra

La población objetivo corresponde a adultos mayores, hombres y mujeres, institucionalizados y no institucionalizados. Los institucionalizados forman parte de establecimientos de larga estadía para adultos mayores (ELEAM) pertenecientes a una fundación ubicados en la comuna de Independencia, y los no institucionalizados corresponden a sujetos que asistieron a la asignatura de Prótesis Totales de la Clínica Odontológica de la Universidad de Chile (COUCH).

La muestra inicial estaba conformada por un grupo de 129 adultos mayores, de los cuales 76 sujetos pertenecen a un ELEAM y 53 sujetos asistieron a la COUCH. La muestra final estaba conformada por un grupo de 43 adultos mayores, 35 sujetos pertenecientes a ELEAM y 8 sujetos que asistieron a la COUCH. La fracción faltante abandonó el estudio por diversas razones: sujetos fueron trasladados a otro ELEAM, se negaron a seguir participando, fallecieron o dejaron de asistir a la COUCH.

La muestra se dividió en 4 grupos:

- Grupo 1: 13 individuos (institucionalizados) portadores de PR que presentan EP asociada a candidiasis, los cuales consumieron leche enriquecida con probiótico.
- Grupo 2: 15 individuos (institucionalizados) portadores de PR que presentan EP asociada a candidiasis, los cuales consumieron leche sin probiótico.
- Grupo 3: 5 individuos (institucionalizados) portadores de PR sin EP (sanos), los cuales consumieron leche enriquecida con probiótico (este bajo número de sujetos se debe a la escasa adherencia de estos al estudio, por lo cual no fue utilizado con fines estadísticos, solo descriptivos).
- Grupo 4: 10 individuos (8 no institucionalizados y 2 institucionalizados) portadores de PR sin EP (sanos), los cuales consumieron leche sin probiótico.

Los sujetos invitados a participar en este estudio, firmaron (él/ella o tutor/a) el consentimiento informado diseñado para este estudio (Anexo 1). Este documento fue aprobado por el Comité de Ética Humana de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile.

4.2 Criterios de Inclusión y Exclusión

4.2.1 Criterios de Inclusión

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

4.2.2. Criterios de Exclusión

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

4.3 Procedimiento de aleatorización

Tanto los sujetos del ELEAM como los del curso de Prótesis Totales de la Clínica Odontológica de la Universidad de Chile, se dividieron aleatoriamente en cuatro grupos equivalentes a través del software *Random Allocation* (www.random.org). Se asignó códigos de colores para identificar a cada sujeto, donde los examinadores desconocieron la correspondencia de cada color. Un monitor independiente fue encargado de develar el significado del código durante la fase de análisis de datos. Se estableció un 20% de sobremuestreo, ante posibles pérdidas de seguimiento y poder de 80%.

4.4 Definición de ciego

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

4.5 Preparación de las bebidas lácteas

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

4.6 Técnicas de recolección de la información

4.6.1 Exámenes clínicos

Los exámenes clínicos fueron llevados a cabo por dos equipos de odontólogos docente-clínicos, de las áreas de Rehabilitación Oral y Patología Oral de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, con experiencia, capacitados y calibrados en diagnosticar lesiones de mucosa oral y determinar tipo de EP asociado al uso de prótesis removible. Para medir concordancia entre los examinadores se realizó una calibración, aceptándose al menos 0,7 Índice de Kappa al inicio de los exámenes.

Los exámenes fueron realizados utilizando un espejo dental y luz artificial tipo LED. Las lesiones compatibles con diagnóstico clínico de EP se registraron siguiendo los criterios clínicos desarrollados, establecidos y validados en las Áreas Docente Asistenciales involucradas en este estudio, dependientes de la Facultad de Odontología, Universidad de Chile. Los casos que requerían recambio de

aparatos, fueron invitados a ser atendidos en nuestra facultad en el inicio del curso de Prótesis Totales una vez terminado el estudio.

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

4.6.2 Muestra salival

a. Indicaciones para toma de muestra salival

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

b. Toma de muestra salival

Las muestras de saliva no estimulada fueron recolectadas en cada sujeto luego de un estado de relajación previa de aproximadamente 5 minutos, entre las 10 y 12 AM. Se solicitó a cada sujeto estar sentado en una posición cómoda y depositar saliva durante 5 minutos en un tubo plástico estéril previamente pesado y rotulado. Las muestras fueron trasladadas refrigeradas, al Laboratorio de Bioquímica y Biología Oral de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, siendo procesadas en menos de 4 horas.

4.7 Procesamiento de las muestras

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

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

4.7.2 Medición de pH salival

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

4.7.3 Determinación de la concentración total de proteínas en saliva

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

4.8 Análisis estadístico de datos

Los datos obtenidos fueron tabulados en una planilla Excel 2010® por un solo operador y analizados mediante el software estadístico Stata® v14.0.

Se determinó el tipo de distribución de la muestra mediante el test de Shapiro-Wilk, obteniéndose una distribución normal en todas las variables, a excepción de la VFS y cantidad de proteínas totales en el grupo de individuos con EP que consumieron leche con probiótico, en la variable VFS en el grupo sano que consumió leche con probiótico y en la variable cantidad de proteínas totales en el grupo sano que consumió leche sin probiótico que tienen distribución no normal (Tabla 2).

Debido al tamaño muestral de cada grupo se utilizó el test no paramétrico de Wilcoxon para determinar diferencia estadística en las variables. Se consideró una significancia del 95% ($p < 0,05$).

Tabla 2. Clasificación de variables utilizadas en este estudio, Distribución y Test estadísticos.

Variables	Tipo	Distribución	Test estadístico
pH	Continua	Normal	Wilcoxon
VFS	Continua	Normal *	Wilcoxon
Cantidad de Proteínas Totales	Continua	Normal **	Wilcoxon

* Distribución no normal en grupo de sujetos con EP que consumieron leche con probiótico y en grupo de sujetos sanos (sin EP) que consumieron leche con probiótico.

- ** Distribución no normal en grupo de sujetos con EP que consumieron leche con probiótico y en grupo de sujetos sanos (sin EP) que consumieron leche sin probiótico.

5. RESULTADOS

A 12 meses de iniciado el estudio, y luego del consumo del producto lácteo con y sin probiótico los primeros 6 meses, se analizaron las características bioquímicas salivales (pH, VFS y cantidad de proteínas totales) de los adultos mayores y se compararon con los datos obtenidos al inicio del estudio (tiempo cero).

La diferencia en el número de participantes de los grupos con y sin EP que consumieron leche suplementada con probiótico o placebo, se debió a la poca adherencia al estudio de los adultos mayores sin EP. En el caso de los sujetos con EP que consumieron leche suplementada con probiótico, existieron muestras que no pudieron ser analizadas, puesto que no se obtuvo el volumen necesario para su procesamiento. Por lo tanto, para el análisis estadístico sólo se usaron los datos válidos, motivo por el cual el número de participantes disminuyó.

Por otra parte, los individuos sin EP que consumieron leche con probiótico presentaron una baja adherencia al estudio, lo que no permitió utilizar los resultados con fines estadísticos, sólo descriptivos.

5.1 Análisis de características salivales por grupo, a tiempo 0 y 12 meses del inicio de la intervención.

5.1.1 Análisis de pH salival:

El grupo con EP que consumió leche con probiótico presentó un valor de pH promedio de $7,10 \pm 0,56$ al inicio del estudio (T_0). Al tiempo 12 meses (T_{12}) éste disminuyó a $6,98 \pm 0,96$, sin diferencia estadística ($p=0,58$) (Gráfico 1).

