



Uso de probióticos como bacterioterapia en inhibición del crecimiento del *Streptococcus*

mutans: revisión de literatura

Katlheen Julieth Alfonso Zabala

Leidy Juliana Estrada Torres

Universidad Antonio Nariño

Sede Bucaramanga

Programa de Odontología

Bucaramanga

2021

Revisión de literatura de la bacterioterapia en la inhibición del crecimiento del
Streptococcus mutans

Katlheen Julieth Alfonso Zabala

Leidy Juliana Estrada Torres

Director: Juana Patricia Sanchez, M.Sc PhD.

Área de Investigación: Ciencias de la salud- Odontología

Línea de Investigación: Ciencias básicas aplicadas a la clínica

Universidad Antonio Nariño

Sede Bucaramanga

Programa de Odontología

Bucaramanga

2021

Nota de aceptación:

Firma del presidente del jurado

Firma del jurado

Firma del jurado

Bucaramanga, 29 de abril de 2021

Dedicatoria

A Dios:

Este trabajo de grado va dedicado a Dios primeramente por ser mi guía durante toda mi carrera profesional, por darme sabiduría, fortaleza y conocimiento para poder culminarla y acompañarme en cada logro.

A mis padres:

A mi madre Sandra Zabala y a mi padre Fredy Alfonso por todo el amor y el apoyo incondicional que me brindaron, por estar atentos en cada cosa que necesite, por cada sacrificio que sé que fue duro pero aquí se ven los frutos de todo el esfuerzo y por su paciencia durante toda mi carrera profesional, sin ustedes nada de esto hubiera sido posible.

A mis familiares y amigos:

Que siempre estuvieron presentes con sus buenas energías y palabras de ánimo, a todos aquellos amigos que pusieron su granito para yo hoy poder lograr esta meta, les doy mis más inmensas gracias por tanto apoyo, a mis abuelos que siempre me ven como una triunfadora y no dudan de mis capacidades, los amo gracias por todas sus enseñanzas, a mi novio Ciro Caicedo por tanto amor y todo el apoyo que me brindó en los momentos que más lo necesité, finalmente a mi compañera Leidy Juliana Estrada Torres, por sus grandes aportes y el apoyo que nos dimos mutuamente para poder culminar nuestro trabajo de grado, lo logramos.

Katlheen Julieth Alfonso Zabala

A Dios:

Por darme vida, salud y sabiduría a lo largo del estudio para lograr finalizar mi carrera de odontología y culminar dicho trabajo de grado con éxito, así como también permitirme sonreír ante todos mis logros, siendo uno de ellos un paso importante en mi vida.

A mis padres:

Por haberme guiado en todo momento y acompañarme en este proceso de formación; a mi madre María Margoth Torres por su amor, paciencia y estar a mi lado acompañándome cuando más lo necesité; a mi padre Julio César Estrada por su trabajo y sacrificio para ayudarme a salir adelante e incentivar me a estudiar ésta carrera tan hermosa, los dos hacen parte de los logros alcanzados a lo largo de mi vida y éste es uno de ellos.

A mis Maestros y amigos:

Principalmente a nuestra directora de tesis Juana Patricia Sanchez por el tiempo y esfuerzo que dedicó al compartir sus conocimientos guiándonos en éste trabajo y orientándonos en la construcción de nuestra tesis de grado, igualmente a quienes brindaron su instrucción al impartir su cátedra a lo largo de mi estudio y así poder aplicarla en el diario vivir como profesional, a mis amigos y demás familiares por hacer parte de éste sueño, apoyarme en cada una de mis decisiones y estar siempre presentes en todo momento y por supuesto, a mi compañera Katlheen Julieth Alfonso, por construir éste trabajo juntas y apoyarnos recíprocamente para lograr culminarlo.

Leidy Juliana Estrada Torres

Agradecimientos

En primer lugar agradecer a Dios todo poderoso por la fortaleza que nos dio durante toda la carrera, por brindarnos sabiduría y entendimiento para aprender sobre esta gran profesión y cumplir la meta de finalizar los estudios de pregrado, deseamos expresar también nuestro gran agradecimiento a la directora de esta tesis, Dra. Juana Patricia Sánchez, por la dedicación y apoyo que nos brindó en este trabajo, por el respeto a nuestras sugerencias e ideas y por la dirección y el rigor que nos llevó a la culminación de la misma. Gracias por la confianza ofrecida por nuestros familiares y el apoyo con palabras de aliento que nos brindaron en todo momento. Asimismo, agradecer a nuestros compañeros por su apoyo personal y humano que siempre nos han brindado, necesarios en los momentos difíciles de este trabajo y esta profesión, con esto demostramos que con perseverancia y dedicación las metas se cumplen, muchas gracias.

Resumen

Introducción: La caries dental continúa siendo una problemática en salud pública, tomando gran importancia en los campos del diagnóstico y prevención. Desde la prevención, uno de los enfoques alternativos ha sido el control de patógenos orales a través del uso de probióticos, ya que son microorganismos benéficos que al entrar en contacto con la cavidad oral modifican la interacción microbiana a favor de un equilibrio.

Objetivo: Examinar la evidencia actual de la acción de los probióticos y otras bacterias, como inhibidoras del crecimiento de *Streptococcus mutans* y describir las técnicas de estudio más utilizadas por la bacterioterapia, en la evaluación de la inhibición del crecimiento de *Streptococcus mutans*.

Metodología: La presente investigación es una revisión de la literatura de tipo narrativo, en la cual se examinaron en las siguientes bases de datos: PubMed, Scielo, Scopus y Google Académico, estrategias de bacterioterapia contra cepas de *Streptococcus mutans*.

Resultados: En los últimos 5 años se encontraron 16 artículos de tipo experimental *in vitro* y 8 ensayos clínicos. Los resultados de estos estudios *in vitro* mostraron un mayor efecto inhibitorio de *L. casei* variedad *rhamnosus*, *L. acidophilus*, *L. casei shirota* y *Bifidobacterium longum*. En cuanto a los estudios *in vivo* se considera al *L. acidophilus*, *L. casei* variedad *rhamnosus* y *Bifidobacterium longum*, ya que mostraron en los resultados de cada estudio que estos probióticos presentan actividad inhibitoria sobre el *Streptococcus mutans*.

Conclusiones: Los probióticos tienen una importante acción inhibitoria frente al *Streptococcus mutans* evidenciada en estudios *in vivo* e *in vitro* utilizados en diferentes presentaciones y concentraciones. Se requiere estudios en donde se evalúe diferentes dosis, su efectividad y los cambios que induce en otros componentes de la microbiota.

Palabras clave: *Streptococcus mutans*, probióticos, *Lactobacillus*, actividad inhibitoria.

Abstract

Introduction: Dental caries continues to be a problem in public health, taking great importance in the fields of diagnosis and prevention. From prevention, one of the alternative approaches has been the control of oral pathogens through the use of probiotics, since they are beneficial microorganisms that, when in contact with the oral cavity, modify the microbial interaction in favor of a balance.

Objective: To examine the current evidence of the action of probiotics and other bacteria as inhibitors of the growth of *Streptococcus mutans* and to describe the study techniques most used by bacteriotherapy in the evaluation of the inhibition of the growth of *Streptococcus mutans*.

Methodology: The present investigation is a review of the narrative type literature, in which the following databases were examined: PubMed, Scielo, Scopus and Google Academic, bacteriotherapy strategies against strains of *Streptococcus mutans*.

Results: In the last 5 years, 16 experimental *in vitro* articles and 8 clinical trials were found. The results of these *in vitro* studies showed a greater inhibitory effect of *L. casei* variety *rhamnosus*, *L. acidophilus*, *L. casei shirota* and *Bifidobacterium longum*. Regarding *in vivo* studies, *L. acidophilus*, *L. casei* variety *rhamnosus* and *Bifidobacterium longum* are considered, since they showed in the results of each study that these probiotics present inhibitory activity on *Streptococcus mutans*.

Conclusions: Probiotics have an important inhibitory action against *Streptococcus mutans*, evidenced in *in vivo* and *in vitro* studies used in different presentations and concentrations. Studies are required to evaluate different doses, their effectiveness and the changes it induces in other components of the microbiota.

Keywords: *Streptococcus mutans*, probiotics, *Lactobacillus*.

Tabla de contenido

1. Introducción.....	1
2. Planteamiento del Problema.....	3
3. Pregunta de investigación.....	4
4. Justificación.....	5
5. Objetivos.....	6
5.1 Objetivo General.....	6
5.2 Objetivos Específicos.....	6
6. Marco teórico.....	7
6.1 Microbiología de la cavidad oral.....	7
6.2 Principales enfermedades infecciosas de la cavidad oral.....	9
6.2.1 Caries Dental.....	9
6.3 Epidemiología y herramientas de control de la caries dental.....	11
6.3.1 Uso de productos orales.....	11
6.3.2 Uso de probióticos.....	12
6.3.3 <i>Streptococcus dentisani</i>	15
7. Metodología.....	16
7.1 Tipo de estudio.....	16
7.2 Palabras Clave y términos de búsqueda.....	16
7.3 Fuentes de información y búsqueda.....	16
7.4 Criterios de elegibilidad.....	16

7.5 Análisis de datos.....	17
7.6 Consideraciones éticas.....	17
8. Resultados.....	18
8.1 Resultados de la búsqueda de literatura científica.....	18
8.2 Evaluación de bacterioterapia en estudios <i>in vitro</i>	19
8.2.1 Microorganismos inhibidores de <i>Streptococcus mutans</i>	19
8.3 Evaluación de bacterioterapia en estudios <i>in vivo</i>	27
8.3.1 Microorganismos inhibidores de <i>Streptococcus mutans</i>	27
9. Aspectos destacados y perspectivas futuras.....	36
10. Bibliografía.....	37

1. Introducción

La caries dental es la enfermedad infecciosa en cavidad oral con mayor prevalencia alrededor del mundo (Kassebaum, Bernabé, Dahiya, Bhandari, Murray, & Marcenes, 2015), la cual afecta a los tejidos dentales ocasionando desmineralización y posterior cavitación. En Colombia, datos del estudio nacional de salud bucal (ENSAB IV) reportan una prevalencia de 26.85% en niños de 1 año, ésta incrementa en los niños de 3 años a 77.47% y en los de 5 años a 81.86% a expensas principalmente de la detección de los estadíos incipientes de caries (ENSAB IV, 2014).

La caries dental continúa siendo un tópico de gran importancia en investigación en los campos del diagnóstico, la prevención y la salud pública (Monroy, Salgado, Cárdenas, & Bermúdez, 2019). Desde la prevención, uno de los enfoques alternativos ha sido el control de los microorganismos orales patógenos a través del uso de probióticos. El agente etiológico principal de la caries es el *Streptococcus mutans* (Ojeda, Oviedo, & Salas, 2013); para su control, se ha estudiado el consumo de probióticos, ya que son microorganismos benéficos y a su vez, al entrar en contacto con la cavidad oral modifican la interacción microbiana a favor de un equilibrio; se ha encontrado que puede alterar de manera positiva la microbiota del huésped y producir un efecto benéfico en el mismo (Angarita, 2016). Del mismo modo los prebióticos, que son los ingredientes o sustancias presentes en los alimentos, los cuales estimulan el crecimiento de los probióticos y otras bacterias constituyentes de la microbiota normal de la cavidad oral. Recientes estudios proporcionan alguna evidencia de los beneficios de los prebióticos para prevenir y tratar ciertas enfermedades infecciosas en la cavidad oral (Gonzales, 2015).

