

ACCIÓN INHIBITORIA DEL PROBIÓTICO *Bifidobacterium breve* SOBRE *Lactobacillus acidophilus* Y REVISIÓN DE LA LITERATURA DEL EFECTO INHIBITORIO DE *Lactobacillus rhamnosus* sobre *Lactobacillus spp.*

BRIAN CASTRO PIERUCCINI

UNIVERSIDAD ANTONIO NARIÑO

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

SAN JOSÉ DE CÚCUTA

2020

ACCIÓN INHIBITORIA DE PROBIÓTICO *Bifidobacterium breve* SOBRE *Lactobacillus acidophilus* Y REVISIÓN DE LA LITERATURA EFECTO INHIBITORIO DE *Lactobacillus rhamnosus* sobre *Lactobacillus spp.*

BRIAN CASTRO PIERUCCINI

Asesor científico:

ADIEL VÁZQUEZ QUIJANO

Bacteriólogo

Lic. Biología y Química

Especialista en Computación para la Docencia

Asesor metodológico:

BLANCA LYNNE SUÁREZ GÉLVEZ

ODONTÓLOGA MSc CIENCIAS BÁSICA MÉDICAS

UNIVERSIDAD ANTONIO NARIÑO

FACULTAD DE ODONTOLOGIA

SAN JOSÉ DE CUCUTA

2020

Tabla de contenido

Tabla de contenido	1
Lista de Anexos	3
Dedicatoria	4
Agradecimientos	5
Resumen	6
Introduccion	8
Problema	11
Planteamiento del problema	11
Formulación del problema	13
Objetivos.	15
Objetivo general	15
Objetivos específicos	15
Revision bibliográfica	16
Caries dental	18
Probióticos y caries dental	24
Acción inhibitoria de probiótico <i>Lactobacillus rhamnosus</i> sobre <i>Lactobacillus spp.</i>	26
<i>Bifidobacterium breve</i> - <i>Lactobacillus rhamnosus</i> sobre <i>Lactobacillus spp</i>	29
Diseño metodológico.	33
Tipo de investigación	33
Población y muestra	33
Población	33

Muestra	33
Criterios de inclusión y exclusión	33
Criterios de inclusión	33
Criterios de exclusión	34
Variables	34
Variables dependientes	34
Variables independientes	34
Variables intervinientes	34
Materiales y métodos	34
Resultados	42
Discusión	49
Conclusión.	53
Recomendaciones	54
Referencias	55
Anexos	64

Lista de Anexos

	pág.
Anexo A. Artículos científicos	64
Anexo B. Registro del halo de inhibición	69
Anexo C. Certificación <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	70
Anexo C. Certificación <i>Bifidobacterium breve</i>	72
Anexo E. Certificación <i>Lactobacillus acidophilus</i>	74
Anexo F. Caldo de cultivo M.R.S. (Man rogosa sharpe)	76
Anexo G. Agar M.R.S. (Man rogosa Sharpe)	78
Anexo H. Manejo de Medio de Cultivo infusión Cerebro Corazón	80

Dedicatoria

Ante todo, doy gracias a Dios y a la vida por permitirme culminar mis metas, por llenarme de tranquilidad, y sabiduría para aceptar y enfrentar todos los retos y dificultades presentadas y por permitirme aprender, pero sobre todo por permitirme disfrutar y vivir la experiencia de estudiar lo que me gusta, por haber sentido siempre que ha sido la mejor decisión que he tomado, por sentir la gracia de hacer las cosas correctas. Doy gracias a Dios por también permitirme entender que todos los sacrificios tienen su recompensa.

A mis padres y mis abuelos el tesoro más grande que puedo darles es este y los agradecimientos y dedicatorias aquí escritas son pocas para agradecerles todo lo que hicieron por mí. Muchas gracias por ser mi motor durante el proceso, por enseñarme que las cosas se hacen con esfuerzo y con amor, gracias por su gran sacrificio también sé que no fue nada fácil, gracias por su apoyo incondicional y su paciencia, pero, sobre todo, gracias por enseñarme el valor de la perseverancia para alcanzar mis metas.

A mis docentes por brindarme el conocimiento que obtuve durante todo el trayecto de mi carrera, pero sobre todo gracias por enseñarme a ser un excelente profesional ético y competente para así poder lograr muchas metas más durante mi vida.