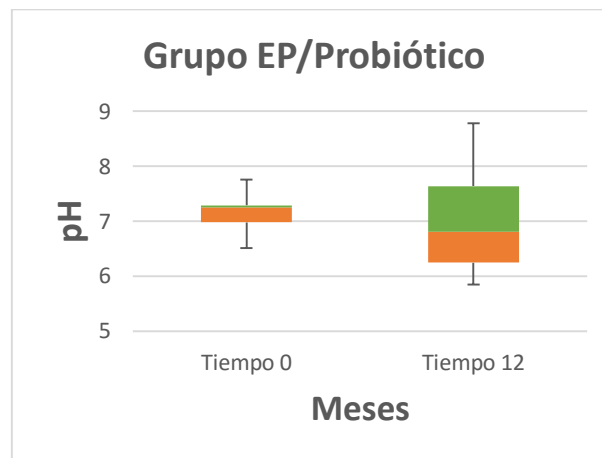


Gráfico 1: pH salival en grupo con EP que consumió leche con probiótico en T₀ y T₁₂. Se aplicó test de Wilcoxon.

El grupo con EP que consumió leche sin probiótico presentó un valor pH promedio de $7,64 \pm 0,45$ al T₀. Al T₁₂ éste disminuyó a $6,71 \pm 0,89$, con diferencia estadística ($p=0,007$) (Gráfico 2).

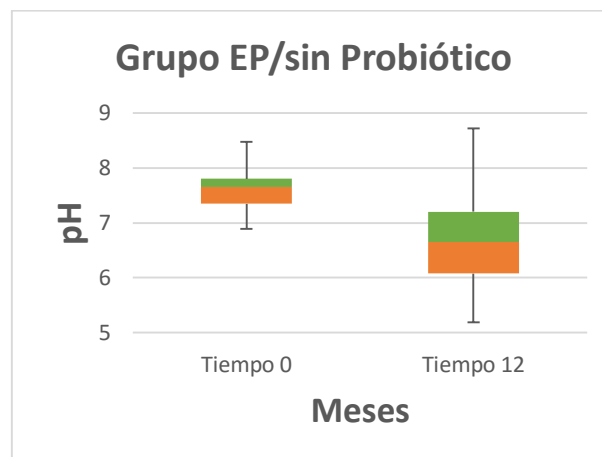


Gráfico 2: pH salival en grupo con EP que consumió leche sin probiótico en T₀ y T₁₂. Se aplicó test de Wilcoxon.

El grupo sin EP que consumió leche con probiótico presentó un valor pH promedio de $7,03 \pm 0,44$ al T_0 . Al T_{12} éste aumentó a $7,37 \pm 0,21$ (Gráfico 3).

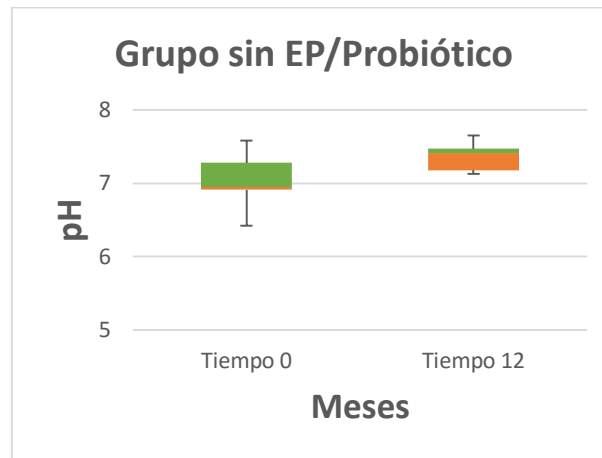


Gráfico 3: pH salival en grupo sin EP que consumió leche con probiótico en T_0 y T_{12} .

El grupo sin EP que consumió leche sin probiótico presentó un valor pH promedio de $8,05 \pm 0,43$ al T_0 . Al T_{12} éste disminuyó a $7,14 \pm 0,39$, con diferencia estadística ($p=0,005$) (Gráfico 4).

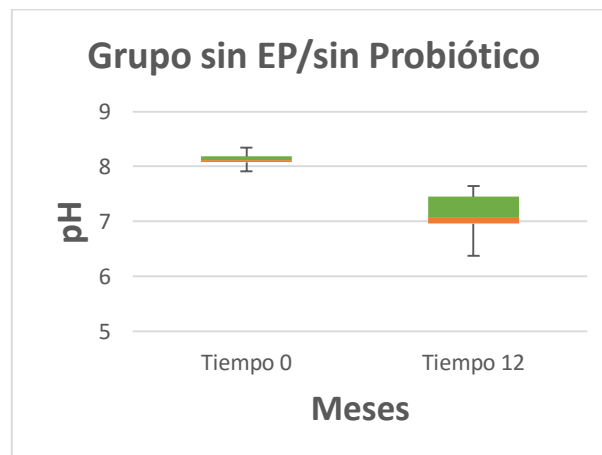


Gráfico 4: pH salival en grupo sin EP que consumió leche sin probiótico en T_0 y T_{12} . Se aplicó test de Wilcoxon, $p=0,005$.

Los resultados obtenidos de pH en los 4 grupos de estudio, en T₀ y T₁₂, se resumen en Tabla 3.

Tabla 3: Resumen de pH salival de sujetos portadores de PR con y sin EP que consumieron leche con o sin probiótico (Promedio y desviación estándar).

Grupo de Estudio	Tiempo 0 pH±SD	Tiempo 12 pH±SD	Valor de p
<i>EP/Probiótico</i>	7,10±0,56	6,98±0,96	0,58
<i>EP/sin Probiótico</i>	7,64±0,45	6,71±0,89	0,007 *
<i>Sin EP/Probiótico</i>	7,03±0,44	7,37±0,21	-
<i>Sin EP/ sin Probiótico</i>	8,05±0,43	7,14±0,39	0,005 *

*Diferencia estadística p <0,05. SD: Desviación estándar

5.1.2 Análisis de la Velocidad de Flujo Salival (ml/min):

El grupo con EP que consumió leche con probiótico presentó una mediana de VFS de 0,30 con rango 0,24 al T₀. Al T₁₂ ésta disminuyó a 0,27 con rango 0,19, con diferencia estadística (p=0,001) (Gráfico 5).

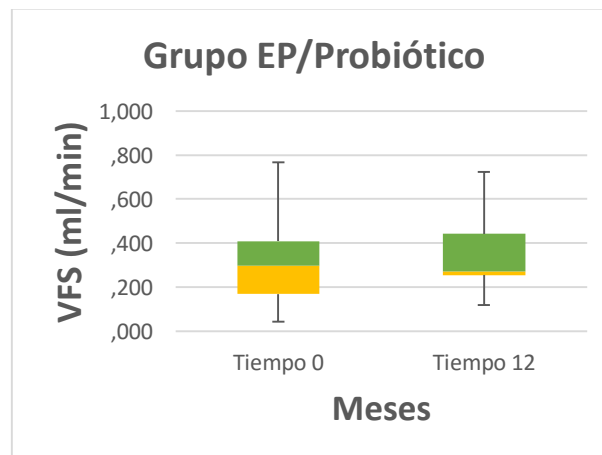


Gráfico 5: VFS (ml/min) en grupo con EP que consumió leche con probiótico en T₀ y T₁₂. Se aplicó test de Wilcoxon.

El grupo con EP que consumió leche sin probiótico presentó un promedio de VFS de $0,61 \pm 0,36$ al T_0 . Al T_{12} ésta disminuyó a $0,42 \pm 0,27$, con diferencia estadística ($p=0,019$) (Gráfico 6).

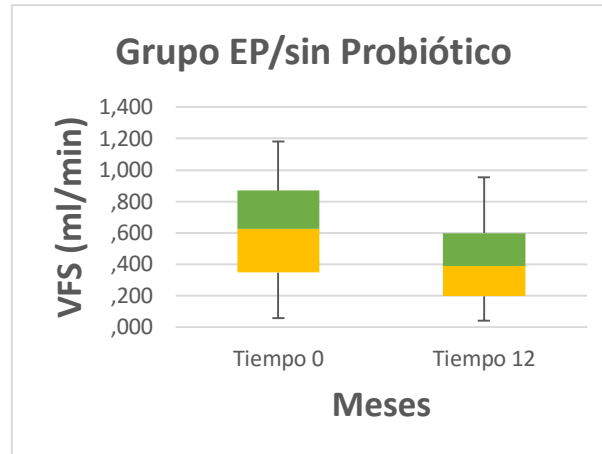


Gráfico 6: VFS (ml/min) en grupo con EP que consumió leche sin probiótico en T_0 y T_{12} . Se aplicó test de Wilcoxon.