El uso de probióticos y prebióticos con el ánimo de introducir bacterias beneficiosas y desplazar microorganismos patógenos se denomina bacterioterapia; es usado cuando una cepa inofensiva es implantada en la microbiota del huésped para mantener o restablecer la microbiota natural, la cual ha sido alterada por la acción de otros microorganismos especialmente patógenos (Fierro, Aguayo, Lillo, & Riveros, 2017). El uso de los probióticos pueden ayudar en pacientes con trastornos como diarrea, gastroenteritis, enfermedades inflamatorias intestinales y demás enfermedades (Sidhu, 2015). En el área odontológica se han desarrollado estudios con enfoque a la reducción de incidencia de caries dental que han arrojado resultados prometedores.

2. Planteamiento del Problema

La disbiosis oral es una alteración cuantitativa y cualitativa del equilibrio microbiano oral. La cual es producida por varias causas como la dieta, higiene oral, cantidad y calidad de la saliva e ingesta de antibióticos que suelen actuar simultánea y sinérgicamente (Friedman, 2011) Esta disbiosis da lugar a una alteración del equilibrio de la bioquímica oral dando lugar a la proliferación de microorganismos acidogénicos y como consecuencia, estos ácidos provocan la desmineralización de la estructura dentaria. Es por ello que la caries no se considera una enfermedad exclusivamente infecciosa sino una enfermedad disbiótica microbiana (Chimenos, Giovannoni, & Schemel, 2017)

El efecto que tienen los microorganismos como los probióticos sobre la caries dental depende del agente infeccioso, la gravedad de la infección, la dosis y el tiempo de administración; en general, la investigación sugiere que el consumo o la aplicación de prebióticos pueden excluir a los patógenos, así como mantener y restaurar la microbiota del huésped (Bustamante, et al 2019).

Se piensa, que el uso prolongado de probióticos puede crear una barrera protectora frente a dichos patógenos orales. En este contexto, cada vez es más frecuente la incorporación de ingredientes funcionales de origen lácteo y no lácteo en la leche y alimentos de base láctea, que incluyen bacterias probióticas, ácidos grasos, omega-3, vitaminas, minerales y carbohidratos prebióticos. Entre ellos, la inulina y sus derivados, los fructooligosacáridos (FOS) han demostrado actividades prebióticas en un número aceptable de estudios y están disponibles comercialmente.

La concentración del 1% de FOS, parecen tener el potencial de disminuir la tasa de crecimiento de *S. mutans* cuando se aplica junto con el probiótico *L. acidophilus* (Nunpan, Suwannachart, & Wayakanon, 2019).

Los probióticos de ácido láctico pueden contribuir a la disminución en el número de microorganismos cariogénicos. Sin embargo, la selección apropiada del tipo de bacteria con respecto a su acidogenicidad es fundamental para evitar la generación de un efecto contrario al esperado, por ejemplo, una disminución significativa en el pH salival (Angarita, et al. 2019).

Por lo tanto, este trabajo tiene como objetivo realizar un nuevo prospecto en la investigación en el campo de la microbiología molecular. Realizar una síntesis de la información sobre qué especies se han estudiado y sus resultados, enfocado en los métodos utilizados y hacia dónde va dirigido.

3. Pregunta de investigación

De acuerdo a lo expuesto en el planteamiento del problema se expone la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuáles son los microorganismos y condiciones favorables para la inhibición de Streptococcus mutans como principal agente cariogénico?

4. Justificación

Varias especies bacterianas usadas como probióticos han sido evaluadas, demostrando ejercer efectos benéficos para el control de microorganismos cariogénicos. Principalmente estas especies pertenecen al género *Lactobacillus* (*L. rhamnosus*, *L. reuteri*, *L. casei*, *L. brevis*, *L. paracasei*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*) y *Bifidobacterium* (*B. bifidum*, *B. longum*, *B. lactis*, *B. animalis*, *B. infantis*). Éstas bacterias han demostrado su seguridad durante muchos años, haciendo posible los estudios clínicos, y algunas han sido identificadas en individuos sanos (Cariados, Obturados, perdidos COP = 0) (*L. rhamnosus*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. paracasei*), lo que indica su papel en el balance microbiológico (Angarita, 2016).

Una de las bacterias probióticas más estudiadas en la cavidad oral fue aislada por Gorbach y Godin en 1983 a partir del tracto digestivo de un adulto sano. Fue nombrada *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103), y se caracteriza por inhibir, por medio de bacteriocinas, una gran variedad de bacterias patógenas humanas, entre éstas tenemos *S. mutans* y *S. sobrinus*. En la búsqueda de cepas de *Lactobacillus spp* con características probióticas en cavidad oral, se identificaron *L. salivarius* BGH 01 y *L. gasseri* B GH 089.90; Estas cepas exhibieron antagonismo frente a bacterias patógenas humanas principalmente *S. mutans*, *S. sobrinus*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia* (Angarita, 2016).

El implementar el uso de probióticos puede ser una forma natural de combatir los problemas dentales más comunes como la caries; los microorganismos probióticos pueden desarrollar un papel importante en la salud bucal, si se incorporan a la biopelícula del huésped conjuntamente pueden crecer junto a la microbiota original del biofilm dental proporcionando una buena respuesta en el

organismo. Lo que se quiere alcanzar con esta investigación es determinar cuales son los microorganismos y condiciones favorables para la inhibición de *Streptococcus mutans* como principal agente cariogénico basándose en la literatura disponible.

5. Objetivos

5.1 Objetivo General

Revisar el papel de la bacterioterapia en la inhibición de *Streptococcus mutans* mediante el uso de probióticos.

5.2 Objetivos Específicos

- Examinar la evidencia actual de la acción de los probióticos y otras bacterias como inhibidoras del crecimiento de *Streptococcus mutans*.
- Describir las técnicas de estudio más utilizadas por la bacterioterapia en la evaluación de la inhibición del crecimiento de *Streptococcus mutans*.

6. Marco teórico

6.1 Microbiología de la cavidad oral

En la cavidad oral se hallan presentes de forma normal más de mil especies diferentes de bacterias, de las cuales solamente 280 especies han sido aisladas e identificadas. La mayoría de estas bacterias cumplen un papel importante en la cavidad oral, manteniendo la homeostasis del ecosistema, otras son transitorias y otras se comportan como patógenos oportunistas y que están involucradas en el desarrollo de patologías (Angarita, 2016).

Múltiples factores condicionan las especies y la proporción de las bacterias que habitan en condiciones normales en cavidad oral, (*Streptococcus parasanguinis*, *S. mitis*, *S. oralis*, *S. sanguinis*, *Actinomyces spp*). Asimismo, la modificación del microbioma ya sea por aumento, reducción o introducción de nuevos géneros bacterianos, genera lo que se conoce como disbiosis, lo que va a condicionar una cavidad oral sana ó con algún tipo de patología, como caries, periodontitis o cáncer oral (Cruz, Díaz, Arias, Mazón, & Baldeón, 2017). La cavidad oral está compuesta por varios ecosistemas de acuerdo a las concentraciones de oxígeno, disponibilidad de nutrientes, temperatura, exposición a factores inmunológicos y las características anatómicas.

Estudios poblacionales han utilizado técnicas genómicas basadas en microarrays del gen 16S rRNA y han confirmado que los principales phylum aislados en cavidad oral son: *Firmicutes*, *Proteobacteria*, *Bacteroides*, *Actinobacteria* y *Fusobacteria* (Ann L. Griffen, 2011). Asimismo, se ha determinado que los géneros de mayor frecuencia son: *Streptococcus*, *Actinomyces*, *Veillonella*, *fusobacterium*, *porphyromonas*, *Prevotella*, *Treponema*, *Neisseria*, *Haemophilus*, *Eubacterias*, *Lactobacterium*, *Capnocytophaga*, *Eikenella*, *Leptotrichia*, *Peptostreptococcus*, *Staphylococcus* y *Propionibacterium* (Serrano, Sánchez, & Cardona, 2015).

Las especies del género *Streptococcus* se encuentran distribuidas con mayor frecuencia en tejidos blandos, saliva y lengua; mientras que especies del género *Actinomyces* se encuentran a nivel supra e infragingival y en fisuras de la lengua. Otras bacterias como *Veillonella parvula* y *Neisseria* pueden ser aisladas en todos los hábitats orales. La microflora de la cavidad oral posee una gran cantidad de bacterias anaerobias y se estima que la proporción de bacterias en cavidad bucal, suelen ser bacterias/g de placa bacteriana y bacterias/ ml de saliva (Serrano, Sánchez, & Cardona, 2015).

Cabe destacar que la cavidad oral contiene una amplia comunidad microbiana siendo a su vez muy diversa, por lo menos son más de 700 especies de bacterias que habitan en ella y cuando se rompe el equilibrio de dicho ecosistema, produce una disbiosis que permite a las bacterias patógenas manifestarse y causar afecciones, tales como caries y periodontitis (Kilian, 2016). Sin embargo, un beneficio importante de la microbiota oral para la fisiología de todo el organismo lo han sido, las bacterias productoras de nitrito en la lengua, pues estas contribuyen a la producción de óxido nítrico y a la disminución de la presión arterial (Moreno, Soto, & González, 2015). Es posible que surjan otros beneficios a partir de investigaciones que se desarrollen del microbioma oral con respecto a la salud corporal.

La posibilidad del microbioma oral de resistir la presión para cambiar el crecimiento excesivo de una especie en un estado disbiótico, está asociado generalmente con alguna enfermedad. Un elemento crucial para este proceso es la saliva (Carpenter, 2020). En consecuencia, bajo circunstancias demasiado ácidas, las bacterias se vuelven más acidúricas, provocando que cepas como el *Lactobacillus*, *S. mutans* e incluso cepas acidógenas de *Streptococcus no mutans*, *Actinomyces* y *Bifidobacterium* puedan llegar a ser predominantes, entre muchas otras bacterias del medio (Astorga, et al., 2015).

6.2 Principales enfermedades infecciosas de la cavidad oral

6.2.1 Caries Dental.

La caries dental es una enfermedad multifactorial. Su patogenia involucra la microbiota (principalmente, *S. Mutans*), el huésped y sus mecanismos inmunes, así como la dieta, entre otros factores (Usha C., 2018). (Ver gráfico 1)

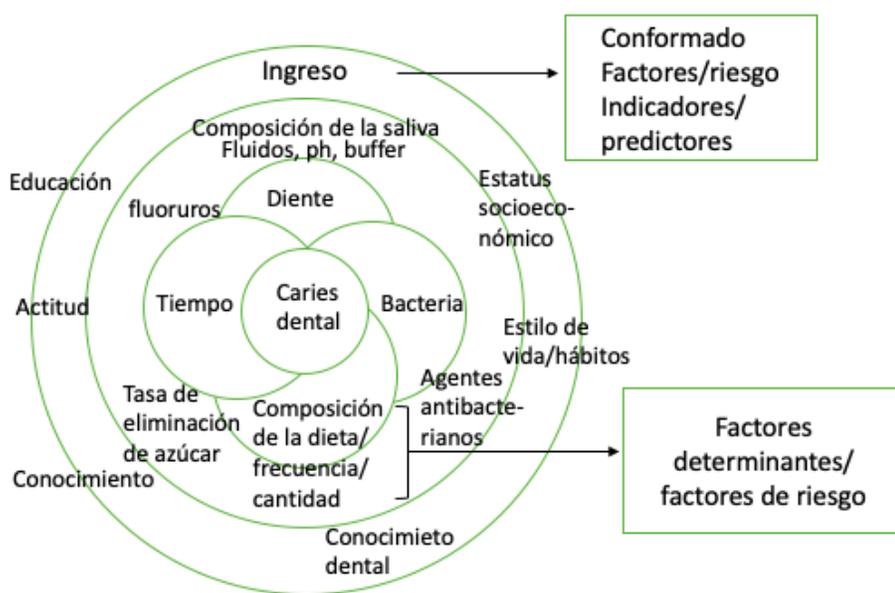


Gráfico 1. Representación esquemática de los factores determinantes (factores de riesgo) y de confusión (indicadores/predictores de riesgo) en la enfermedad de caries dental. Tomado de (Usha C, 2018).