Muchas gracias, Dios los bendiga

Braian Emmanuel Castro Pieruccini

Agradecimientos

Agradecido con Dios por haberme permitido lograr cumplir mis sueños y metas hasta el momento, por enseñarme a lo largo de mi carrera el sentido de la responsabilidad, de la perseverancia, del sacrificio que implica la realización de mis sueños.

Mi más profundo y sincero agradecimiento a mi asesor científico el doctor Adiel Alberto Vásquez Quijano quien gracias a su orientación, sus consejos y acompañamiento durante todo el proceso y durante mi carrera, siempre me motivo y me enseñó a exigirme y a ser más responsable, gracias por permitirme trabajar a su lado y por guiarme para poder cumplir con mi proyecto de vida.

Agradezco a mi asesora metodológica la doctora Blanca Lynne Suarez Gelvez por acompañarme durante este largo proceso, exigirme y colaborar en todo lo que pudo en la realización de mi proyecto de grado, por aportarme su conocimiento que influyo mucho en mi crecimiento como profesional.

A todos mis amigos de la universidad Antonio Nariño, que de una u otra forma me brindaron su apoyo, e hicieron parte de la realización de este proyecto.

Braian Emmanuel Castro Pieruccini

Resumen

Los probióticos son beneficiosos para la salud. Hoy día se usan para equilibrar la flora bacteriana evitando muchas enfermedades. En la actualidad se implementan en cavidad oral para inhibir microorganismos causantes de caries dental evitando así una de las enfermedades más prevalentes del mundo.

OBJETIVO: Determinar la acción inhibitoria de probiótico *Bifidobacterium breve* sobre *Lactobacillus acidophilus* y determinar el efecto mediante revisión bibliográfica de *Lactobacillus rhamnosus* sobre *Lactobacillus spp*.

MATERIALES Y METODOS: El propósito del estudio fue determinar el efecto inhibitorio del probiótico *Bifidobacterium breve* sobre *Lactobacillus acidophilus*, mediante un experimento *in vitro*, se incubaron las cajas de Petri inoculadas masivamente con *L. acidophilus* y a su vez inoculadas en el centro con *B. breve* para observar el efecto inhibitorio de este último sobre *L. acidophilus*, midiendo el halo de inhibición formado alrededor del probiótico después de la incubación. Se manejó la variable, efecto inhibitorio de *Bifidobacterium breve* sobre *L. acidophilus*, determinada por el halo de inhibición (mm) formado alrededor del probiótico y se realizó revisión de la literatura para determinar el efecto inhibitorio de *L. rhamnosus* sobre *Lactobacillus spp*.

RESULTADOS: Se determinó que *Bifidobacterium breve* tiene efecto inhibitorio sobre *Lactobacillus acidophilus*, y una revisión de la literatura revela que *Lactobacillus rhamnosus* tiene efecto inhibitorio sobre *Lactobacillus spp*.

CONCLUSIÓN: Se determinó que existe un efecto inhibitorio de *Bifidobacterium breve* sobre *Lactobacillus acidophilus*. Se logró determinar por medio de revisión bibliográfica que *Lactobacillus rhamnosus* tiene efecto sobre *Lactobacillus spp*

Palabras clave: *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium breve*, *in vitro*, efecto inhibitorio.

Abstract

Probiotics have been beneficial to health. Today they are used to balance bacterial flora avoiding many sicknesses. They are implemented in the oral cavity to inhibit microorganisms that cause dental cavities avoiding one of the most prevalent sicknesses on planet earth.