El grupo sin EP que consumió leche con probiótico presentó una mediana de VFS de 0,41 con rango 0,04 al T_0 . Al T_{12} ésta disminuyó a 0,24 con rango 0,06 (Gráfico 7).

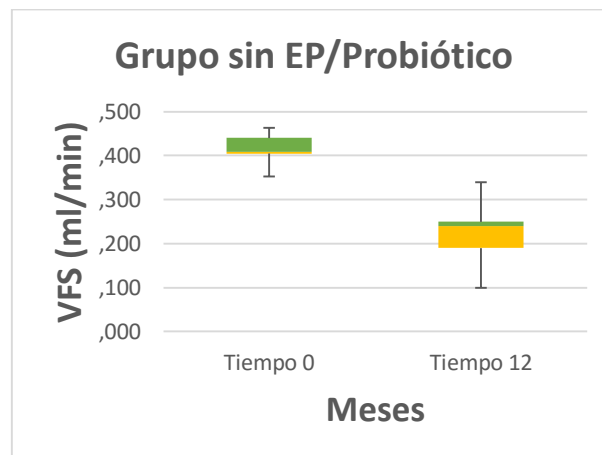


Gráfico 7: VFS (ml/min) en grupo sin EP que consumió leche con probiótico en T_0 y T_{12} .

El grupo sin EP que consumió leche sin probiótico presentó un promedio de VFS de $0,50\pm 0,27$ al T_0 . Al T_{12} ésta aumentó a $0,50\pm 0,33$, con diferencia estadística ($p=0,005$) (Gráfico 8).

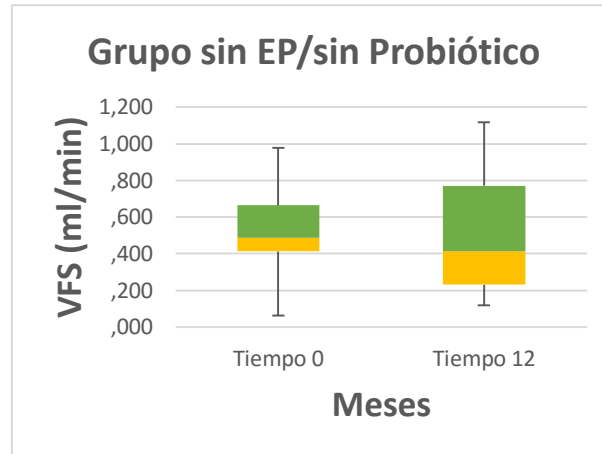


Gráfico 8: VFS (ml/min) en grupo sin EP que consumió leche sin probiótico en T_0 y T_{12} . Se aplicó test de Wilcoxon.

Los resultados obtenidos de VFS en los 4 grupos de estudio, en T_0 y T_{12} , se resumen en Tabla 4.

Tabla 4: Resumen de VFS (ml/min) de sujetos portadores de PR con y sin EP que consumieron leche con o sin probiótico (Promedio/mediana y desviación estándar/rango intercuartílico).

Grupo de Estudio	Tiempo 0 VFS±SD(rango)	Tiempo 12 VFS±SD(rango)	Valor de p
<i>EP/Probiótico</i>	0,30 (0,24)	0,27 (0,19)	0,001 *
<i>EP/sin Probiótico</i>	0,61±0,36	0,42±0,27	0,019 *
<i>Sin EP/Probiótico</i>	0,41 (0,04)	0,24 (0,06)	-
<i>Sin EP/sin Probiótico</i>	0,50±0,27	0,50±0,33	0,005 *

*Diferencia estadística $p < 0,05$. SD: Desviación estándar

5.1.3 Análisis de la Concentración Total de Proteínas en saliva ($\mu\text{g/ml}$):

El grupo con EP que consumió leche con probiótico presentó una mediana de concentración total de proteínas en saliva de 498,08 con rango 145,69 al T_0 . Al T_{12} ésta aumentó a 1869,92 con rango 1047,35, con diferencia estadística ($p=0,001$) (Gráfico 9).

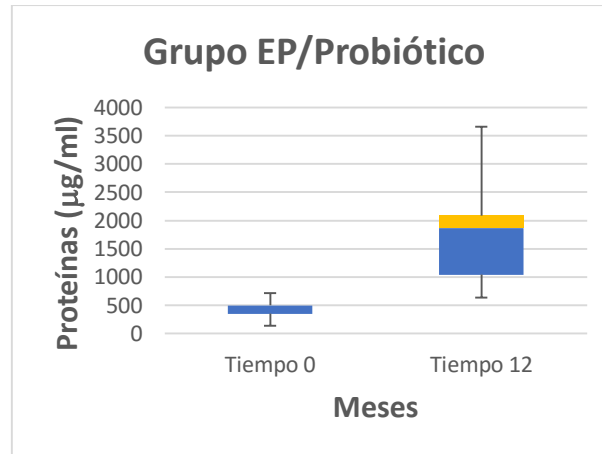


Gráfico 9: Concentración total de proteínas en saliva ($\mu\text{g/ml}$) en grupo con EP que consumió leche con probiótico en T_0 y T_{12} . Se aplicó test de Wilcoxon.

El grupo con EP que consumió leche sin probiótico presentó un valor promedio de concentración total de proteínas en saliva de $641,54 \pm 200,83$ al T_0 . Al T_{12} ésta aumentó a $1490,59 \pm 571,55$, con diferencia estadística ($p=0,002$) (Gráfico 10).

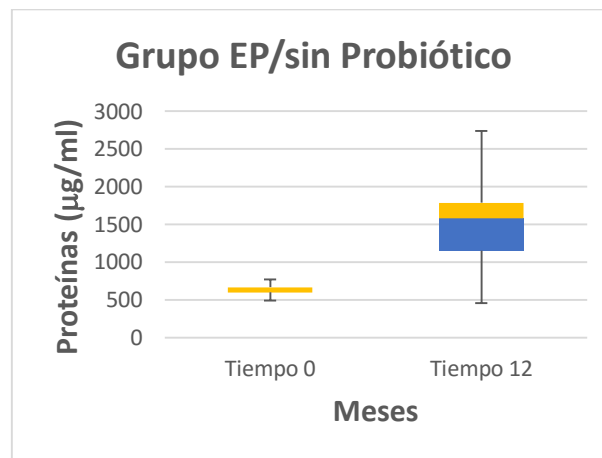


Gráfico 10: Concentración total de proteínas en saliva (µg/ml) en grupo con EP que consumió leche sin probiótico en T₀ y T₁₂. Se aplicó test de Wilcoxon.

El grupo sin EP que consumió leche con probiótico presentó un valor promedio de concentración total de proteínas en saliva de $808,65 \pm 594$ al T₀. Al T₁₂ ésta aumentó a $939 \pm 476,08$ (Gráfico 11).

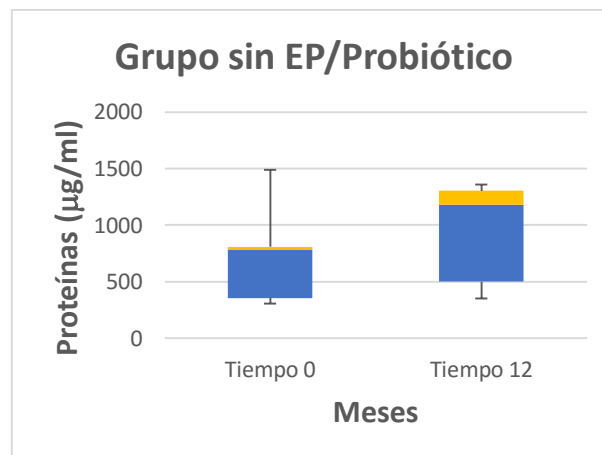


Gráfico 11: Concentración total de proteínas en saliva (µg/ml) en grupo sin EP que consumió leche con probiótico en T₀ y T₁₂.