Las bacterias del biofilm metabolizan los azúcares produciendo ácidos los cuales con el tiempo, desmineralizan el esmalte. La caries normalmente empieza de manera oculta a la vista en las fisuras del diente o en los espacios interdentarios. En su estadio inicial puede ser detenida e incluso revertida pero en su fase avanzada se forma una cavidad. En ese momento se hace necesario un tratamiento para restaurar la función del diente, incluyendo la remoción del tejido cariado y la realización de una obturación o corona. Si se deja sin tratamiento, la caries puede conllevar a una

extensa destrucción del diente, con dolor e infección. Esto último puede originar la formación de un absceso o incluso una septicemia. En esta fase ya es necesaria la realización de un tratamiento de endodoncia o la extracción del diente (Cueto, 2009).

La reducción del ataque ácido del esmalte dental puede llevarse a cabo a través de una reducción de la ingesta total y la frecuencia de consumo de los azúcares. La protección de la superficie dental puede llevarse a cabo asegurando una adecuada exposición a los fluoruros, por ejemplo, usando fluoruros tópicos como la pasta dental fluorada o mediante fluor sistémico a través del consumo de sal y agua. Asimismo, pueden llevarse a cabo acciones para reducir el efecto del biofilm a través de una buena higiene oral, la placa dental o biofilm consistente en aproximadamente de unas 600 especies diferentes de bacterias. (Ojeda, Oviedo, & Salas, 2013). Varias de las especies bacterianas se han asociado a la etiología de la caries dental incluyendo *Streptococcus mutans* con lo cual esta se adhiere en la superficie dentaria y si no es removida conlleva a la formación de ácidos que dan como resultado el inicio de la caries. La caries dental es la enfermedad crónica más extendida en el mundo y constituye un reto importante en salud pública. Es la enfermedad más frecuente de la infancia pero afecta a todas las edades a lo largo de la vida. (Hidalgo, Duque, & Pérez, 2008)

6.3 Epidemiología y herramientas de control de la caries dental

En el reporte de la OMS en 2003, algunos países informaron un índice COP-d bajo en la población de 12 años de edad, con una disminución marcada en la prevalencia de caries, en

comparación con el reporte del COP-d a la edad de 35-44 años, entre moderado y alto en ese mismo año (Suarez Z., 2013).

La prevalencia de caries dental ha sido del 91,58% de las personas entre 12 y 79, de un 33,27% en niños de 1, 3 y 5 años; Sin embargo, el estudio también da cuenta de que se ha mejorado en la atención a esta situación, al verse reducida la población que aún no ha recibido tratamiento completo para esta enfermedad; así el 55,8% de las personas de 12 a 79 años presentan caries sin tratar mientras que el 33,84% de los niños de 1 a 5 años se encuentra en la misma situación (ENSAV IV, 2014).

El desequilibrio en la microbiota oral o disbiosis, condicionan en gran medida el papel tan etiológico que tiene el *S. mutans* en la caries dental. Para su control se han desarrollado y evaluado múltiples estrategias y a continuación se listan:

6.3.1 Uso de productos orales

Existe una variedad de productos que contiene diferentes cepas bacterianas probióticas, dentro del comercio tenemos gomas de mascar, tabletas o comprimidos y productos lácteos tales como leche, helado, queso y yogur (Fierro, Aguayo, Lillo, & Riveros, 2017). Existen varios estudios a corto plazo que describen intervenciones en humanos con bacterias probióticas con puntos finales microbiológicos relacionados con la caries en la saliva o la placa (Twetman, 2012).

Un estudio de T. Madhwani y colaboradores comparó el uso de probióticos en helado y en bebida y demostró que el helado sería una mejor opción, debido a que mantiene una reducción significativa de *S. mutans* en los niveles de saliva después de 90 días del periodo de consumo (Madhwani & McBain, 2011). La leche, el queso y el yogur no endulzados tienen altos contenidos naturales de calcio y fosfato que disminuyen fácilmente el "pH crítico" para la disolución del

esmalte y mejoran la remineralización. Los suplementos dietéticos con bacterias probióticas también son una alternativa más económica para el consumidor promedio que las tabletas o cápsulas (Twetman, 2012).

6.3.2 Uso de probióticos.

El término probiótico se deriva del latín, que significa "para la vida". Los probióticos son bacterias no patógenas, beneficiosas, vivas y levaduras. Los probióticos más utilizados son *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y *Saccharomyces boulardii*.

El *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* son bacilos grampositivos anaerobios facultativos obligados y *S. boulardii* es una levadura. *Lactobacillus* incluye varias especies individuales, entre las que destacan *L acidophilus*, *L rhamnosus*, *L reuteri* y *L casei*. Del mismo modo, las especies de *Bifidobacterium* que se utilizan con mayor frecuencia en los probióticos incluyen *B animalis*, *B infantis*, *B lactis* y *B longum* (Saif, 2016). Se desconoce el mecanismo exacto de acción de los probióticos. Sin embargo, se propone que intervengan varios mecanismos. Cuando se ingieren por vía oral, los probióticos pasan a través del estómago y se adhieren a la mucosa intestinal evitando la unión epitelial de bacterias patógenas (Carnicé T., 2006). Los organismos probióticos utilizados en los alimentos deben ser capaces de sobrevivir al paso a través del intestino; es decir, deben tener la capacidad de resistir los jugos gástricos y la exposición a la bilis. Además, deben poder proliferar y colonizar el tracto digestivo. Asimismo, deben ser seguros y efectivos, y mantener su efectividad y potencia durante la vida útil del producto (Senok, Ismaeel, & Botta, 2005).

Algunos probióticos, como los *Lactobacillus*, generan peróxido de hidrógeno, que reduce el pH luminal y el potencial redox, produce bacteriocinas que inhiben el crecimiento de las

bacterias patógenas y en ocasiones, mediante la presión baja de oxígeno favorecen el crecimiento de anaerobios.

Otras bacterias, especialmente *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, producen ácido láctico, ácido acético y ácido propiónico. Estos compuestos reducen el pH e inhiben el crecimiento de bacterias patógenas. Otro mecanismo de acción propuesto son sus efectos inmunomoduladores. Un estudio de investigación reciente de la Facultad de Medicina de la Universidad de Maryland encontró que la ingestión de LGG facilita y modifica la actividad de otras bacterias, que afectan el "ecosistema" del intestino. (Saif, 2016).

Los probióticos son microorganismos vivos no patógenos. Muchos de estos microorganismos son parte de la flora intestinal humana normal, donde viven en una relación simbiótica. Los cuales se han utilizado para tratar afecciones médicas gastrointestinales, La mayoría de los consumidores están convencidos de que los probióticos funcionan y los utilizan para diferentes afecciones de la salud (Saif, 2016).

El mecanismo de acción de los probióticos en la cavidad oral establecidos son (Angarita, 2016):

- Inhibición directa de agentes etiológicos
- Exclusión competitiva
- Modulación de la respuesta inmune

La modulación de la respuesta inflamatoria (humoral y celular) hace referencia a la producción de sustancias como el ácido láctico, el peróxido de hidrógeno y las bacteriocinas (agentes antimicrobianos producidos por las bacterias del ácido láctico, cuya acción les proporciona el efecto probiótico). La mayoría de los estudios revisados mencionan su capacidad para competir con los patógenos por las superficies de adhesión y los nutrientes, provocando el desplazamiento de estos últimos (Amez, López, Estrugo, Ayuso, & Jané, 2017).

Diversos estudios han comparado el uso de los probióticos en productos lácteos con placebos. En cuanto al uso dental, un factor a considerar es que el vehículo para la administración de los probióticos debe ser de origen lácteo, ya que contienen fosfopéptidos de caseína (CPP) que tienen un efecto inhibitor sobre la desmineralización y promueven la remineralización del esmalte dental (Fierro, Aguayo, Lillo, & Riveros, 2017).

La literatura también menciona estudios *in vitro*, donde se destaca el uso de las siguientes cepas: *Lactobacillus rhamnosus* LCR35 y *Lactobacillus johnsonii* LA1 (disminuyen la colonización *in vitro* de *Streptococcus mutans*). Ambos probióticos son utilizados en productos lácteos.

Lactobacillus paracasei subespecie *casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium*: combinación de cepas probióticas en el yogurt Laive: Reduce de forma significativa los niveles de *Streptococcus mutans* en la saliva (Srivastava S, et. al 2016).

Existen una serie de ensayos clínicos aleatorios que indican que los probióticos de cepas de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* pueden ejercer un efecto antagonista sobre *Streptococcus mutans* (Hedayati, Ulrika, Catarina, & Svante, 2015).

Lactobacillus reuteri es un probiótico natural, resistente a los ácidos y la bilis, lo que le permite sobrevivir al tracto gastrointestinal. Es un probiótico que apoya la salud del corazón ayudando a mantener niveles adecuados de colesterol (Jones M, 2011). También promueve la salud bucal ya que se adhiere y forma biopelícula compitiendo con el *S. mutans* por un lugar en el esmalte (Jalasvuori H, 2012), reduciendo citoquinas proinflamatorias en el fluido crevicular de adultos con gingivitis (Bravo, Morales, Lefimil, Galaz, & Gamonal, 2018). Así mismo, reduce otros patógenos como *A. actinomycetemcomitans*, *C. rectus* y *Capnocytophaga*. (Iniesta M, 2012).

El *Lactobacillus casei* y *acidophilus* tienen efecto protector gastrointestinal y poseen un rol importante en el sistema inmunológico mediante la regulación inmunológica mediada por citoquinas (James, Velastegui, & Cruz, 2017). A su vez, evita la adherencia de la *C. albicans*.

El *Lactobacillus casei* contribuye a una disminución de células cancerígenas e inhiben a bacterias anaerobias como *Pseudomonas*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Enterobacterium*, y otros microorganismos patógenos como *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* y *Salmonella* (Carnicé T. , 2006).

Bifidobacterium brevis, *B. longum*, *B. infantis*; producen ácidos grasos de cadena corta como acetato y lactato que disminuyen el pH intestinal con efectos antibacterianos (Oliveira & Gonzalez, 2016). Dichas bacterias ejercen un efecto competitivo con otras bacterias, ocupando sus lugares de anidación e inhibiendo el crecimiento de especies enteropatógenas (Carnicé T. , 2006).