OBJECTIVE: Determine the inhibitory action of probiotic *Bifidobacterium breve* over *Lactobacillus acidophilus* and determine the effect through bibliographic revision of *Lactobacillus rhamnosus* over *Lactobacillus spp.*

METHODS AND MATERIALS: The purpose of this study was based on determining the inhibitory effect of the probiotics *Bifidobacterium breve* over *Lactobacillus acidophilus*, in an *in vitro* study cultivated in petri boxes inoculated with *L. acidophilus* in a massive form, they were inoculated in the center with *B. breve* to observe the inhibitory effect of this last one over *L. acidophilus*, measuring a halo of inhibition. Variables that were evaluated had, inhibitory effect of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium spp.* over *L. acidophilus*, determined by a halo of inhibition (mm) formed around each probiotic colony. It was complemented with a qualitative documental study based on a revision of literature to determine the inhibitory effect of *Lactobacillus rhamnosus* over *Lactobacillus spp.*

RESULTS: It's determined that *Bifidobacterium breve* has inhibitory effect over *Lactobacillus acidophilus*, a revision of literature from different scientific studies revealed that *Lactobacillus rhamnosus* has an inhibitory effect over *Lactobacillus spp.*

CONCLUSION: It's determined that there exists an inhibitory effect of *Bifidobacterium breve* over *Lactobacillus acidophilus*. Determined by a bibliographic revision that *Lactobacillus rhamnosus* has inhibitory effect over *Lactobacillus spp.*

Key words: *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium breve*, *in vitro*, inhibitory effects.

Introducción

La caries dental es un problema de salud bucodental en la mayoría de países. Es una enfermedad dinámica crónica que ocurre la estructura dentaria en contacto con los depósitos microbianos y por la pérdida de equilibrio entre la sustancia dental y el fluido de la placa circundante, lo que ocasiona una pérdida de mineral de la superficie dental, cuyo signo es la destrucción localizada de los tejidos duros. Se considera una enfermedad infecciosa de causas múltiples, tanto biológicas, sociales, económicas, culturales y ambientales. Su formación y desarrollo están condicionados por el modo y estilo de vida de las personas (Jiménez R, Castañeda M, Corona M, Pereira G, Quinzon M, 2016).

Microorganismos como *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus* y *Lactobacillus* entre otros, contribuyen a la formación de biopelículas dentales. Durante el metabolismo de carbohidratos liberan ácido láctico que se difunde de la placa dental al esmalte, disolviendo el mineral, con la pérdida neta de minerales que puede generar una cavidad. La saliva desempeña funciones protectoras como la dilución y eliminación de azúcares, amortiguación del pH, limpieza, lubricación y mantenimiento de la integridad de las mucosas, acción antimicrobiana y sostenimiento del equilibrio desmineralización/remineralización (Martínez M, Morales S, Martínez C. 2013).

Hoy existen nuevas maneras de pensamiento por la mejor comprensión respecto a la microbiología oral en odontología debido a la hipótesis de la placa ecológica. Marsh, postula que infecciones orales como la caries o las enfermedades periodontales vendría a ser el resultado de los cambios ocurridos en el equilibrio de la microbiota que reside en la placa, como consecuencia

de la modificación de las condiciones medioambientales locales. Por ejemplo, un consumo continuado de tabaco alteraría las condiciones en la placa bacteriana, lo que favorecería el desarrollo de una mayor cantidad de bacterias patógenas periodontales (Zalba JI, Fernández AJ. 2013).

Como consecuencia de este concepto propuesto por Marsh sobre el cambio ecológico microbiano como mecanismo que conlleva al inicio de la enfermedad, aparecen nuevas estrategias dirigidas a potenciar un ambiente saludable para poder prevenir el desarrollo de estas infecciones oportunistas a través de emplear estrategias múltiples, entre ellas el uso de probióticos, para mantener el equilibrio ecológico de la biopelícula. (Zalba et al. 2013).

El término probiótico literalmente significa "para la vida" y fue propuesto por primera vez en la década de 1960. De acuerdo con el informe de la Organización mundial de la salud (OMS) y la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) (2002), los probióticos son microorganismos vivos que cuando se administran en adecuadas cantidades confieren un beneficio para la salud del hospedero. Es a partir de esta visión que nace el concepto "bacterioterapia", término utilizado cuando una cepa inofensiva se implanta en la microflora del huésped para mantener o restablecer un microbioma natural por la interferencia y/o la inhibición de otros microorganismos, especialmente patógenos, lo cual es concordante con la definición de probióticos (Fierro C, Aguayo C, Lillo F, Riveros F. 2017).