El grupo sin EP que consumió leche sin probiótico presentó una mediana de concentración total de proteínas en saliva de 631,57 con rango 57,18 al T₀. Al T₁₂ ésta aumentó a 1393,59 con rango 1204,74, con diferencia estadística ($p=0,012$) (Gráfico 12).

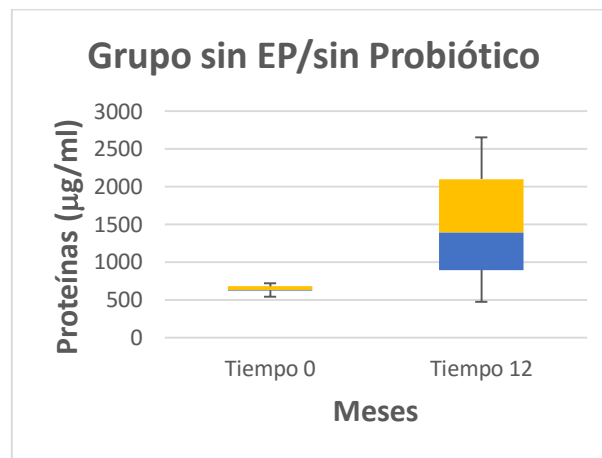


Gráfico 12: Concentración total de proteínas en saliva ($\mu\text{g}/\text{ml}$) en grupo sin EP que consumió leche sin probiótico en T_0 y T_{12} . Se aplicó test de Wilcoxon.

Los resultados obtenidos de concentración total de proteínas ($\mu\text{g}/\text{ml}$) en los 4 grupos de estudio, en tiempo 0 y a los 12 meses de iniciada la intervención, se resumen en tabla 5.

Tabla 5: Resumen de concentración total de proteínas en saliva ($\mu\text{g}/\text{ml}$) de sujetos portadores de PR con y sin EP que consumieron leche con o sin probiótico (Promedio/mediana y desviación estándar/rango intercuartílico).

Grupo de Estudio	Tiempo 0	Tiempo 12	Valor de p
	Concentración total de proteínas $\pm\text{SD}(\text{rango})$	Concentración total de proteínas $\pm\text{SD}(\text{rango})$	
<i>EP/Probiótico</i>	498,08 (145,69)	1869,92 (1047,35)	0,001 *
<i>EP/sin Probiótico</i>	641,54 \pm 200,83	1490,59 \pm 571,55	0,002 *
<i>Sin EP/Probiótico</i>	808,65 \pm 594	939 \pm 476,08	-
<i>Sin EP/sin Probiótico</i>	631,57 (57,18)	1393,59 (1204,74)	0,012 *

*Diferencia estadística $p < 0,05$.

SD: Desviación estándar

5.2 Análisis de características salivales analizadas entre grupos, a tiempo 0 y 12 meses del consumo del lácteo con o sin probiótico.

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

Los resultados obtenidos fueron:

Para la variable pH en tiempo cero hubo diferencia estadística entre los cuatro grupos ($p=0,00$), en cambio en el tiempo 12 meses no hubo diferencia estadística ($p=0,25$).

En cuanto a la variable VFS en tiempo cero hubo diferencia estadística entre los cuatro grupos ($p=0,00$), en cambio en el tiempo 12 meses no hubo diferencia estadística ($p=0,28$).

Al analizar la variable concentración total de proteínas no hubo diferencia estadística en tiempo cero ni en tiempo 12 meses con $p=0,06$ y $p=0,18$, respectivamente.

Estos resultados se resumen en Tabla 6.

Tabla 6: Comparación de variables entre grupos en T_0 y T_{12} .

<i>Variable</i>	Tiempo 0 Valor de p	Tiempo 12 Valor de p
<i>pH</i>	0,00 *	0,25
<i>VFS</i>	0,00 *	0,28
<i>Concentración total de proteínas</i>	0,06	0,17

*Diferencia estadística $p < 0,05$.

6. DISCUSIÓN

Actualmente nuestro país y el mundo, están experimentado un incremento de la población de adultos mayores, junto con un aumento en la expectativa de vida (por sobre los 80 años en el caso de las mujeres). Esto va de la mano con un proceso de envejecimiento orgánico, así como también a nivel oral. Si bien son múltiples los esfuerzos por reducir los efectos que conlleva el envejecer, aún es mucho lo que se debe realizar para entregar una buena calidad de vida a los adultos mayores. En específico en la cavidad oral, esta población aún sufre por los efectos de la caries dental y el consecuente desdentamiento que es de alta prevalencia en este grupo etario. Ante esta problemática el uso de PR constituye una buena alternativa de tratamiento, sin embargo, se ha observado que su mal uso provocaría lesiones a nivel mucoso, siendo la EP la más frecuente (Espinoza y cols., 2003). Considerando que se mantendrá la necesidad de uso de PR a futuro por parte de la población de adultos mayores a nivel nacional y mundial, es esencial conocer los posibles factores involucrados en el desarrollo de esta patología para lograr desarrollar una terapia óptima.

La saliva es un fluido biológico que desempeña múltiples funciones en base a sus variados componentes siendo un actor principal en la mantención de la homeostasis en el microambiente oral. Así es como alteraciones cuantitativas y/o cualitativas desencadenan efectos adversos locales y pueden resultar en complicaciones sistémicas (Fenoll-Palomares y cols., 2004; Preoteasa y cols., 2014).

El objetivo del presente estudio fue determinar el efecto del consumo de leche suplementada con probiótico (durante 6 meses) en los parámetros bioquímicos salivales, tales como pH, VFS y concentración de proteínas totales en sujetos portadores de PR sanos y con EP a los 12 meses de iniciada la intervención.

En lo que respecta a la variable pH, existe literatura que describe un pH promedio de 7,3 en adultos mayores sistémicamente controlados (Maheshwari y cols., 2013) siendo menor en sujetos con EP en comparación a los sin EP

(Marinoski y cols., 2014). El valor antes mencionado coincide con los resultados obtenidos al tiempo cero para todos los grupos de estudio, salvo para el grupo sin EP que consumió leche sin probiótico donde el valor promedio de pH fue de $8,05 \pm 0,43$, lo que puede explicarse en base a que los sujetos de este grupo son adultos mayores controlados que asisten a la COUCH que tienen buena higiene y mantención de las PR.

Luego de 12 meses de iniciada la intervención, se observó una disminución significativa en el pH de los grupos de sujetos con y sin EP que consumieron leche sin probiótico (placebo). Se ha descrito que condiciones bajas de pH salival (pH ácidos, bajo 6) tienden a favorecer la colonización y adhesión de las LGC tanto en materiales acrílicos como en mucosa oral (Bikandi y cols., 2000; Chopde y cols., 2012). Asimismo, las LGC al ser microorganismos fermentativos, metabolizan los hidratos de carbono, acidificando el pH salival (Chopde y cols., 2012). Lo anterior puede explicar los resultados obtenidos en el grupo con EP que consumió el lácteo sin probiótico, ya que al no actuar la cepa probiótica, ésta no sería capaz de disminuir los recuentos de LGC, como ya se ha evidenciado previamente (Hatakka y cols., 2007).

En contraparte a lo anterior, diversos estudios *in vitro* (Simark-Mattsson y cols, 2009; Haslöff y cols., 2010; Matsubara y cols., 2016) indican que las cepas probióticas inducen un pH más bajo lo que inhibe el crecimiento de *Candida* mediante un efecto anti-*biofilm* en etapas iniciales de colonización y maduración, aunque el mecanismo por el cual las cepas probióticas ejercen su efecto antifúngico en las diferentes fases de desarrollo del biofilm incluyendo la proliferación de *Candida* aún no están dilucidados. En la misma línea, Matsubara y cols. (2016) describieron que los efectos son específicos de cada especie probiótica, variando la inhibición de *C. albicans* entre las tres especies de *Lactobacillus* que estudiaron. Lo anterior podría explicar la disminución de pH del grupo de sujetos con EP que consumió el lácteo con probiótico, que si bien no fue una diferencia significativa, es una variación a considerar y estudiar más en profundidad.