6.3.3 *Streptococcus dentisani*

Sasso y col. En el año 2019 demostraron que el *S. dentisani* promueve la formación de interleucinas inflamatorias, aumentando así la carga bacteriana, lo que hace que este microorganismo pueda estar implicado en la modulación y prevención de caries dental inhibiendo a *S. mutans*, mediante la producción de inhibidores de naturaleza peptídica, tales como péptidos similares a bacteriocinas (Sasso, Ortiz, Porta, & w., 2019).

El cocultivo de *S. dentisani* produjo un marcado efecto inhibitorio sobre el crecimiento de las cepas de *S. mutans*, lo cual demuestra la capacidad de *Streptococcus dentisani* de inhibir el crecimiento de otro *Streptococcus*, tanto por su presencia como por medio de aquellos productos que libera al medio exterior (Ortiz, Porta, & Corina, 2019).

7. Metodología

7.1 Tipo de estudio

La presente investigación es una revisión de la literatura de tipo narrativo.

7.2 Fuentes de Información y búsqueda

Se realizó una búsqueda sistemática en diferentes bases de datos: PubMed, Scielo, Scopus y Google Académico.

7.3 Palabras clave y términos de búsqueda

Palabras clave en inglés: *Streptococcus mutans*, probiotics, *Lactobacillus*, inhibitory activity.

Palabras clave en español: *Streptococcus mutans*, probióticos, *Lactobacillus*, actividad inhibitoria.

Términos MeSH/DeSC: *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus*, Probiotics.

7.4 Criterios de elegibilidad

Para la obtención de información de artículos relacionados se utilizaron los siguientes criterios de inclusión: Artículos científicos indexados publicados a partir del 2015, que se encuentren en idioma inglés y español y estudios tanto clínicos como experimentales en el cual se evaluarán estrategias de bacterioterapia contra cepas de *Streptococcus mutans*.

7.5 Análisis de datos

Se realizó una descripción cualitativa de la información hallada con utilización de tablas para la presentación de los datos. Con el fin de cumplir los objetivos de la presente revisión, se obtuvo los siguientes datos de los artículos: Cepa de *S. mutans*, microorganismos probióticos evaluados en cada estudio, métodos de cultivo y resultados.

7.6 Consideraciones éticas

La presente investigación se encuentra clasificada como investigación con riesgo mínimo, ya que dicha investigación se encuentra basada en artículos científicos y no se tendrá contacto con personas o animales.

8. Resultados

8.1 Resultados de la búsqueda de literatura científica.

Aplicando los términos MeSH se realizaron varias búsquedas, de las cuales fueron elegidas por cada autor y un tercer par revisó la disparidad en la inclusión, teniendo en cuenta los criterios de inclusión. Los resultados de la búsqueda se reportan en la tabla 1. Durante el proceso de identificación de artículos se hallaron un total de 24 artículos en los que se evaluó la actividad inhibitoria contra *S. mutans*: esto en la franja de los últimos 5 años. En la siguiente tabla se muestran los resultados en cada base de datos.

Tabla 1. Estrategias de búsqueda realizada en las diferentes bases de datos.

Base de datos	Estrategia	Resultados	Seleccionados	Duplicados
Scopus	TITLE-ABS-KEY (lactobacillus) AND TITLE-ABS-KEY ("Streptococcus mutans")) AND (LIMIT-TO (PUBYEAR , 2021) OR . LIMIT-TO (PUBYEAR , 2020) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2019) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2018) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2017) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2016) OR LIMIT-TO (PUBYEAR , 2015)) AND (LIMIT-TO (DOCTYPE , "ar")) AND (LIMIT-TO (SUBJAREA , "DENT") OR LIMIT-TO (SUBJAREA , "IMMU")	338	11	0
Pubmed	("Probiotics"[Mesh]) AND "Lactobacillus"[Mesh] AND "Streptococcus mutans"[Mesh]	35	7	1
Scielo	<i>Lactobacillus</i> , <i>streptococcus mutans</i> , <i>probiotics</i> , actividad inhibitoria	82	5	0
Google Académico	(<i>lactobacillus</i>) AND (<i>streptococcus mutans</i>)	50	1	0
TOTAL		423	24	1

Se identificó que 17 artículos eran de tipo experimental *in vitro* y 8 eran ensayos clínicos *in vivo* realizados tanto en humanos como en animales.

8.2 Evaluación de bacterioterapia en estudios *in vitro*

8.2.1 Microorganismos inhibidores de *Streptococcus mutans*

En los 17 artículos en los que se evaluó acción inhibitoria contra *S. mutans in vitro*, se pudo observar que se evaluaron un total de 20 especies. Ver tabla 2. Con mayor frecuencia se evaluaron probióticos del género *Lactobacillus*, dentro de los cuales se destaca el *L. acidophilus* en el cual es el más reconocido y usado como probiótico por su importante mecanismo de fortalecimiento del sistema inmunológico. (Manzano, Estupiñán, & Poveda, 2012).

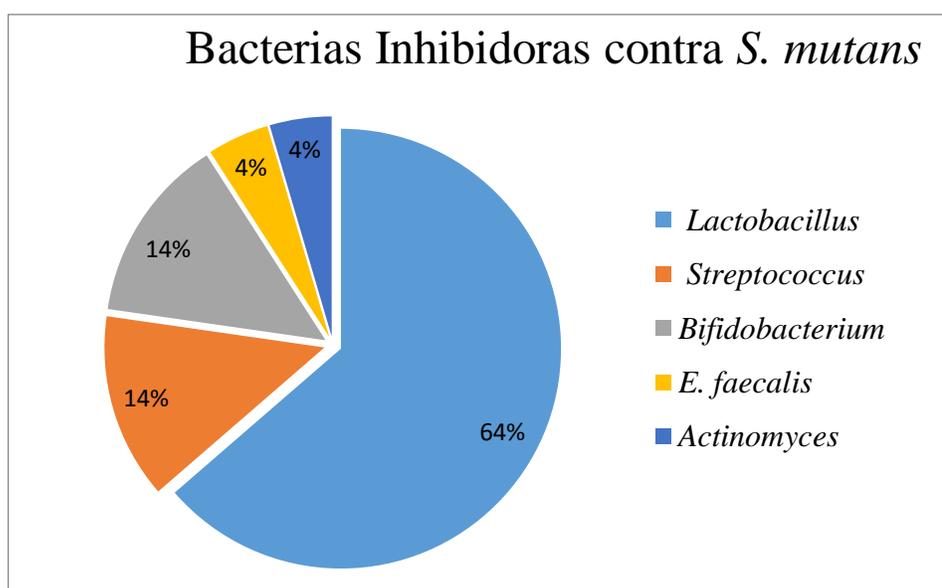


Gráfico 2. Microorganismos evaluados con acción inhibitoria contra el *S. mutans* en estudios *in vivo* e *in vitro*.

Se ha definido que los probióticos tienen la capacidad de modificar la respuesta inmune en humanos y animales a nivel sistémico, así como también en la mucosa intestinal, pues los

mecanismos de interacción de los probióticos con las células del sistema inmune son diversos. En el caso de los microorganismos probióticos, se ha determinado que pueden ser atraídos por las células M presentes en el epitelio, facilitando la estimulación del tejido linfoide vinculado a la mucosa intestinal (Manzano, Estupiñán, & Poveda, 2012).

Además del fortalecimiento del sistema inmunológico, cabe destacar los mecanismos de acción de los probióticos principalmente; las propiedades de adhesión, la competencia por nutrientes, sitios de colonización y producción de metabolitos antimicrobianos (Hernández, Frizzo, Rodríguez, Valdez, & Calero, 2019).

Cada uno de los microorganismos utilizados fueron cultivados en medios enriquecidos para su crecimiento, siendo el agar MRS (Man, Rogosa y Sharpe) el más utilizado para el cultivo de probiótico y BHI (infusión cerebro corazón) para *S. mutans*. Respecto al método experimental más utilizado es la técnica de difusión en pozos de agar seguido de dilución en caldo MRS y BHI suplementado.

Los resultados de estos estudios *in vitro* mostraron un mayor efecto inhibitorio de *L. casei* variedad *ramnosus*, *L. acidophilus*, *L. casei shirota* y *Bifidobacterium longum*. El potencial del probiótico *Lactobacillus rhamnosus* GG *in vitro*, para incorporarse en el biofilm con la finalidad de afectar la composición de su especie en conjunto con otras bacterias patógenas: *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguinis*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Fusobacterium nucleatum* y *Candida albicans*, concluye que el probiótico LGG inhibe ligeramente el crecimiento de *C. albicans* en todos los grupos, disminuyendo notablemente el crecimiento de *S. sanguinis* y *F. nucleatum* en el grupo y reduciendo ligeramente la adhesión de *S. mutans* (Jiang, Stamatova, Kainulainen, Korpela, & Meurman, 2016).

Tabla 2. Estudios realizados *in vitro* con resultados positivos contra el crecimiento del *Streptococcus mutans*.

Autor	Cepa	Bacteria inhibidora	Medios de cultivo probiótico	Medios de cultivo <i>S.mutans</i>	Metodología	Resultado Positivo/Negativo
(Rebolledo, Rojas, & Salgado, 2013)	<i>S.m 3sp 5209</i>	<i>L. casei</i> variedad <i>rhamnosus</i> (LCR35) y <i>L. johnsonii</i> (La1) obtenidos de Lactil@ y Chamyto (Nestlé)	BHI microaerofilia durante 24 h	AMS microaerofilia durante 24 h	Método de difusión de agar estandarizado. Agar MSB por 48 h en microaerofilia (Gaspak) a 37,8C.	Reducción por el <i>L. casei</i> variedad <i>rhamnosus</i> (LCR35) con mayor inhibición.
(Jiang, Stamatova, Kainulainen, Korpela, & Meurman, 2016)	<i>S.m ATCC 27351</i>	<i>L. rhamnosus GG ATCC 53103</i> (<i>L.GG</i>)	MRS 24 h, 37 °C, 5% de CO 2	BHI 24 h, 37 °C, 5% de CO 2	Método en discos de HA UFC/disco	<i>S.m</i> = 2,2 x 10 ⁷ ; <i>S.m</i> + <i>LGG</i> = 3,2 x 10 ⁸ a las 16.5 h. <i>S.m</i> +Multiespecies + <i>LGG</i> = aumento <i>S.m</i> Inhibición de <i>S.m</i> a 16 h. Reducción del 44% con suplementación prebiótica al 3%.
(Nunpan, Suwannachart, & Wayakanon, 2019)	<i>S.m A32-2</i>	<i>L. acidophilus ATCC 4356</i> mejorados con GOS y FOS al 3%, 4% y 5%	BHI, MRS, TSB.	Caldo BHI, TSB, MRS en CO 2 al 5% a 37 °C	Dilución en caldo. Cocultivo en MRS	Inhibición de <i>S.m</i> a 16 h. Reducción del 44% con suplementación prebiótica al 3%.
(Lin, Chen, Tu, Wang, & Chen, 2017)	<i>S.m</i>	<i>L. casei Shirota</i> , <i>L. casei LC 01</i> , <i>L. plantarum ST-III</i> y <i>L. paracasei</i>	MRS en condiciones microaerofílicas a 37 °C por 48 h	BHI condiciones microaerofílicas a 37°C por 24 horas	MSB 1x 10 ⁻³ UFC, condiciones microaerofílicas a 37°C por 24 horas	Inhibición 70–90%. Mayor resultados <i>L.casei spp.</i>
(Chen, Schlafe, Göstemeyer, & Schwendicke, 2020)	<i>S.m DSM 20523</i> , <i>Actinomyces naeslundii DSM 43013</i>	<i>L. reuteri ATCC PTA 5289</i> , <i>S. oligofermentans DSM 8249</i> , <i>L. rhamnosus DSM 20021</i> ,	MRS, Agar columbia sangre de ovejo, MBHI	MBHI y caldo BHI suministrado con 8 g/L de extracto de carne, 1% glucosa, 1% sacarosa, 250 mM glicerol y 10 mM L-arginina, pH 7.0; incubados por 24 h.	Modelo de biopelícula de cultivo continuo. Incubación 10 h en dientes de esmalte bovino. Medición UFC en Agar Columbia con sangre de oveja por 48 hrs a 37°C en aerobiosis.	Inhibición positiva para <i>S.m</i> sin reporte de valor. Reducción pérdida de esmalte. <i>L. reuteri</i> mayor potencial anti-caríes que <i>S. oligofermentans</i> .