La bacterioterapia conduce a formas alternativas de lucha contra enfermedades infecciosas, con menos efectos colaterales que los fármacos convencionales, y también ayuda en el tratamiento

de trastornos que parecen no tener nada que ver con las bacterias, tales como asma, obesidad y diabetes. Bajo este punto de vista la evidencia científica ha demostrado que los probióticos pueden mejorar el estado de pacientes con los trastornos médicos, tales como diarrea, gastroenteritis, síndrome de intestino corto, enfermedades inflamatorias intestinales, cáncer, estados inmunosupresores, alergias pediátricas, retraso del crecimiento, hiperlipidemia, enfermedades hepáticas, infecciones por *Helicobacter pylori* e infecciones del tracto genitourinario. Durante la última década, el uso de probióticos ha ganado interés dentro de la comunidad odontológica, desarrollando estudios con enfoque en la reducción de la incidencia de caries dental, mejorar el pronóstico de la periodontitis, desaparecer la halitosis e infecciones como la candidiasis oral (Fierro et al 2017)

Problema

Planteamiento del problema

La enfermedad bucal que más prevalencia tiene es la caries dental, afecta a más del 90 % de la población y se clasifica como una enfermedad irreversible, multifactorial que guarda relación directa con un deficiente nivel educativo, hábitos higiénicos inadecuados y el consumo de tabaquismo a edades tempranas. La Organización Mundial de la Salud (OMS), la define como un proceso localizado de origen multifactorial que se inicia después de la erupción dentaria, determinando el reblandecimiento del tejido duro del diente y evoluciona hasta la formación de una cavidad (Rojas Pereda M, Vera González F, 2014).

La caries causa cierta presión sobre el huésped para que resuelva la condición. No es algo que sea tanto una molestia como una varicela, pero de lo que si pueden estar seguros y si es importante es que el diente es un órgano esencial y de alto valor y está directamente involucrado en la función de la alimentación, digestión, defensa personal, habla, comunicación y hasta atracción sexual (Craig J. 2019).

Entre las estrategias con potencial para el control de la caries dental se encuentran las acciones de detección temprana, el control de los factores de riesgo, el incremento de la higiene oral, el control de la dieta, la aplicación de fluoruros y sellantes y el control biológico. Entre los métodos preventivos de caries dental se encuentra el uso de probióticos, que son microorganismos viables que cuando se administran en cantidades adecuadas, proporcionan un beneficio para la salud del huésped, han sido utilizados con éxito para controlar enfermedades intestinales y parecen

actuar a través de resistencia a la colonización y modulación del sistema inmune. Estudios sugieren que los probióticos tienen el potencial de modificar la microbiota oral y están siendo investigados para prevenir o tratar enfermedades de la cavidad oral, tales como la caries dental y las enfermedades periodontales, que están asociados con un cambio en la composición microbiana y la actividad de la biopelícula, las cepas pertenecientes a *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* son investigados con mayor frecuencia en lo que respecta a los probióticos (Allaker R, Abish. 2017).

Estudios experimentales y los ensayos clínicos han demostrado que ciertas bacterias gastrointestinales, incluyendo *Lactobacillus* y *Bifidobacterium spp.*, tienen el potencial para controlar el crecimiento de microorganismos orales, incluyendo los *Streptococos* cariogénicos dentro de la cavidad oral, los mecanismos de acción probiótica posiblemente se pueden sugerir a partir de estudios gastrointestinales anteriores, por lo que se pueden sugerir estos microorganismos como una herramienta terapéutica para el control de la enfermedad oral (Allaker et al 2017).

“La caries dental es un problema que afecta actualmente al 90% de la población mundial” (OMS 2018). Esto sucede por el ácido láctico producido por *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus* entre otros. *L. acidophilus* es uno de los principales microorganismos causantes de la caries dental por su capacidad de producir ácido láctico mediante fermentación de carbohidratos, “puede formar la caries dental sin presencia de *Streptococcus mutans*” (Kyrill S, 2019). Es una problemática que afecta mayormente a la población que por sus condiciones socioeconómicas no tienen acceso a los pocos métodos preventivos existentes. Esto le da una gran importancia a esta investigación por comprobar este estudio, agregando así mayor contenido científico para futuras investigaciones. Es importante comprobar la acción inhibitoria de probióticos orales tales como *L.*

rhamnosus y *B. breve* sobre *L. acidophilus* uno de los principales involucrados en la formación de esta enfermedad dental. Todo esto con el fin de obtener esta información ya que no existe literatura específica del efecto inhibitorio de estos probióticos sobre *L. acidophilus*.