En cuanto a los sujetos sin EP que consumieron leche sin probiótico, nuestros datos demuestran una disminución significativa del pH promedio al tiempo 12. En relación a esto, Lee y cols. (2013) comprobaron que la presencia de *Candida*, en recuentos bajos, medianos o altos, no es indicador de padecer esta lesión por sí solo, ya que en sujetos sin EP hay presencia de LGC en el 24% de la muestra y que incluso puede existir un recuento mediano o alto (>1.001 UFC/ml) de LGC en éstos, por lo que su metabolismo fermentativo, sumado al consumo de la bebida láctea y otros hidratos de carbono presentes en la dieta, podría explicar la acidificación del pH salival.

Cabe mencionar que en el grupo de individuos sin EP que consumió lácteo con probiótico aumentó el pH, aunque debido al tamaño muestral solo se analiza a este grupo con fines descriptivos. Este aumento es difícil de explicar ya que hay escasa evidencia respecto a sujetos sin sintomatología de EP que consumieron probióticos. Por una parte, Ishikawa y cols. (2015) efectuaron un estudio de 5 semanas de duración donde indican que el probiótico es efectivo en reducir la colonización de *Candida* en la cavidad oral, sugiriendo que los probióticos pueden prevenir la candidiasis oral, y por ende evitar la disminución de pH y, por otra parte, Sutula y cols. (2012) quienes realizaron un estudio de 8 semanas de duración (4 semanas de experimentación y luego 4 semanas sin intervención) constataron que no hubo efectos evidentes en la microbiota oral.

Luego de lo anterior descrito, se debe indicar que el rango de pH de los sujetos portadores de PR con EP oscila entre valores de 5 a 6 (Baena y cols., 2005), por lo que es importante consignar que los valores de pH promedio de todos los grupos obtenidos en este estudio, tanto al inicio como al final de la intervención, fueron mayores a lo mencionado por el autor, considerándose dentro de valores normales.

Estos valores concuerdan a su vez con lo obtenido por Vergara (2015) y Rojas (2016), adscritos al mismo proyecto FONIS, quienes refieren una disminución de pH salival en todos los grupos de estudio, luego del uso de probiótico al tiempo 3 y 6 meses respectivamente, manteniéndose en valores cercanos a 7.

Si bien el producto lácteo (con y sin probiótico) modificó los valores promedio de pH de los grupos de estudio, existe una serie de variables que también influyen el pH salival y que no fueron analizadas en el presente estudio. El uso continuo de PR, su uso nocturno y condiciones de higiene desfavorable favorece la presencia de LGC y EP, con la consecuente disminución y mantención de pH ácido, sobretodo bajo la superficie protésica (Aguirre, 2002; Gendreau y Loewy, 2011; Kossioni, 2011). Una dieta basada en una alta ingesta de hidratos de carbono constituye la fuente energética para la fermentación por parte de las LGC, que resulta en un pH ácido (Salerno y cols., 2011; Chopde y cols., 2012); también el metabolismo fermentativo de las bacterias cariogénicas pueden contribuir a esta acidificación del ambiente, ya que al momento de realizar la ficha clínica se constató que existían sujetos que presentaban lesiones de caries activas, siendo éste un parámetro no analizado en el estudio (Zeng y Burne, 2015). Además, las enfermedades sistémicas, sobre todo cuando comprometen el estado general, y la polimedicación modifican también el pH salival (Preoteasa y cols., 2014).

A modo de autocrítica, se señala que la medición del pH salival fue realizada una sola vez en el día (en la mañana) y no se consideró que variables como el ciclo circadiano o el tipo de alimentos consumidos previo a la toma de muestra salival pueden modificar los valores obtenidos (Proctor, 2000). En consecuencia, para obtener un pH salival cercano a lo real es necesario realizar la toma de muestra y medición de pH 2 a 3 veces al día durante por lo menos 2 semanas.

La segunda variable analizada es la Velocidad de Flujo Salival. A pesar de que no existe consenso respecto a los parámetros de normalidad de la VFS (Fenoll-Palomares y cols., 2004; Sawair y cols., 2009; Wang y cols., 2012, Affoo y cols., 2015), está comprobado que ésta disminuye con la edad, y esta disminución puede contribuir a infecciones orales, inflamación y desgaste mecánico (Nagler y Hershkovich, 2005; Ryu y cols., 2010; Affoo y cols., 2015). Maheshwari y cols. (2013) determinaron una VFS promedio de 0,3 ml/min en una población entre 40 a 75 años, mientras que Altarawneh y cols. (2013) establecen una VFS normal de 0,5 ml/min tanto para individuos sanos como los con EP.

Para efectos de este estudio, y siguiendo la línea de Vergara (2015) y Rojas (2016), se utilizará la clasificación propuesta por Glazar y cols. (2010) quienes establecen como normal una VFS mayor o igual a 0,4 ml/min, VFS reducida entre 0,2 y 0,39 ml/min e hiposalivación cuando la VFS es menor a 0,2 ml/min.

Al inicio del proyecto todos los grupos presentaban valores normales, concordantes con lo expresado por Altarawneh y cols. (2013), excepto el grupo de individuos con EP que consumieron lácteo con probiótico quienes presentaban flujo disminuido.

Al tiempo 12 hubo una disminución significativa de la VFS, obteniéndose valores de flujo salival reducido en ambos grupos que consumieron el lácteo con probiótico. El grupo de sujetos sin EP que consumió el lácteo sin probiótico tuvo una pequeña variación. Estas diferencias pueden ser explicadas debido a que los adultos mayores institucionalizados (muestra mayoritaria en los grupos que disminuyó esta variable) consumen más medicamentos que los no institucionalizados y esto puede estar asociado con una mayor prevalencia de hiposalivación (Glazar y cols., 2010).

Al mismo tiempo, la colonización por *Candida* se asocia significativamente con la xerostomía y bajas tasas de flujo salival (Campisi y cols, 2008; Lynge Pedersen y cols., 2015). La xerostomía, causada principalmente por los medicamentos que consumen los adultos mayores para combatir la diabetes e hipertensión (Campisi y cols., 2008), es a menudo (pero no siempre) asociada a una VFS reducida o alteración de proteínas salivales, lo que sugiere que da lugar a un cambio en la composición del microbioma oral que favorece la predisposición a la colonización e infección por *Candida* (Campisi y cols., 2008; Altarawneh y cols., 2013; Lynge Pedersen y cols., 2015). Es por esto, que se sugiere en futuros estudios evaluar esta condición en sujetos que presenten EP y observar si tiene impacto en ella el uso de probióticos.

Si bien hubo una disminución significativa en el grupo de sujetos con EP que consumió lácteo sin probiótico, este valor se mantuvo dentro de la normalidad. Nuestros resultados coinciden con los obtenidos por Rojas (2016) quienes

estudiaron a la misma población al tiempo 6 meses, no así con los resultados de Vergara (2015) quién confirmó un aumento de la VFS en el grupo con EP que consumió lácteo con probiótico a los 3 meses de iniciado el estudio.

Es menester mencionar que la VFS reducida en adultos mayores puede ser relacionada con enfermedades sistémicas, xerostomía, medicamentos y el número de estos que se consumen (Glazar y cols., 2010; Morales y Aldapes, 2013; Lynge Pedersen y cols., 2015), en especial los antidepresivos, ansiolíticos, diuréticos y antihipertensivos (Preoteasa y cols., 2014). Así también, la VFS reducida puede estar asociada con el aumento de la prevalencia de pérdida de dientes y caries (Wyatt, 2002; Glazar y cols., 2010).