(Neha, Kassapa, Nityasri, Louis, Tomoko, & Chaminda. Jayampath, 2020)	<i>S.m / C. albicans</i>	<i>L. plantarum 108</i>	<i>L. plantarum 108</i> se cultivó en MRS durante 18 h, se diluyó 1: 100 en caldo MRS y se incubó durante 24 h para la preparación del sobrenadante a 37°C.	Medio de extracto de levadura triptona ultrafiltrado (UF TYE) con 1% (Virginia Occidental) glucosa a pH 7 y pH 5,5 para <i>S.m</i> y <i>C. albicans</i>	Dilución en caldo MRS, Ensayo de reducción XTT, Cristal Violeta y recuento de UFC a las 0 h como método preventivo y a las 12 h de biopelícula preformada	Inhibición de las biopelículas de <i>S.m</i> en un 33% 36% y 94% después de 12 h de incubación inicial.
(Mohammed, Prasanna, Manikandan, ram, & Cynthia, 2020)	<i>S.m</i>	<i>L. rhamnosus GG L. rhamnosus GG ATCC 53103</i> , L-Arginina (prebiótico)	Caldo MRS, se cultivó suplemento dietético probiótico a 37 °C durante 72 h en condiciones anaeróbicas (85% N ₂ , 10% H ₂ , 5% CO ₂) para obtener <i>L. rhamnosus GG</i> ATCC 53103 en caldo BHI (pH-7).	concentración de 10 ⁷ células / ml en caldo BHI sobre agar sangre de caballo (HBA) en placa de espiral	Dilución en caldo MRS y BHI suplementado con L-arginina en concentraciones de 0,5%; 1%; 2%; NaCl al 0,9%, como control. Después de 24 h se realiza ensayo cristal violeta (CV) para determinar biomasa de biopelícula de <i>S.m</i>	El 2% de L-arginina + <i>L. rhamnosus GG</i> inhibe significativamente el crecimiento de <i>S.m</i> , demostrando un efecto simbiótico sinérgico.

(Fang, Jie, Qiaoyu, Xiaoxuan, & Guocheng, 2018)	<i>S.m</i> ATCC 25175	<i>L. brevis</i> BBE-Y52, <i>L. casei</i> DSM 20011 y <i>L. paracasei</i> XJ 02, <i>L. salivarius</i> T1	se cultivaron en medio (MRS) y se incubaron a 37 ° C en condiciones microaerófilas (5% CO 2) por 24 - 48 h.	<i>S.m</i> se cultivó en medio (BHI) a 37 ° C en condiciones microaerófilas	Métodos de difusión en agar, <i>Lactobacillus Spp.</i> y <i>S.m</i> fueron cultivado en MRS o BHI a 37 ° C (5% CO 2) durante 24 h. Posteriormente, 125 µ L de suspensiones celulares se agregaron en dilución en caldo BHI y se incubó a 37 ° C (5% CO 2) entre 12 - 36 h.	<i>L. brevis</i> BBE-Y52 produjo 0.06 - Peróxido de hidrógeno 0,15 mM, Compuesto inhibidor de <i>S.m</i> , Control del crecimiento de <i>S.m</i> con adición de ácido láctico (pH 4,2) en el caldo. Inhibición > 90 %
(Dakshinamoorthy, Subramanian, Padmavathi, Mahalakshmi, Arumugam, & V, 2016)	<i>S.m</i> MTCC 497	<i>L. fermentum</i> MTCC 9748, <i>L. delbrueckii lactis</i> MTCC 91, <i>B. bifidum</i> , <i>B. Longum</i> + chocolate amargo	MRS, se usó chocolate estéril y los probióticos se incorporaron en el chocolate en una concentración 100 ml de inóculo bacteriano probiótico con 10 8 UFC / ml	BHI suplementado con suero humano estéril, y la densidad celular bacteriana se ajustó a 1 × 10 8 UFC / ml correspondiente a 0,5 escala de McFarland.	Técnica de difusión en pozos de agar, se incubaron a 35 ° C en CO 2 al 5% durante 24 horas, se midieron en mm los halos de inhibición	<i>B. Longum</i> mayor inhibición con y sin chocolate probiótico. <i>L. fermentum</i> + <i>B. longum</i> + <i>B. bifidum</i> > inhibición con y sin chocolate.

(Jeong, Hyeon, Kwang, & Kun, 2018)	<i>S.m</i> <i>S. sobrinus</i>	<i>L. Plantarum</i> ATTC 10,012, <i>L. Johnsonii</i> JCL, <i>L. Rhamnosus</i> ATCC 7469 3 cepas de (<i>kefir</i>): <i>L. kefiranofaciens</i> DD2, DD5, DD6.	MRS Incubados anaeróbicamente a 37 ° C durante 72 -96 h	<i>S.m</i> y <i>S. sobrinus</i> , se cultivaron en Agar Nutritivo durante 24 ha 37 °C.	Dilución en microplaca a intervalos de 1 h durante 24 h midiendo la DO a 595 nm utilizando un lector de microplacas Multiskan FC A 37 ° C.	Inhibición > al 90%
(Schwendicke, Korte, Dorfer, Kneist, Karim, & Paris, 2017).	<i>S.m</i> LH4	<i>L. (LC-11, LGG, LA, LR, F19) Bifidobacterium</i> BB12, <i>S. thermophilus</i> TH4, <i>Bacillus coagulans</i> BC30.	48 h (10% CO 2, 37 ° C) en agar de infusión cerebro-corazón	En 48 h (10% CO 2, 37 ° C) en agar de infusión cerebro-corazón	Inhibición de crecimiento y formación de biopelículas	<i>L. acidophilus</i> inhibió significativamente más el crecimiento del cultivo de <i>S.m</i> , <i>L. casei</i> LC-11 inhibió la formación de biopelículas de <i>S.m</i> de manera similar a otras alternativas, pero mostró la mayor retención de probióticos en las biopelículas
(de Souza J. Z., 2020)	<i>S.m</i> UA159	<i>L. fermentum</i> , TcUE SC01	Caldo MRS, KASVI) a 37 ° C, 5% CO 2 durante 24 horas y se almacena a - 80 ° C	Cubierto por 24h, a 37 ° C y 5% CO 2 en (caldo BHI, KASVI) y se almacena a - 80 ° C.	Para la Determinación de la CIM, el inóculo inicial fue 1-2 x 10 8 UFC / mL. Esta prueba se realizó en microplacas de 96 pozos, fue definido como la concentración más baja de metabolitos que inhiben el crecimiento visible.	los metabolitos producidos por el <i>L. fermentum</i> TcUE SC01 tiene un gran potencial como agente antimicrobiano contra <i>S.m</i>

(Fernández, 2015)	<i>S.m</i> UA159	<i>L. rhamnosus</i> LB 21	Se cultivaron placas de esmalte bovino recubiertas de saliva	Agar BHI, AMS suplementado con 0,2 unidades de bacitracina por mililitro, telurito y sacarosa al 15% (MSA) para <i>S.m</i> y Rogosa SL	Se ajustaron a una (DO) de 0,5 para <i>S.m</i> y 1,0 para <i>Lactobacillus</i> a 600 nm. El cultivo <i>S.m</i> se diluyó 1: 1,000 (v / v) y LB a 1:10 (v / v), lo que condujo a 10^7 células / ml, respectivamente.	<i>L. rhamnosus</i> no reduce la cariogenicidad de <i>S.m</i>
(Sañudo, Luque, Ropero, Fonollá, & Bañuelos, 2017)	<i>S.m</i> CECT 479	<i>L. salivarius</i> CECT 5713	Se cultivó durante 16 - 18 h a 37 ° C en MRS; (Oxoid Limited, Reino Unido) bajo atmósfera anóxica (AnaeroGen, Oxoid Limited, Reino Unido).	Se cultivó en caldo BHI; (Oxoid Limited, Reino Unido) a 37 ° C con agitación orbital (200 rpm) durante 24 h.	Por el método de recuento viable de superficie (Miles, Misra e Irwin, 1938) en placas de agar MRS. Se emplearon placas de agar BHI y MRS para <i>S.m</i> y <i>Lactobacillus</i>	Inhibición > al 70
(Wu, Lin, Wu, Peng, Lee, & Tsai, 2015)	<i>S.m</i> ATCC 25175	<i>L. LGG</i>	MRS a 37 ° C durante 20 h en condiciones atmosféricas anaeróbicas	Medio BHI (BD Difco, Franklin Lakes, NJ) a 37 ° C durante 20 h en condiciones atmosféricas anaeróbicas	Placas de agar BHI que contienen 1,75 l g ml 1 polimixina B, 0,3 U ml 1 bacitracina, y 0.005% cristal violeta se utilizaron para el aislamiento selectivo de <i>S.m</i>	Inhibición aproximadamente 64,3% y 69,6%, respectivamente.
(Jae, et al., 2021)	<i>S.m</i> KCTC 3065	<i>L. plantarum</i> MG207, <i>L. paracasei</i> MG310, <i>L. casei</i> MG 311, <i>L. rhamnosus</i> MG 316, <i>L. salivarius</i> MG 4265, <i>L. lactis</i> MG 5125, <i>L. fermentum</i> MG901 (human origin), <i>L. plantarum</i> MG 989	Caldo MRS a 37°C durante 48 h, los sobrenadantes se liofilizaron y usaron en el ensayo de inhibición en	Medio BHI + sacarosa al 0.2% y alícuotas del cultivo (100uL) durante 24h a 37°C bajo condiciones anaeróbicas estacionarias	Dilución en caldo, después de la incubación las suspensiones se sembraron en placas MSB (Mitis Agar Salivarius Sacarosa Bacitracina)	Sobrenadantes de <i>L. salivarius</i> MG 4265 reducen significativamente <i>S.m</i> en un 73%

condiciones
microaerófilas

(Reham, Ola, El, Mai, Hossam, & Ashour, 2018)	<i>S.m</i> ATCC 25175	<i>L. casei subespecie casei</i> (ATCC 393), <i>L. reuteri</i> (ATCC 23272), <i>L. plantarum subespecie plantarum</i> ATCC 14917) <i>L. salivarius</i> (ATCC 11741)	Caldo MRS a 37°C en condiciones anaeróbicas por 48h	Medio BHI, respectivamente, a 37 ° C durante 24 h en condiciones anaeróbicas	Método de difusión en Agar	<i>L. salivarius</i> reducción 87% y 47% respectivamente. <i>L. plantarum</i> y <i>L. reuteri</i> sobrenadante provocó una reducción en la adherencia con porcentajes de 81,7 - 80,5%
-----------------------------------------------	--------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------	----------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

S.m = Streptococcus mutans; GOS= galactooligosacáridos ; FOS= fructooligosacáridos; MRS = Man Rogosa y Sharpe; BHI= Infusión Cerebro Corazón; MBHI= Infusión Cerebro Corazón Modificado; DO= Densidad Óptica; TSB=caldo de soja tréptico. MIC= Concentración mínima inhibitoria; MBC= Concentración mínima bactericida; AMS=Agar Mitis Salivarius

8.3 Evaluación de bacterioterapia en estudios *in vivo*

Se encontró un total de 8 estudios realizados *in vivo* en animales tales como ratas y superficies de esmalte bovino, así como también en humanos, en los cuales se ha evaluado un total de 8 especies de *Lactobacillus Spp.*, que presentaron acción inhibitoria contra el *S. mutans* usados en diferentes presentaciones y por un tiempo prolongado de uso. Ver tabla 3.