Formulación del problema

La caries es una enfermedad que afecta a toda la población mundial causada por microorganismos como el *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus mutans*, *Actinomyces*. Inicialmente, *Streptococcus mutans* era considerado el principal patógeno involucrado en el proceso de la caries, Sin embargo, ahora se conoce que la caries se puede formar sin la presencia de *Streptococcus mutans*, con la presencia de *Lactobacillus acidophilus* se puede obtener ácidos lácticos para iniciar un proceso cariogénico (Kyrill S, Ueffing H, Dalpke A, Wolff B, Frese C, Wolff D, Boutin S. 2019).

Lactobacillus acidophilus ha sido encontrado en altas cantidades en lesiones cariosas superficiales y profundas y se ha determinado que se encuentra tanto en el inicio de la caries como durante el progreso de la misma. Se ha demostrado que la capacidad de *L. acidophilus* de formar biofilm se incrementa, cuando éste trabaja en conjunto con *Streptococcus mutans* (May-Lei M, Chun-Hung C, Kan-Hung L, Ching-Ming C, Chin-Man E 2013).

L. acidophilus y *S. mutans* producen ácido láctico de la azúcar fermentada y tienen la capacidad de sobrevivir en ambientes altamente ácidos, por este motivo, el nombre de *L. acidophilus* debido a su capacidad de sobrevivir en estos ambientes extremos. *L. acidophilus* y *S.*

mutans son consideradas las dos bacterias más importantes asociadas a caries de esmalte y dentina (May-Lei M et al 2013).

Hajikand T y col realizaron experimentos donde encontraron que la mayoría de las bacterias probióticas pertenecen a los géneros *Lactobacillus* o *Bifidobacterium* y estas bacterias se añaden comúnmente a las bebidas probióticas o productos de yogur. Estudios recientes han demostrado que los probióticos juegan un papel positivo en la salud oral, y pueden afectar la microecología oral mediante el cambio de la composición de proteína de la placa dental. Esto ha estimulado la investigación para estudiar el efecto anti-caries de los probióticos (Hajikand T et al 2015).

Los mecanismos de acción probiótica se han dilucidado de estudios gastrointestinales anteriores en los que se le atribuye a los probióticos un alto potencial para alterar la colonización de microorganismos patógenos y modular el sistema inmune, proporcionando una mejor respuesta del huésped, estos estudios sugieren realizar investigaciones que permitan saber si estos microorganismos probióticos podrían funcionar como herramienta terapéutica para el control de la caries dental, que afecta a una gran proporción de la población mundial, siendo considerada en la actualidad la enfermedad humana más prevalente en la población mundial, producida por varios microorganismos patógenos (Allaker R et al. 2017). De acuerdo con lo mencionado anteriormente surge la siguiente pregunta: ¿Los probióticos *Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium breve* tienen efecto inhibitorio sobre *Lactobacillus acidophilus*?

Objetivos

Objetivo general

Determinar la acción inhibitoria del probiótico *Bifidobacterium breve* sobre *Lactobacillus acidophilus* y mediante revisión de la literatura determinar el efecto inhibitorio de *Lactobacillus rhamnosus* sobre *Lactobacillus spp.*

Objetivos específicos

Identificar la actividad inhibitoria de *Bifidobacterium breve* sobre *Lactobacillus acidophilus*

Identificar la actividad inhibitoria de *Lactobacillus rhamnosus*, mediante revisión bibliográfica, sobre *Lactobacillus spp.*

Determinar mediante revisión de la literatura la acción de probióticos sobre cepas cariogénicas

Revisión Bibliográfica

La boca es la puerta de entrada del cuerpo humano al ambiente externo y representa uno de los mayores complejos biológicos. Consta de una membrana mucosa cubierta con un epitelio escamoso estratificado queratinizado y un epitelio no queratinizado, la superficie papilar de la lengua y las estructuras duras no mudables de los dientes encima y por debajo del margen gingival, con diferentes superficies, ranuras y huecos. Estos sitios constituyen nichos ecológicos o ecosistemas primarios que poseen diferentes características físicas, químicas y nutricionales que permiten el desarrollo de unas u otras especies microbianas. Los ecosistemas primarios orales son: mucosa, dorso de la lengua, superficies dentales, surco gingival, materiales biocompatibles, saliva, la película adquirida y las placas dentales, además de otros sistemas que comprenden la piel, el sistema digestivo y urogenital (Zezhang W, Liao S, Bitoun J, Jorgensen A, Feng S, Xu X, Chain P, Caufield P, Yihong H. 2017).