La tercera variable analizada corresponde a la cantidad de proteínas totales en saliva no estimulada ($\mu\text{g/ml}$). Considerando el rol protector de la saliva, variaciones en su composición pueden constituir una aproximación al diagnóstico de enfermedades (Kóscielniak y cols., 2012). En la actualidad no existen estudios concluyentes sobre un valor de referencia para el recuento de proteínas totales (esto por la cantidad y variedad proteica en distintas edades y estado de salud general) y tampoco sobre un método único y estandarizado, por lo que no es posible comparar nuestros resultados con los obtenidos por otros autores (Castro y cols., 2012; Shaila y cols., 2013; Preoteasa y cols., 2014). Teniendo en cuenta lo anterior, en este estudio se verificó un aumento significativo en todos los grupos de estudio, alcanzado el mayor valor el grupo de sujetos con EP que consumió el lácteo con probiótico. Estos valores también concuerdan con los resultados obtenidos por el estudio de Vergara (2015) donde hubo un aumento significativo de la concentración de proteínas totales en todos los grupos de estudio a los 3 meses del uso de un producto lácteo enriquecido con probiótico.

Complementando lo anterior, se ha constatado información dispar con respecto a la edad avanzada y su influencia en la cantidad de proteínas totales en saliva. Por un lado, algunos estudios avalan que podría constituir un factor de riesgo para EP, ya que la inmunidad celular, que proporciona inmunidad frente a LGC, disminuye con la edad (Ryu y cols., 2010; Gleiznys y cols., 2015), mientras otros autores

señalan que las proteínas totales aumentan a medida que avanza la edad, independiente del sexo de los individuos, valor que se incrementa aún más en sujetos con EP, especialmente en EP tipo II (Bencharit y cols., 2012; Castro y cols., 2012). Sutula y cols. (2012) incluso señalan que la VFS y las contribuciones de proteínas desde la saliva glandular y del fluido crevicular son los principales factores que afectan la concentración de proteínas salivales y que la vejez como tal no afecta la composición de la saliva.

Si bien en los grupos que consumieron probiótico aumentó el valor de proteínas totales en saliva, existe literatura que describe que su uso reduce la cantidad de *Candida*, por lo que hay una reducción significativa en los niveles de IgA anti-*Candida* después de la terapia con este suplemento, probablemente debido a la menor estimulación antigénica (Dos Santos y cols., 2009).

Debido a lo anterior es que es necesario en futuras investigaciones ahondar más en este tópico y realizar un análisis proteómico de la saliva en presencia y ausencia de EP, esto porque puede aportar información valiosa para el estudio de la EP y su desarrollo, además del posible efecto benéfico de cepas probióticas. Por el momento contamos con las aproximaciones de Byrd y cols. (2014), quienes describen un aumento de los niveles de cistatinas, inmunoglobulinas (ambas indicativas de respuesta de defensa a la inflamación) y lactotransferrina (con propiedades antifúngicas y antibacterianas) en sujetos con EP portadores de PR en comparación con los sin EP (Salvatori y cols., 2016), y de Bencharit y cols. (2012), quienes concluyen que la gran presencia de Igs en sujetos con EP demuestra un papel importante para la respuesta inmune mediada por células B. Por otra parte, se ha demostrado que proteínas salivales como las mucinas y estaterinas pueden actuar como receptores de adhesión utilizados por *Candida* (Gleiznys y cols., 2015), por lo que sus concentraciones en saliva pueden ser un factor a considerar en el inicio y desarrollo de la EP.

Es relevante mencionar que la evidencia disponible acerca de los parámetros salivales estudiados (pH, VFS, concentración de proteínas totales) en

adultos mayores portadores de PR con EP es escasa, encontrándose aún en menor número estudios que relacionen estas variables con el uso de probióticos.

Se sugiere en investigaciones futuras realizar una asociación de los parámetros analizados en el presente estudio con la presencia de la cepa probiótica en el microambiente oral para conocer el alcance en el tiempo de su intervención, y si tienen algún impacto en las demás bacterias presentes en la cavidad oral. A su vez, controlar todas las variables antes mencionadas, homogeneizar la población de estudio (condiciones sistémicas, consumo de medicamentos, prevalencia de caries y otras variables que interfieren en los parámetros analizados) y aumentar el sobremuestreo por la alta pérdida de sujetos a lo largo del estudio.

7. CONCLUSIONES

- Hubo una variación significativa del pH en los grupos que consumieron el lácteo sin probiótico, pero se mantuvo dentro de los rangos normales para el pH salival, por lo que no es posible comprobar el efecto de los probióticos en la mencionada variable.
- Existió una variación significativa de la VFS en los grupos analizados, alcanzando una tasa de flujo salival reducida en los individuos con EP que consumieron el lácteo con probiótico al tiempo 12 meses. A pesar de esto, no es posible evaluar el efecto del probiótico en esta variable por los múltiples factores que inciden en la VFS.
- La concentración total de proteínas en la saliva aumentó en los sujetos con y sin EP, por lo que la hipótesis planteada es verdadera. Esto concuerda con los estudios que hay al respecto. No obstante, es necesario homologar el método de cuantificación y a su vez realizar un análisis cualitativo de las proteínas salivales para las futuras investigaciones.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Abaci O, Haliki-Uztan A, Ozturk B, Toksavul S, Ulusoy M, Boyacioglu H (2010). Determining *Candida* spp. incidence in denture wearers. *Mycopathologia* 169(5):365-72.
- Affoo RH, Foley N, Garrick R, Siqueira WL, Martin RE (2015). Meta-Analysis of Salivary Flow Rates in Young and Older Adults. *J Am Geriatr Soc* 63(10):2142-51.
- Aguirre J (2002). Candidiasis orales. *Rev Iberoam Micol* 19: 17-21.
- Altarawneh S, Bencharit S, Mendoza L, Curran A, Barrow D, Barros S y cols. (2013). Clinical and histological findings of denture stomatitis as related to intraoral colonization patterns of *Candida albicans*, salivary flow and dry mouth. *J Prosthodont* 22(1):13-22.
- Badet C, Thebaud NB (2008). Ecology of lactobacilli in the oral cavity: A review of literature. *Open Microbiol J* 2:38-48.
- Baena-Monroy T, Moreno-Maldonado V, Franco-Martínez F, Aldape-Barrios B, Quindós G, Sánchez-Vargas LO (2005). *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus mutans* colonization in patients wearing dental prosthesis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 10:E27-39.
- Bencharit S, Altarawneh SK, Baxter SS, Carlson J, Ross GF, Border MB y cols. (2012). Elucidating role of salivary proteins in denture stomatitis using a proteomic approach. *Mol Biosyst* 8(12):3216-23.
- Bikandi J, Moragues MD, Quindós G, Polonelli L, Pontón J (2000). Influence of environmental pH on the reactivity of *Candida albicans* with salivary IgA. *J Dent Res* 79(6): 1439-1442.
- Bilhan H, Sulun T, Erkose, G, Kurt H, Erturan Z, Kutay O y cols. (2009). The role of *Candida albicans* hyphae and *Lactobacillus* in denture-related stomatitis. *Clin Oral Invest* 13(4):363-8.
- Bonifait L, Chandad F, Grenier D (2009). Probiotics for oral health: myth or reality? *J Can Dent Assoc* 75(8):585-90.
- Byrd WC, Schwartz-Baxter S, Carlson J, Barros S, Offenbacher S, Bencharit S (2014). Role of salivary and candidal proteins in denture stomatitis: an exploratory proteomic analysis. *Mol BioSyst* 10(9):2299-2304.
- Cagetti MG, Mastroberardino S, Milia E, Cocco F, Lingström P, Campus G (2013). The use of probiotic strains in caries prevention: a systematic review. *Nutrients* 5(7):2530-50.
- Caglar E, Kargul B, Tanboga I (2005). Bacteriotherapy and probiotics' role on oral health. *Oral Dis* 11(3):131-137.
- Campisi G, Panzarella V, Matranga D, Calvino F, Pizzo G, Lo Muzio L y cols. (2008). Risk factors of oral candidosis: a twofold approach of study by fuzzy logic and traditional statistic. *Arch Oral Biol* 53(4):388-97.
- Castro RJ, Guzmán G, Giacaman RA (2012). Comparación de la concentración total de proteínas salivales de adultos y adultos mayores. *Rev Clin Period Implantol Rehabil Oral* 5(1):25-28.
- Chopde N, Jawale B, Pharande A (2012). Microbial colonization and their relation with potential cofactors in patients with denture stomatitis. *J Contemp Dent Pract* 13(4):456-9.
- Dawes C (1996). Factors influencing salivary flow rate and composition. *Brit Dent J* 2:27-41.
- Dorocka-Bobkowska B, Zozulinska-Ziolkiewicz D, Wierusz-Wysocka B, Hedzelek W, Szumala-Kakol A, Budtz-Jørgensen E (2010). *Candida*-associated denture stomatitis in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 90(1):81-6.
- Dos Santos AL, Jorge AO, Dos Santos SS, Silva CR, Leão MV (2009). Influence of probiotics on *Candida* presence and IgA anti-*Candida* in the oral cavity. *Braz J Microbiol* 40(4):960-4.
- Dos Santos CM, Hilgert JB, Padilha DM, Hugo FN (2010). Denture stomatitis and its risk indicators in south Brazilian older adults. *Gerodontology* 27(2):134-40.
- Emami E, Taraf H, Grandmont P, Gauthier G, Koninck L, Lamarche C y cols. (2012). The association of denture stomatitis and partial removable dental prostheses: a systematic review.