8.3.1 Microorganismos inhibidores de *Streptococcus mutans*

Las especies que con mayor frecuencia han sido evaluadas en estudios *in vivo* son del género *Lactobacillus*, siendo el *Lactobacillus casei*, variedad *rhamnosus* el más reconocido y usado como probiótico por su importante mecanismo de fortalecimiento del sistema inmunológico y digestivo. Estos estudios publicados en los últimos 5 años han mostrado al igual que estudios anteriores que, estas cepas de *Lactobacillus casei*, variedad *rhamnosus*, inhiben el crecimiento en el *Streptococcus mutans*, reducen la colonización de las principales bacterias productoras de caries dental y la reducción de sus niveles en saliva, por lo cual se recomienda su consumo constante, a largo plazo, para prevenir la caries dental (Palomino, Loayza, Gamboa, Pomacóndor, & Millones, 2020).

Los microorganismos del género *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, son los más utilizados en ambos tipos de investigación, mientras que el *E. faecalis* se encontró tan solo en uno de los estudios *in vivo*, donde las diferentes especies demuestran su actividad inhibitoria contra *S. mutans*. Según los resultados de los estudios *in vivo* los probióticos con mayor efecto inhibitorio son *L. acidophilus*, *L. casei* variedad *rhamnosus* y *Bifidobacterium longum*, mostrando en los resultados

de cada estudio que los probióticos poseen actividad inhibitoria sobre el *Streptococcus mutans* (Gráfico 2) si estos son ingeridos por tiempo prolongado.

En los ensayos clínicos encontrados, los probióticos fueron suministrados de forma comestible con mayor frecuencia en yogurt y leche; también se han usado en leche fermentada, soluciones y cuajada india, siendo alimentos sin componentes tóxicos; cada estudio utilizó diferentes casas comerciales y concentración de probiótico presente en el producto para los estudios respectivamente. El yogurt es un producto lácteo semisólido acidificado, semejante a las natillas, que se obtiene fermentando leche pasteurizada con un cultivo iniciador que contiene bacterias productoras de ácido láctico. El aumento del consumo de yogurt en todo el mundo se atribuye en gran medida a las variaciones realizadas al yogurt natural para obtener sabores únicos y texturas deseables (Hamad, Samma, & Reham, 2019). Por lo tanto, estos son usados con probióticos que producen bacteriocinas, las cuales son metabolitos que contribuyen a la preservación de dichos alimentos.

Para obtener beneficios sobre la salud, es recomendada una dosis de 5 mil millones de unidades formadoras de colonias (UFC) durante al menos 5 días (5×10^9 UFC / día) (Sánchez, Ruiz, Morales, & Encarnación, 2015).

De acuerdo a los estudios aquí analizados tanto *in vitro* como *in vivo* la dosis recomendada para efectos en la cavidad oral es de 5×10^6 UFC/ g para *Lactobacillus*, y para el *Bifidobacterium* 3×10^6 UFC/g.

El rango de dosis de concentración de los probióticos utilizada en los estudios es inferior a los 5 mil millones UFC. Según la revisión de Gupta del 2009 respecto a los beneficios de los probióticos señala, que se recomienda esa cantidad para la utilización del probiótico (Gupta & Garg, 2009). En cavidad oral no se ha evaluado la cantidad; los estudios sólo evalúan el tipo de

probióticos. Lo mismo para el tiempo de uso, no se sabe en conclusión cuál sería el ideal, ya que cada estudio utiliza diferentes tiempos de consumo para luego ser evaluado el efecto inhibitor.

En general, la mayoría de estudios sugieren que el uso prolongado y a largo plazo de los probióticos puede disminuir la presencia del *S. mutans* en cavidad oral. Según los estudios evaluados, el tiempo de uso mínimo fue de 8 días y el máximo de 9 meses; por lo cual se observa que se ven mejores resultados a mayor tiempo de uso o consumo de los probióticos.

El uso concomitante de varias cepas probióticas como el *Lactobacillus casei* variedad *rhamnosus* con *L. casei shirota*, *L. plantarum* y *L. paracasei* arrojó resultados positivos presentando un porcentaje de inhibición mayor usando las cepas en conjunto, en su mayoría los estudios evaluaron una sola cepa y solo en 5 estudios se utilizaron en combinación con una o más cepas arrojando mejores resultados (Lin, Chen, Tu, Wang, & Chen, 2017).

De acuerdo al estudio de Qiuxiang, et al., 2020, se evaluaron dos cepas de *L. plantarum* (FBT9 / 5D-3 (5D-3) las cuales fueron cultivadas *in vitro*, en condiciones anaeróbicas y posteriormente inoculados en la superficie dental de ratas, en contraste con ensayos clínicos realizados en humanos la forma de administración del probiótico fue diferente, pues fue suministrado en los pacientes para ser consumido, siendo los probióticos más usados *L. rhamnosus* y *L. casei*; en conclusión no se encontró otro estudio en donde se aplicara *L. plantarum* en humanos (Qiuxiang, et al., 2020).

En un estudio realizado por Villavicencio y colaboradores, los niños que bebieron leche con probióticos; mostraron una reducción significativa de la proporción de *S. mutans* después de 9 meses de consumo, en comparación con el grupo control que bebió leche estándar sin probióticos (Villavicencio, Villegas, Arango, Arias, & Triana, 2018). Como se muestra en la tabla 3, lo que

significa que administrar dichos probióticos por un periodo de tiempo prolongado reduce significativamente la aparición de *S. mutans*.

Si bien es cierto, que las bacterias probióticas del género *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* reducen significativamente la proporción de *Streptococcus* en saliva, sin embargo dichas bacterias probióticas no suelen adherirse ni persistir en la biopelícula dental y la saliva, sino que estas cumplen un papel transitorio lo que conlleva a que los *S. mutans* de cavidad oral a reproducirse nuevamente, por lo cual se hace necesario que el consumo de cualquier producto ya sea leche fermentada, yogurt o solución que contenga los probióticos, se deba consumir constantemente para lograr un equilibrio en el biofilm y la saliva.

La forma en la que se evalúan los efectos inhibitorios en los estudios *in vivo* es a través de la cuantificación y análisis *in vitro* de cambios en el número de UFC de *S. mutans* en muestras de saliva y placa dental. Todos los estudios revelan resultados positivos en diferentes presentaciones o formas de consumo, a través de los cuales confirman resultados *in vitro* acerca de que los probióticos pueden contribuir a la reducción del *S. mutans* en cavidad oral. Llama la atención que en ningún estudio se utiliza grupo control excepto en el estudio de Patil et al., 2019 en el que de forma paralela al consumo de leche probiótica, otro grupo utiliza enjuague bucal y demuestra que los resultados no difieren entre el consumo de probióticos y el uso de enjuague con flúor; esto fuera del valor que tienen los probióticos de que la leche probiótica es tan efectiva como el enjuague bucal con flúor para la reducción de los recuentos de *S. mutans* (Patil, Persis, & Maitreyee, 2019).

Existen diversas formas de utilización de los probióticos para reducir los niveles de *S. mutans*, los *Lactobacillus* obtienen una disminución estadísticamente significativa en los niveles salivales de *S. mutans*, cuando estos son administrados en productos como el kéfir (yogurt) y la leche (Sevtap & Zeliha, 2018).

Los probióticos presentes en la leche fermentada y los yogures han tenido gran impacto contra *Streptococcus mutans*, por lo tanto las cepas de *Lactobacillus* como el *L. rhamnosus* tienen el potencial de ser una de las cepas probióticas en la prevención de la caries dental y a su vez se estima, que el consumo diario de leche fermentada que contiene esta cepa de *L. rhamnosus* sin azúcares añadidos tiene la capacidad de reducir los niveles de *S. mutans* en saliva (Nuntiya, Surasawadee, Wiboon, Supansa, & Rawee, 2020).

Del mismo modo, estudios anteriores han demostrado que la incubación de dicho probiótico *L. rhamnosus* con *S. mutans* en caldo BHI y agregados de azúcares como el maltitol, sacarosa, glucosa y lactosa, pueden contribuir a la disminución del pH, volviendo más ácido el medio y a su vez causando la desmineralización dental, por lo tanto se sugiere el uso de la leche probiótica con *L. rhamnosus* ya que, puede inhibir al *S. mutans* por sí solo, sin embargo la capacidad de dicho probiótico para inhibir el patógeno, depende también de sus habilidades de combinación, producción de bacteriocina y la capacidad de adherirse a la mucosa bucal humana (Nuntiya, Surasawadee, Wiboon, Supansa, & Rawee, 2020). Por lo tanto, la ingestión de probióticos puede ser un método prometedor para la prevención de caries (Lin, Chen, Tu, Wang, & Chen, 2017).

Al evaluar la eficacia de los prebióticos, galactooligosacáridos (GOS) y fructooligosacáridos (FOS), para potenciar el probiótico *L. acidophilus*, en la inhibición del *S. mutans*, en cuanto a la prevención de caries dental, se tiene que la tasa de crecimiento de *S. mutans* disminuye en gran medida cuando se cocultiva con *L. acidophilus* en medio suplementado con GOS. Por otra parte, el medio suplementado con FOS, demuestran que la tasa de crecimiento de *S. mutans* se reduce notablemente en todas las concentraciones cuando se cocultiva con *L. acidophilus*. La tasa de crecimiento de *S. mutans* se retrasa significativamente cuando se cocultiva

con *L. acidophilus* y la concentración adecuada de prebióticos. Estos prebióticos tienen potencial en la aplicación clínica para activar la función del probiótico *L. acidophilus* naturalmente e inhibir *S. mutans* (Santichai, Chatrudee, & Kornchanok, 2019).

Por otra parte, cuando se utilizan cepas bacterianas como *S. mutans*, *S. oligofermentans*, y *L. reuteri*, la supervivencia de *S. mutans* se reduce y el tratamiento con *S. oligofermentans* da como resultado una reducción de la vitalidad de *S. mutans* (Haiyue, Petra, & Falk, 2020).

Los metabolitos producidos por *L. fermentum*, tienen un gran potencial para ser utilizados como agente antimicrobiano contra *S. mutans* ya que presentan actividad anti-adherente y bactericida (de Souza J., 2020).