La boca es un complejo ecosistema en el que existe gran variedad de bacterias, se estima que más de 700 especies diferentes, en donde encuentran las condiciones de temperatura, humedad y nutrientes ideales para su desarrollo, esto dificulta su control y favorece la alta prevalencia de infecciones crónicas que pasan muchas veces desapercibidas, como periodontitis, gingivitis, periimplantitis, pericoronitis, caries, fístulas, abscesos, etc. (Zalba JI et al. 2013).

Es en boca donde se suceden las primeras fases del proceso digestivo y por ende está abundantemente dotada con funciones sensoriales (gusto, olor, temperatura y textura). Actualmente, estudios de salud oral han reafirmado un concepto anterior que la salud oral se

encuentra íntimamente ligada a la salud general y viceversa (Zezhang W et al 2017).

Las enfermedades que se encuentran localizadas en alguna parte del cuerpo pueden reflejarse en la boca y, como resultado, la saliva es cada vez más reconocida como un fluido diagnóstico clave. Es por esto que la boca es una de las principales interfaces entre el cuerpo y el ambiente externo, y puede actuar como un sitio de entrada para algunos patógenos microbianos, especialmente a partir del aire o a través de la ingestión de la dieta. El mantenimiento de una cavidad oral saludable, en consecuencia, es de vital importancia para la autoestima de la persona y el bienestar general (Zezhang W et al 2017).

El enfoque tradicional tanto en la fase preventiva como en la terapéutica ha estado fundamentado en tratar de eliminar la mayor parte de las bacterias. Un uso excesivo de antibióticos, e incluso de procedimientos mecánicos realizado por los profesionales del sector dental, ha servido para comprender las limitaciones de este tipo de abordaje (Zalba JJ et al 2013).

Las bacterias con potencial para causar enfermedad de esta manera se denominan “patógenos oportunistas”, y muchos microorganismos orales tienen la capacidad de comportarse de esta manera. De hecho, la mayoría de las personas sufren en algún momento de su vida episodios localizados de enfermedad en la boca causada por desequilibrios en la composición de su micro flora residente, en los que ciertos microorganismos se ven favorecidos por las condiciones establecidas a partir del hospedero y el ambiente (Zezhang W et al 2017).

Respecto a los microorganismos causantes de la caries dental, durante los años sesenta y setenta

fueron identificadas unas bacterias encontradas en alta proporción en lesiones cariosas. Durante este periodo, se estableció la importancia de *Streptococcus mutans* y organismos relacionados en la etiología de la caries dental. Otro grupo de bacterias encontradas en gran proporción en lesiones cariosas son los *Lactobacillus* acidogénicos y ácido tolerantes como *Lactobacillus acidophilus*, que al igual que *S. mutans* convierten los carbohidratos fermentables en ácido láctico, generando así la desmineralización de los dientes (Díaz M. 2016).

Las manifestaciones clínicas más comunes de dichos desequilibrios son la caries dental y la enfermedad periodontal, las cuales son muy frecuentes en sociedades industrializadas y ahora se encuentran en aumento en países en desarrollo; otras infecciones agudas y crónicas se originan, pero con menos frecuencia (Zezhang W et al. 2017).

La caries dental es una de las enfermedades de la cavidad oral más prevalentes de mundo, Afecta la calidad de vida de las personas. *Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus mutans* son los microorganismos principalmente involucrados en la iniciación y progresión de la misma (Minal K et al).

Caries Dental

Es una de las enfermedades infecciosas multifactoriales más comunes en todo el mundo, caracterizada por la progresiva desmineralización de los dientes o de las superficies radiculares después de la acción del ácido producido principalmente del metabolismo de los carbohidratos fermentables en la dieta por las bacterias que colonizan la superficie del diente (placa dental). Los

principales factores que predisponen al inicio del proceso de las caries son: la presencia de las especies bacterianas capaces de disminuir el pH hasta valores críticos de 5.5, la ausencia de higiene oral adecuada, una respuesta inmune anti-caries ineficiente, el tipo de dieta alimentaria y la estructura de los dientes (27,33) (Zezhang W et al. 2017).