Int J Prosthodont. 25(2):113–119.

- Espinoza I, Rojas R, Aranda W, Gamonal J (2003). Prevalence of oral mucosal lesions in elderly people in Santiago, Chile. *J Oral Pathol Med* 32(10):571–575.
- Fábíán TK, Fejérdy P, Csermely P (2008). Saliva in Health and Disease, Chemical Biology of. *Wiley Encyclopedia of Chemical Biology* 1–9.
- Fábíán TK, Hermann P, Beck A, Fejérdy P, Fábíán G (2012). Salivary Defense Proteins: Their Network and Role in Innate and Acquired Oral Immunity. *Int J Mol Sci* 13(4):4295–4320.
- Farah CS, Lynch N, McCullough MJ (2010). Oral fungal infections: an update for the general practitioner. *Aust Dent J* 55 Suppl 1:48–54.
- Fenoll-Palomares C, Muñoz-Montagud JV, Sánchez V, Herreros B, Hernández V, Mínguez M y cols. (2004). Unstimulated salivary flow rate, pH and buffer capacity of saliva in healthy volunteers. *Rev Esp Enferm Dig* 96(11):773-783.
- Figueiral MH, Azul A, Pinto E, Fonseca PA, Branco FM, Scully C (2007). Denture-related stomatitis: identification of aetiological and predisposing factors - a large cohort. *J Oral Rehabil* 34(6):448-55.
- Gendreau L, Loewy ZG (2011). Epidemiology and etiology of denture stomatitis. *J Prosthodont* 20(4):251-260.
- Glazar I, Urek MM, Brumini G, Pezelj-Ribaric S (2010). Oral sensorial complaints, salivary flow rate and mucosal lesions in the institutionalized elderly. *J Oral Rehabil* 37(2):93-9.
- Gleiznys A, Zdanavičienė E, Žilinskas J (2015). *Candida albicans* importance to denture wearers. A literature review. *Stomatologija* 17(2):54-66.
- Guggenheimer J, Moore PA (2003). Xerostomia: etiology, recognition and treatment. *JADA* 134(1):61-9; quiz 118-9.
- Haslöf 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-Knuutila H, Richardson M, Poussa T, Meurman JH y cols. (2007). Probiotics reduce the prevalence of oral *Candida* in the elderly – a randomized controlled trial. *J Dent Res* 86(2):125-130.
- He X, Lux R, Kuramitsu HK, Anderson MH, Shi W (2009). Achieving probiotic effects via modulating oral microbial ecology. *Adv Dent Res* 21(1):53-56.
- Heintze U, Birkhed D, Björn H (1983). Secretion rate and buffer effect of resting and stimulated whole saliva as a function of age and sex. *Swed Dent J* 7(6):227-38.
- Instituto Nacional de Estadísticas (2007). Adulto Mayor en Chile. [URL disponible en:http://www.ine.cl/canales/sala_prensa/noticias/2007/septiembre/boletin/ine_adulto_mayor.pdf (acceso noviembre 2015)].
- Ishikawa KH, Mayer MP, Miyazima TY, Matsubara VH, Silva EG, Paula CR, y cols. (2015). A multispecies probiotic reduces oral *Candida* colonization in denture wearers. *J Prosthodont* 24(3):194-9.
- Koeck B (2007). Prótesis Completas. 4ª ed. *Urban y Fischer* 13:344-346.
- Köhler GA, Assefa S, Reid G (2012). Probiotic interference of *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 and *Lactobacillus reuteri* RC-14 with the opportunistic fungal pathogen *Candida albicans*. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2012, ID 636474, 14 pages.
- Kościelniak D, Jurczak A, Zygmunt A, Krzyściak W (2012). Salivary proteins in health and disease. *Acta Biochim Pol* 59(4):451-7.
- Kossioni AE (2011). The prevalence of denture stomatitis and its predisposing conditions in an older Greek population. *Gerodontology* 28(2):85-90.
- Koteswara RP, Kamalakanth SK, Lakshmi KN, Mereddy RR (2013). Denture Stomatitis - A Review. *Indian J Dent Adv* 5(1):1107-1112.

- Krom BP, Kidwai S, Ten Cate JM (2014). *Candida* and other fungal species: forgotten players of healthy oral microbiota. *J Dent Res* 93(5):445-51.
- Kulak-Ozkan Y, Kazazoglu E, Arikian A (2002). Oral hygiene habits, denture cleanliness, presence of yeast, and stomatitis in elderly people. *J Oral Rehabil* 29(3):300-304.
- Lee X, Gómez L, Vergara C, Astorga E, Cajas N, Ivankovic M (2013). Association between presence of *Candida* yeasts and elderly patient factors with and without denture stomatitis. *Int J Odontostomat* 7(2):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(3):141-6.
- Lyng Pedersen AM, Nauntofte B, Smidt D, Torpet LA (2015). Oral mucosal lesions in older people: relation to salivary secretion, systemic diseases and medications. *Oral Dis* 21(6):721-9.
- Maheshwari A, Maheshwari B, Khandelwal V (2013). Salivary Flow Assessment In Denture Wearers. *WebmedCentral plus Biochemistry* 4(11):WMCPLS00103
- Maller US, Karthik KS, Maller SV (2010). Candidiasis In Denture Wearers- A Literature Review. *JIADS* 1(1):27-30.
- Mandel ID, Wotman S (1976). The salivary secretions in health and disease. *Oral Sri Rev* 8:25-47.
- Marinoski J, Bokor-Bratic M, Cankovic M (2014). Is denture stomatitis always related with *Candida* infection?. A case control study. *Med Glas* 11(2): 379-84.
- Matsubara VH, Wang Y, Bandara HM, Mayer MP, Samaranayake LP (2016). Probiotic lactobacilli inhibit early stages of *Candida albicans* biofilm development by reducing their growth, cell adhesion, and filamentation. *Appl Microbiol Biotechnol* Apr 18.
- Mendonça FH, Santos SS, Faria Ida S, Gonçalves e Silva CR, Jorge AO, Leão MV (2012). Effects of probiotic bacteria on *Candida* presence and IgA anti-*Candida* in the oral cavity of elderly. *Braz Dent J* 23(5):534-8.
- Ministerio de Salud (2003). Resultados I Encuesta de Salud, 2003. [URL disponible en: <http://www.medicinadefamiliares.cl/Protocolos/encnacsalres.pdf> (acceso noviembre 2015)].
- Ministerio de Salud (2010). Guía Clínica Salud Oral Integral para adultos de 60 años. [URL disponible en: <http://web.minsal.cl/portal/url/item/7221747c2c9484b7e04001011f0141a4.pdf> (acceso noviembre 2015)].
- Morales R, Aldape B (2013). Salivary flow and the prevalence of xerostomia in geriatric patients. *Rev ADM* 70(1):25-29.
- Nagler RM, Hershkovich O (2005). Age-related changes in unstimulated salivary function and composition and its relations to medications and oral sensorial complaints. *Aging Clin Exp Res* 17(5):358–366.
- Navazesh M (1993). Methods for collecting saliva. *Ann N Y Acad Sci* 694: 72–7.
- Nieuw Amerongen AV, Veerman ECI (2002). Saliva – the defender of the oral cavity. *Oral Dis* 8(1):12-22.
- Nieuw Amerongen AV, Bolscher JG, Veerman EC (2004). Salivary proteins: protective and diagnostic value in cariology? *Caries Res* 38(3):247-53.
- Organización de las Naciones Unidas (2002). Informe de la Segunda Asamblea Mundial sobre Envejecimiento. [URL disponible en http://www.monitoringris.org/documents/norm_glob/mipaa_spanish.pdf (acceso en noviembre 2015)].
- Paillaud E, Merlier I, Dupeyron C, Scherman E, Poupon J, Bories PN (2004). Oral candidiasis and nutritional deficiencies in elderly hospitalised patients. *Br J Nutr* 92(5):861-7.
- Pattanaik S, Vikas BVJ, Pattanaik B, Sahu S, Lodam S (2010). Denture Stomatitis: A Literature Review. *JIAOMR* 22(3):136-140
- Pereira-Cenci T, Del Bel Cury AA, Crielaard W, Ten Cate JM (2008). Development of *Candida*-associated denture stomatitis: new insights. *J Appl Oral Sci* 16(2):86-94