La actividad cariogénica no solo es mediada por *S. mutans* sino que a su vez interfieren otros patógenos orales, tales como *Actinomyces naeslundii*, entre otros. Estudios recientes han demostrado que *L. reuteri* junto con otras bacterias probióticas como *L. rhamnosus*, *S. oligofermentans*, muestran mejores resultados en la reducción de *S. mutans*; el *Lactobacillus reuteri*, posee mayor capacidad anticaries en comparación a otros, incluso este último tiende a disminuir a *L. rhamnosus* y *S. mutans* las cuales son bacterias de rápido crecimiento y competitivas en condiciones muy ácidas cuando son suministradas en el mismo cultivo, sin embargo *Actinomyces naeslundii* no se reduce. Las cepas de *L. reuteri* y *S. oligofermentans* son capaces de contrarrestar los productos ácidos y a su vez, lentificar el proceso de la caries (Chen, Schläfe, Göstemeyer, & Schwendicke, 2020).

Sin embargo, los probióticos podrían afectar también la formación de las biopelículas e interferir con la adherencia, crecimiento y co-agregación del *S. mutans*, por lo tanto se evalúa el efecto de las bacterias probióticas en la cariogenicidad del *S. mutans*; por lo cual, es posible que

los probióticos sean más efectivos para promover la remineralización que para prevenir la desmineralización, aunque otros estudios previos han informado que algunas especies probióticas no tienen un efecto anti caries, la mayoría de las publicaciones en el campo muestran una supuesta actividad inhibidora de la caries (Fernández, 2015).

Tabla 3. Estudios realizados *in vivo* con resultados positivos contra el crecimiento del *Streptococcus mutans*.

Autor	Bacteria inhibidora	Forma utilización	Concentración del probiótico	Población	Tiempo de uso	Medio de cultivo	Evento Medido	Resultado
(Qiuxiang, et al., 2020)	<i>L. plantarum</i> FBT9/ <i>L. plantarum</i> 5D-3 (5D-3)	Inoculación de colonias en superficie dental	1×10^5 de células vivas	Ratas hembras SPF Wistar 21 días de edad	10 semanas	MRS en condiciones anaeróbicas a 37°C .	Evaluación de biomasa por medio de recuento de UFC de <i>S.m</i>	Reducción de 2 órdenes de magnitud $3,2 \times 10^5$ UFC/ml
(Villavicencio, Villegas, Arango, Arias, & Triana, 2018)	<i>L. rhamnosus</i> 5x106 y <i>B. longum</i>	200 ml de Leche probiótica durante el desayuno, todos los días, cinco días a la semana, durante 9 meses.	<i>L. rhamnosus</i> 5×10^6 UFC / g y <i>B. longum</i> 3×10^6 UFC / g.	Niños de 3-4 años	9 meses	<i>S.m</i> = MSTB. <i>Lactobacillus</i> = MRS	Saliva, PH, Biofilm	Ambos probióticos mostraron reducción de <i>S.m</i> en saliva y placa bacteriana.
(Nuntiya, Surasawadee, Wiboon, Supansa, & Rawee, 2020)	<i>L. rhamnosus</i> SD11	leche fermentada <i>L. rhamnosus</i> con maltitol, una vez al día durante 4 semanas	<i>L. rhamnosus</i> 10 8 UFC / ml. Suplementada con maltitol 5%	123 niños	8 semanas	<i>L. rhamnosus</i> MRS y el <i>S.m</i> se cultivó en agar sangre al 5%	<i>S.m</i> presentes en la Saliva	<i>L. rhamnosus</i> SD11 con 5% (p/v con maltitol) tuvo efectos beneficiosos al reducir en la saliva el <i>S.m</i>
(Arweile, Heumann, Hellwig, & Al-Ahmad, 2020)	<i>L. casei</i> , <i>rhamnosus</i> , <i>E. faecalis</i>	Solución, dos veces al día (mañana y noche), diluido en agua (= 56 sobres).	<i>L. rhamnosus</i> GG dos veces al día (mañana y noche), diluido en agua (= 56 sobres) 6×10^9 UFC/	39 adultos >18 años	28 días	formación de biopelícula en cubreobjeto	Placa bacteriana y saliva	Los probióticos no pudieron integrarse o persistir en el biofilm dental y la saliva, pero influyeron en el crecimiento de <i>S.m</i> en el biofilm.

(Sevtap & Zeliha, 2018)	<i>L. brevis, lactis</i>	kéfir (yogurt)	2 × 100 ml x día	15 pacientes con ortodondia	3 meses y 6 meses	MRS, AMS	Saliva	Reducción del número de colonias presentes en saliva.
(Patil, Persis, & Maitreyee, 2019)	<i>L. casei shirota</i>	leche probiótica (yakult) y enjuague bucal con flúor	6.500 millones de <i>L. casei</i> cepa <i>Shirota</i>	30 niños de 8 a 13 años	8 días	AMS	Saliva y Placa bacteriana	No diferencias entre enjuague y consumo de leche con probióticos
(Sañudo, Luque, Roper, Fonollá, & Bañuelos, 2017)	<i>L. salivarius CECT 5713</i>	Suspensión de enjuague bucal: 2 veces al día de <i>L. salivarius</i> 10 mg; durante las siguientes 2 semanas.	10 mg; 10 ⁹ células	4 mujeres y 7 hombres (23 años - 44) sin enfermedad dental o gingivales graves	21 días	<i>S.m</i> = BHI. Lactobacillus = MRS	PCR en Saliva	Inhibición > 70%
(Ahmad, et al., 2019)	<i>B. lactis Bb12</i>	300 g / día de yogur probiótico vs 300g / día de yogur convencional al día durante 2 semanas.	Recuento mínimo de 10 ⁶ UFC / mL de <i>B. lactis Bb12</i>	66 estudiantes (de 18 a 30 años)	8 semanas	(Hi-Media, India) para <i>Sm</i> y Lactobacillus	Saliva	Reducción de colonias

MSTB=Mitis Salivarius con telurio y bacitracina; AMS= Agar Mitis Salivarius; *S.m*= *Streptococcus mutans*; MRS= De Man Rogosa Sharpe; BHI= Infusión Cerebro Corazón

9. Aspectos destacados y perspectivas futuras

Teniendo en cuenta el análisis de la literatura acerca del efecto inhibitorio de la bacterioterapia sobre *S. mutans*, podemos concluir y proponer:

- Los probióticos tienen una importante acción inhibitoria frente al *Streptococcus mutans* según los estudios *in vivo* e *in vitro* utilizados en diferentes presentaciones o concentraciones.
- Las especies con mayor efecto inhibitorio son *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* de las cuales resaltamos el *L. casei* variedad *rhamnosus* el cual tiene mayor efecto inhibitorio y el *B. longum* en cualquier concentración que presenten.
- En estudios *in vivo* sólo se observa como evento la cuantificación de *S. mutans* en saliva y placa bacteriana y debería considerarse estudios de tipo longitudinal en donde se realice evaluación de incidencia de caries o formación de placa.
- Se propone que se realicen estudios en donde se evalúe diferentes dosis y su efectividad así como, los cambios que induce en otros componentes de la microbiota.

10. Bibliografía

- Ahmad, J., Essam, A., Leila, B., Alireza, E., Mohammad, Hosein, H., et al. (2019). Effects of the Consumption of Probiotic Yogurt Containing Bifidobacterium lactis Bb12 on the Levels of Streptococcus mutans and Lactobacilli in Saliva of Students with Initial Stages of Dental Caries: A Double-Blind Randomized Controlled Trial. *Caries Res.*
- Astorga, B., Barraza, C., Casals, J., Cisterna, M., Mena, D., Morales, F., . . . Moncada, G. (2015). Advances in the Study of Oral Bacterial Diversity Associated with Dental Caries by Genomic Study B. *Int. J. Odontostomat.* , vol.9 no.3
- Amez, M., López, J., Estrugo, A., Ayuso, R., & Jané, E. (2017). Probiotics and oral health: A systematic review. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* , 1;22 (3):e2828-.
- Angarita, M. (2016). Probióticos y su relación con el control de caries. Revisión de tema. *Rev Fac Odontol Univ Antioq* . 28(1): 179-202.
- Ann L. Griffen, C. J. (2011). Una base de datos de rDNA 16S curada filogenéticamente del microbioma oral central. *Journal Pone.*
- Arweile, N. A., Heumann, C., Hellwig, E., & Al-Ahmad, A. (2020). Influence of Probiotics on the Salivary Microflora Oral Streptococci and Their Integration into Oral Biofilm. *Journal antibiotics.*
- Bravo, J., Morales, A., Lefimil, C., Galaz, C., & Gamonal, J. (2018). Efecto clínico de Lactobacillus reuteri en el tratamiento de la gingivitis: un ensayo clínico controlado aleatorio. *Revista clínica de periodoncia, implantología y r.*
- Bustamante M, Oomah BD, Mosi-Roa Y, Rubilar M, Burgos-Díaz C. (2020) Probióticos como terapia complementaria para el tratamiento de halitosis, caries dental y

- periodontitis. *Probióticos Proteínas Antimicrobianas.*; 12 (2): 325-334. doi: 10.1007 / s12602-019-9521-4. PMID: 30729452.
- Carnicé, T. (2006). Probióticos. Concepto y mecanismos de acción. *Asociacion Española de Pediatría.* , Vol. 04. Núm. S1.páginas 30-41.
- Chimenes, E., Giovannoni, M., & Schemel, M. (2017). Disbiosis como factor determinante de enfermedad oral y sistémica: importancia del microbioma . *Med Clin Barc.*
- Carpenter, G. (2020). Salivary Factors that Maintain the Normal Oral Commensal Microflora . *International & American Associations for Dental Research .*
- Chen, Z., Schlafe, S., Göstemeyer, G., & Schwendicke, F. (2020). 8. Probiotic Effects on Multispecies Biofilm Composition, Architecture, and Caries Activity In Vitro. *Journal microorganisms.*
- Cueto, V. (2009). Diagnóstico y tratamiento de lesiones cariosas incipientes en caras oclusales . *Odontoestomatología* , vol.11 no.13 Montevideo nov.
- Cruz, S., Díaz, P., Arias, D., Mazón, G., & Baldeón, I. (2017). Microbiota of oral cavity ecosystems. *Rev Cubana Estomatol.* , 54(1).
- Dakshinamoorthy, M., Subramanian, M., Padmavathi, K., Mahalakshmi, K., Arumugam, K., & V, P. (2016). Efecto del chocolate probiótico en la reducción del recuento de *Streptococcus mutans*. *Biomed Pharmacol.*
- de Souza, J. (2020). Antimicrobial activity of *Lactobacillus fermentum* TcUESC01 against *Streptococcus mutans* UA159. . *Journal Pre-proof.*
- Fernández, C. (2015). Effect of the Probiotic *Lactobacillus rhamnosus* LB21 on the Cariogenicity of *Streptococcus mutans* UA159 in a Dual-Species Biofilm Model. *Caries Research.*
- Friedman, J. (2011). El papel de *Streptococcus mutans* en la formación de caries dental: una perspectiva ecológica. . *The Science Journal del Lander College of Arts and Sciences .*