La caries dental es una patología multifactorial que, como tal cuenta con unos factores causales, una patogénesis, sus manifestaciones clínicas y una serie de factores riesgo predisponentes. Se considera una infección bacteriana caracterizada por la destrucción de los tejidos calcificados del diente, debido a la acción de los microorganismos que integran la placa dental. Es una enfermedad transmisible y la mayoría de los niños adquieren las bacterias cariogénicas de manera vertical de la saliva de sus madres o cuidadores (Monserrat et al 2014).

La caries dental es una patología multifactorial que, como tal cuenta con unos factores causales, una patogénesis, sus manifestaciones clínicas y una serie de factores causales, una patogénesis, sus manifestaciones clínicas y una serie de factores de riesgo predisponentes. Se considera una infección bacteriana caracterizada por la destrucción de los tejidos calcificados del diente, debido a la acción de los microorganismos que integran la placa dental. Es una enfermedad transmisible y la mayoría de los niños adquieren las bacterias de manera vertical de sus padres o cuidadores (Cerón X 2015).

El biofilm oral adquiere nuevas especies microbianas en cada etapa de su desarrollo, incluyendo *Lactobacillus casei*, *S. sanguis*, *S. mutans*, *S. mitis* y *S. sobrinus*, que por su patogenicidad podrían dañar el tejido esmalte y las encías. Las enfermedades aparecen en este

micro-medio ambiente cuando hay. una falta de equilibrio en el ecosistema de la biopelícula bacteriana formada, y por lo tanto la eliminación mecánica de la biopelícula es un factor importante a la prevención de la caries y enfermedades periodontales (Zezhang W et al 2015).

En el modelo clásico desarrollado por Keyes en el año 1960, el cual se representa en el diagrama de Venn. Los microorganismos de la placa, el sustrato fermentable de carbohidratos, una superficie susceptible de diente, y el tiempo están implicados en la iniciación y progresión de la caries dental; este último factor fue después agregado, el cual es fundamental para el desarrollo de la enfermedad. Es imprescindible que los cuatro factores deban estar presentes y actuar juntos para que se produzca y progrese la caries (Zezhang W et al).

Estudios realizados desde 1890, utilizando métodos de cultivo microbiológicos convencionales, demostraron que *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* estaban asociados a caries dental (Figueroa-Gordon M, Alonso, Guillermina, Acevedo AM. 2009).

Se ha demostrado en estudios que *Lactobacillus acidophilus* ha sido encontrado en altas cantidades en lesiones cariosas superficiales y profundas y se encuentran tanto en el inicio de la caries como en el progreso de la misma. La capacidad de formar biofilm de *Lactobacillus acidophilus* está demostrado que se incrementa si trabaja en conjunto con *Streptococcus mutans*. *L. acidophilus* y *S. Mutans* tienen la capacidad de tolerar ambientes altamente acidogénicos, producto de la fermentación de azúcares. *Lactobacillus acidophilus* y *Streptococcus mutans* son

considerados las dos bacterias más importantes asociadas con la caries en esmalte y dentina esto determina que las dos están presentes tanto en la iniciación como en el progreso de la caries. (May-Lei M et al 2013).

Respecto a los microorganismos de cavidad oral con caries, durante los años sesenta fueron identificadas unas bacterias encontradas en alta proporción en lesiones cariosas. Durante este periodo, se estableció la importancia de *Streptococcus mutans* y organismos relacionados (*S. sobrinus*, *S. cricetus*, *S. rattus*, *S. downii* y *S. macacae*) en la etiología de la caries dental. Otro grupo de bacterias encontradas en gran proporción en lesiones cariosas son los *Lactobacillus* acidogénicos y ácido tolerantes, que al igual que el *Streptococcus mutans* convierten los carbohidratos fermentables en ácido láctico, generando así la desmineralización de los dientes (Angarita M, 2016).