- Proctor GB (2000). The physiology of salivary secretion. *Periodontol 2000* 70(1):11-25.
- Preoteasa E, Tâncu AM, Iosif L, Melescanu Imre M, Murariu-Măgureanu C, Preoteasa CT (2014). Salivary changes related to systemic diseases in the edentulous patients. *J Med Life* 7(4):577-80.
- Rojas D. (2016). Efecto de leche suplementada con probiótico en el recuento y diversidad de levaduras del género *Candida* asociado a pH y velocidad de flujo salival, en adultos mayores portadores de prótesis removible con estomatitis protésica. Trabajo de investigación, requisito para optar al título de cirujano-dentista.
- Rudney JD (1995). Does variability in salivary protein concentrations influence oral microbial ecology and oral health? *Crit Rev Oral Biol Med* 6(4):343-367.
- Ryu M, Ueda T, Saito T, Yasui M, Ishihara K, Sakurai K (2010). Oral environmental factors affecting number of microbes in saliva of complete denture wearers. *J Oral Rehabil* 37(3):194-201.
- Salerno C, Pascale M, Contaldo M y cols. (2011). *Candida*-associated denture stomatitis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 16(2):e139-143.
- Salvatori O, Puri S, Tati S, Edgerton M (2016). Innate Immunity and Saliva in *Candida albicans*-mediated Oral Diseases. *J Dent Res* 95(4):365-71.
- Sawair FA, Ryalat S, Shayyab M, Saku T (2009). The unstimulated salivary flow rate in a Jordanian healthy adult population. *J Clin Med Res* 1(4):219–225.
- Sazawal S, Hiremath G, Dhingra U, Malik P, Deb S, Black RE (2006). Efficacy of probiotics in prevention of acute diarrhoea: a meta-analysis of masked, randomised, placebo-controlled trials. *Lancet Infect Dis* 6(6):374-82.
- Servicio Nacional del Adulto Mayor (2009). Las Personas Mayores en Chile Situación, avances y desafíos del envejecimiento y la vejez. [URL disponible en http://www.senama.cl/filesapp/las_personas_mayores_en_chile_situacion_avances_y_desafios_2.pdf (acceso en noviembre 2015)].
- Shaila M, Pai GP, Shetty P (2013). Salivary protein concentration, flow rate, buffer capacity and pH estimation: A comparative study among young and elderly subjects, both normal and with gingivitis and periodontitis. *J Indian Soc Periodontol* 17(1):42-6.
- Shulman JD, Rivera-Hidalgo F, Beach MM (2005). Risk factors associated with denture stomatitis in the United States. *J Oral Pathol Med* 34(6):340-6.
- Simark-Mattsson C, Jonsson R, Emilson CG, Roos K (2009). Final pH affects the interference capacity of naturally occurring oral *Lactobacillus* strains against mutans streptococci. *Arch Oral Biol* 54(6):602–607.
- Superintendencia de Salud (2006). Perfil Epidemiológico del Adulto Mayor en Chile. [URL disponible en http://www.supersalud.gob.cl/documentacion/569/articles-4020_recurso_1.pdf (acceso en noviembre 2015)].
- Sutula J, Coulthwaite L, Thomas L, Verran J (2012). The effect of a commercial probiotic drink on oral microbiota in healthy complete denture wearers. *Microb Ecol Health Dis* Oct 3;23.
- Tay LY, Jorge JH, Herrera DR, Campanha NH, Gomes BP, Andre Dos Santos F (2014). Evaluation of different treatment methods against denture stomatitis: a randomized clinical study. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 118(1):72-7.
- Thein ZM, Samaranayake YH, Samaranayake LP (2006). Effect of oral bacteria on growth and survival of *Candida albicans* biofilms. *Arch Oral Biol* 51: 672-680.
- Twetman S, Keller MK (2012). Probiotics for caries prevention and control. *Adv Dent Res* 24(2):98-102.
- Vergara C. (2015). Efecto del consumo de leche enriquecida con probióticos en las características salivales de adultos mayores portadores de prótesis removible con y sin estomatitis protésica asociada a candidiasis oral. Trabajo de investigación, requisito para optar al título de cirujano-dentista.

- Wang XP, Zhong B, Chen ZK, Stewart ME, Zhang C, Zhang K y cols. (2012). History of frequent gum chewing is associated with higher unstimulated salivary flow rate and lower caries severity in healthy Chinese adults. *Caries Res* 46:513–518.
- Wyatt CC (2002). Elderly Canadians residing in long-term care hospitals: Part II. Dental caries status. *J Can Dent Assoc* 68(6):359-63.
- Zárate AN, Leyva ER, Franco MF (2004). Determinación de pH y proteínas totales en saliva en pacientes con y sin aparatología ortodóncica fija (estudio piloto). *Rev Odont Mex* 8(3): 59-63.
- Zeng L, Burne RA (2015). Sucrose- and Fructose-Specific Effects on the Transcriptome of *Streptococcus mutans*, as Determined by RNA Sequencing. *Appl Environ Microbiol* 82(1):146-56.

9. ANEXOS

Anexo 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 : UNIVERSIDAD DE CHILE. FACULTAD DE ODONTOLÓGIA.

DIRECCIÓN : SERGIO LIVINGSTONE 943. SANTIAGO

NOMBRE DEL PACIENTE :

FECHA :

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Lugar donde se realizará la intervención.

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

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

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

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

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

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

Aclaraciones

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

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

Carta de Consentimiento Informado

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

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

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

Nombre del Paciente: _____

RUT: _____

Firma: _____

Fecha: _____

Sección a llenar por el Investigador Principal

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

Nombre del Investigador Principal: _____

Firma: _____

Fecha: _____

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

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

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

NOMBRE (s):

APELLIDOS:

GÉNERO EDAD (años) NIVEL EDUCACIONAL ESTADO CIVIL

1- Femenino

2- Masculino

1. Sin escolaridad

2. Primaria

3. Secundaria

4. Superior

1. Soltero(a)

2. Casado(a)

3. Viudo(a)

HOGAR:

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

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

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

1		
2		
3		

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"/>

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		

VIII. ESTOMATITIS PROTÉSICA: (Clasifique según Newton)

Si No

TIPO UBICACIÓN MAXILAR UBICACIÓN MANDIBULAR

- | | | |
|-------------|---------------------|----------------------------------|
| 1. Tipo I | 1. Paladar duro | 1. Reborde alveolar |
| 2. Tipo II | 2. Paladar | 2. Otra ubicación (especifique): |
| 3. Tipo III | 3. Reborde alveolar | |

IX. Uso de prótesis

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

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

1. Gingivitis

Ausente	<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:

.....

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

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

XII. Edentulismo (Clasifique según Kennedy)

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

Notas del examinador