- Fierro, C., Aguayo, C., Lillo, F., & Riveros, F. (2017). Role of Probiotics as bacteriotherapy for Odontology. *Literature review Odontoestomatología.*, Vol. XIX - N° 30.
- Friedman, J. (2011). The role of Streptococcus mutans in the formation of dental caries: an ecological perspective. *Science Journal of the Lander College of Arts and Sciences*, 5(1).
- Gupta, V; Garg, R (2009). *Probiotics. Indian Journal of Medical Microbiology*, 27(3), 202–. doi:10.4103/0255-0857.53201
- Gruner, D. (2016). 22. Probiotics for managing caries and periodontitis: Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of Dentistry* .
- Haiyue, Y., Petra, G., & Falk, S. (2020). Environment-Specific Probiotic Supernatants Modify the Metabolic Activity and Survival of. *Front. Microbiol.*
- Hamad, M., Samma, M., & Reham, R. (2019). Technology and microbiological studies on some probiotic dairy beverages fortified with pineapple pulp. *J. food and dairy Sci.*, vol 10 (4): 125-129.
- Hedayati, H., Ulrika, L., Catarina, E., & Svante, T. ((2015)). Effect of probiotic chewing tablets on early childhood caries – a randomized controlled trial. . *BMC Oral Health* , 15:112.
- Hernández, J., Frizzo, L., Rodríguez, J., Valdez, G., & Calero, I. (2019). In vitro evaluation of the probiotic potential of Lactobacillus acidophilus SS80 and Streptococcus thermophilus SS77. *Revista de Salud Animal.*
- Hidalgo, I., Duque, J., & Pérez, J. (2008). Dental caries. Some factors related to their appearance in children. *Rev Cubana Estomatol.*
- Iniesta M, H. D.-B.-P. (2012). Probiotic effects of orally administered Lactobacillus reuteri-containing tablets on the subgingival and salivary microbiota in patients with gingivitis. A randomized clinical trial. *J Clin Periodontol.*

- Jae, J., Seung, B., Trung, N., Jin, K., Chang-Ho, K., Seonyoung, K., et al. (2021). Effects of Probiotic Culture Supernatant on Cariogenic Biofilm Formation and RANKL-Induced Osteoclastogenesis in RAW 264.7 Macrophages. *Molecules*.
- Jalasvuori H, H. A. (2012). Probiotic Lactobacillus reuteri strains ATCC PTA 5289 and ATCC 55730 differ in their cariogenic properties in vitro. . *Arch Oral Biol.* , 57(12):1633-8.
- James, M., Velastegui, E., & Cruz, M. (2017). Evaluation of culture conditions of Lactobacillus acidophilus y Lactobacillus casei on laboratory scale, with inulin as carbon source. *Revista bionatura*.
- Jeong, D., Hyeon, D., Kwang, Y., & Kun, H. S. (2018). Antimicrobial and anti-biofilm activities of Lactobacillus kefirifaciens DD2 against oral pathogens. *Journal of Oral Microbiology*.
- Jiang, Q., Stamatova, I., Kainulainen, V., Korpela, R., & Meurman, J. H. (2016). Interactions between Lactobacillus rhamnosus GG and oral micro-organisms in an in vitro biofilm model. *BMC microbiology* , 16(1), 149.
- Jones M, M. C. (2011). Cholesterol-lowering efficacy of a microencapsulated bile salt hydrolase-active Lactobacillus reuteri NCIMB 30242 yoghurt formulation in hypercholesterolaemic adults. *Br J Nutr* 9: 1-9.
- Kassebaum, N., Bernabé, E., Dahiya, M., Bhandari, B., Murray, C., & Marcenes, W. (2015). Global Burden of Untreated Caries: A Systematic Review and Metaregression. . *Journal of Dental Research*.
- Kilian, M. C. (2016). El microbioma oral: una actualización para los profesionales de la salud bucal. . *Br Dent J* , 221, 657–666 <https://doi.org/10.1038/sj.bdj.2016.865>.

- Lin, X., Chen, X., Tu, Y., Wang, S., & Chen, H. (2017). Effect of Probiotic Lactobacilli on the Growth of Streptococcus Mutans and Multispecies Biofilms Isolated from Children with Active Caries. . *Medical science monitor*, 23 , 4175–4181.
- Madhwani, T., & McBain, A. (2011). Bacteriological effects of a Lactobacillus reuteri probiotic on in vitro oral biofilms. *Elsevier Ltd. All rights reserved*.
- Manzano, C., Estupiñán, D., & Poveda, E. (2012). CLINICAL EFECTS OF PROBIOTICS: WHAT DOES THE EVIDENCE SAYS. *Rev. chil Nutr*.
- Mohammed, N. B., Prasanna, N., Manikandan, E., ram, E., & Cynthia, K. (2020). Efect of a novel synbiotic on Streptococcus mutans. *Scientific reports*.
- Monroy, J., -Salgado, V., Cárdenas, P., & Bermúdez, R. (2019). Scientific production on dental caries 2014–2018: a bibliometric study in Web of Science. . *Rev Fac Odontol Univ Antioq.*, 31(1-2): 77-90.
- Moreno, B., Soto, K., & González, D. (2015). Nitrate consumption and potential beneficial effect on cardiovascular health. *Rev. chil. nutr.* , vol.42 no.2.
- Neha, S., Kassapa, E., Nityasri, V., Louis, C., Tomoko, O., & Chaminda. Jayampath, S. (2020). Lactobacillus Plantarum 108 Inhibits Streptococcus mutans and Candida albicans Mixed-Species Biofilm Formation. *Journal Antibiotics*.
- Nunpan, S., Suwannachart, C., & Wayakanon, K. (2019). Effect of Prebiotics-Enhanced Probiotics on the Growth of Streptococcus mutans. *International journal of microbiology*.
- Nuntiya, P. S., Surasawadee, C., Wiboon, O., Supansa, U., & Rawee, T. (2020). Fermented milk containing a potential probiotic Lactobacillus rhamnosus SD11 with maltitol reduces Streptococcus mutans: A double-blind, randomized, controlled study. *Journal of dental Sciences*.

- Ojeda, J., Oviedo, E., & Salas, L. (2013). Streptococcus mutans y caries dental. . *Rev. CES Odont.*, 26(1) 44-5.
- Olveira, G., & Gonzalez, I. (2016). An update on probiotics, prebiotics and symbiotics in clinical nutrition. *Revista endocrinologia y nutricion.*
- Ortiz, R., Porta, M., & Corina, S. (2019). Streptococcus dentisani and its probiotic role in the development of dental caries. *CONICET*, Volumen 13. N° 2.
- Palomino, S., Loayza, D., Gamboa, E., Pomacóndor, C., & Millones, P. (2020). efectos beneficios de los probioticos en la prevencion de caries dental. *Medicina Naturista* , Vol. 14 · N° 2.
- Parra, R. (2010). Bacterias acido lacticas: papel funcional en los alimentos. Revision. *Facultad de Ciencias Agropecuarias* .
- Patil, R., Persis, D., & Maitreyee, U. (2019). Comparative evaluation of antimicrobial effectiveness of probiotic milk and fluoride mouthrinse on salivary Streptococcus mutans counts and plaque scores in children – An in vivo experimental study. *Journal of Indian Society of Pedodontics and Preventive Dentistry.*
- Qiuxiang, Z., Sujia, Q., Yin, H., Xianyin, X., Jianxin, Z., Hao, Z., et al. (2020). Efectos inhibidores y preventivos de Lactobacillus plantarum FB-T9 sobre caries dental en ratas. *Journal of Oral Microbiology.*
- Rebolledo, M., Rojas, E., & Salgado, F. (2013). Efecto de Dos Probióticos que Contienen Cepas de Lactobacillus casei variedad rhamnosus y Lactobacillus johnsonii sobre el Crecimiento in Vitro de Streptococcus mutans. . *International journal of odontostomatolo.*
- Reham, W., Ola, A., El, R., Mai, Z., Hossam, M., & Ashour. (2018). Probiotic Lactobacillus sp. inhibit growth, biofilm formation and gene expression of caries-inducing Streptococcus mutans. *J Cell Mol Med.*

- Saif, U. I. (2016). Clinical Uses of Probiotics systematic review and meta-analysis. *Rev. Medicine*, Volume 95, Number 5.
- Santichai, N., Chatrudee, S., & Kornchanok, W. (2019). Effect of Prebiotics-Enhanced Probiotics on the Growth of *Streptococcus mutans*. *Department of Restorative Dentistry, Naresuan University, Phitsanulok, Thailand*.
- Sañudo, A., Luque, R., Ropero, M. P., Fonollá, J., & Bañuelos, Ó. (2017). In vitro and in vivo anti-microbial activity evaluation of inactivated cells of *Lactobacillus salivarius* CECT 5713 against *Streptococcus mutans*. *Arch Oral Biol*.
- Sasso, c., Ortiz, f., Porta, c., & w., B. (2019). Inflammatory properties of *Streptococcus dentisani*. A new ally against dental cavities? *BIOCELL*, 43(4), 14-15.
- Sánchez, María Teresa, Ruiz, María Adolfinia, & Morales, María Encarnación. (2015). Microorganismos probióticos y salud. *Ars Pharmaceutica* (Internet), 56(1), 45-59. <https://dx.doi.org/10.4321/S2340-98942015000100007>
- Schwendicke, F., Korte, F., Dorfer, C., Kneist, S., Karim, E. S., & Paris, S. (2017). Inhibition of *Streptococcus mutans* Growth and Biofilm formation by Probiotics in vitro. *CARIES RESEARCH*.
- Serrano, H., Sánchez, M., & Cardona, N. (2014). Knowledge of the microbiota of the oral cavity through the metagenomic . *CES Odontología*.
- Senok, A., Ismaeel, A., & Botta, G. (2005). Probiotics: facts and myths. . *Clin Microbiol Infect*, 11: 958–966.
- Serrano, H., Sánchez, M., & Cardona, N. (2015). Conocimiento de la microbiota de la cavidad oral a través de la metagenómica. *Rev. CES Odont* , 28(2): 112-118.

- Sidhu, G. M. (2015). Evaluación de Lactobacillus y Streptococcus mutans por adición de probióticos en forma de cuajada en la dieta. *Revista de salud bucal internacional: JIOH*, 7 (7), 85–89
- Sevtap, A., & Zeliha, B. (2018). Effects of probiotics on salivary Streptococcus mutans and Lactobacillus levels in orthodontic patients. *American Journal of Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* .
- Srivastava, S., Saha, S., Kumari, M., & Mohd, S. (2016). Effect of Probiotic Curd on Salivary pH and Streptococcus mutans: A Randomised Controlled Trial. *Revista de investigación clínica y diagnóstica*.
- Twetman, S. (2012). Are we ready for caries prevention through bacteriotherapy? *Braz Oral Res.*, (São Paulo) , 26(Spec Iss 1):64-70.
- Ushas C. Caries Risk Assessment: A Critical Look June. *Journal of Operative Dentistry & Endodontics* 2018 3(1):22-27DOI:10.5005/jp-journals-10047-0051.
- Villavicencio, J., Villegas, L. M., Arango, M. C., Arias, S., & Triana, F. (2018). Efectos de un alimento enriquecido con probióticos sobre Streptococcus mutans y Lactobacillus spp. recuentos de saliva en niños en edad preescolar:. *J. Appl. Ciencia oral.*, vol.26.
- Wu, C.-C., Lin, C.-T., Wu, C.-Y., Peng, W.-S., Lee, M.-J., & Tsai, Y.-C. (2015). Inhibitory effect of Lactobacillus salivarius on Streptococcus mutans biofilm formation. *Mol Oral Microbiol*, 30(1):16-