La salud bucodental es un componente de la salud general, resulta vital para un adecuado crecimiento y desarrollo del niño y adolescente, se asocia a la nutrición, comunicación, fonación, y estética, con ello a la autoestima. La caries dental es una enfermedad crónica, infecciosa, multifactorial y transmisible, muy prevalente durante la infancia, por su magnitud y trascendencia constituye un importante problema de salud pública. Suele aparecer en niños y adultos jóvenes, pero afecta cualquier persona. Aunque se ha observado un claro descenso en los países desarrollados, no sucede lo mismo en los menos ricos, lo que ha provocado el interés de los investigadores en estudiar el perfil epidemiológico, así como su prevalencia. Según La Organización Mundial de la Salud (OMS) es un proceso localizado que se inicia después de la erupción dentaria, determina el reblandecimiento del tejido duro del diente y evoluciona hacia la

formación de una cavidad, si no se atiende oportunamente afecta la salud general y la calidad de vida de los individuos de todas las edades. Para Fejerskov, citado por Nuñez D, la lesión cariosa es un mecanismo dinámico de desmineralización y remineralización resultado del metabolismo microbiano sobre la superficie dentaria, que, con el tiempo, origina pérdida neta de mineral y formación de una cavidad. Actualmente se plantea que la etiopatogenia de la caries es multifactorial con interacción de cuatro factores principales: huésped, microflora, el sustrato y el tiempo. Para que se forme caries es necesario que las condiciones de cada factor sean favorables; es decir, un huésped susceptible, una flora oral cariogénica y un sustrato apropiado que deberá estar presente durante un período determinado de tiempo. Estos factores etiológicos se consideran primarios y entre los factores secundarios o de riesgos que no influyen directamente se recogen: la personalidad, nivel de vida y nivel cultural, factores psicológicos, la edad, factores genéticos, el contenido de fluoruros en las aguas, hábitos alimentarios, desarrollo socioeconómico y nivel de educación sanitaria. En Venezuela se han llevado a cabo tres estudios epidemiológicos nacionales sobre el estado de salud bucal: el de la planificación integral en la odontología, por Cova y colaboradores en 1972; el proyecto Fundacrede, por Méndez y colaboradores en 1995; y el estudio basal de prevalencia de caries y fluorosis en niños escolarizados, por Acevedo y colaboradores en 1997 (González S et al. 2014).

A pesar de la universalización del empleo del cepillado dental, los dentífricos con flúor y otros métodos preventivos (selladores dentales, seda dental, profilaxis profesional), las infecciones de la boca como caries, o los problemas de encías, continúan siendo enfermedades orales que afectan a la gran mayoría de la población mundial. Otros problemas habituales que se encuentran

hoy a nivel oral son el mal-aliento y las enfermedades de los implantes dentales (prótesis para la sustitución de piezas dentales) como la mucositis o la periimplantitis. (Zalba JI et al. 2013).

Cuando se produce un consumo frecuente de azúcares, los microorganismos de cavidad oral los metabolizan creando ácidos fuertes que favorecen el predominio de las especies cariogénicas y la desmineralización del diente. Según estos conceptos la enfermedad periodontal, la caries dental y otras enfermedades orales serían la consecuencia de cambios ecológicos, producto de un medio local alterado, donde microorganismos potencialmente patógenos tendrían una ventaja competitiva bajo condiciones apropiadas, pudiendo alcanzar, en ciertos lugares específicos, un número tal que pudiera predisponer el desarrollo de la enfermedad (Zalba JI et al. 2013).

Esta enfermedad crónica afecta a personas de cualquier edad, sexo y raza, con una mayor presencia en sujetos de bajo nivel socioeconómico. Esta situación guarda relación directa con un deficiente nivel educativo, una mayor frecuencia en el consumo de alimentos ricos en sacarosa entre las comidas y la ausencia de hábitos higiénicos. (Páez Y, Tamayo B, Peña Y, Bárbara Y, Sánchez M. 2017)

Concluyendo que la caries es el signo de la enfermedad y no la enfermedad en sí. En la actualidad el concepto más encontrado en la literatura es el que recoge las Guías prácticas clínicas de estomatología, donde se define a la caries dental como un proceso o enfermedad dinámica crónica que ocurre en la estructura dentaria en contacto con los depósitos microbianos que debido al desequilibrio entre la sustancia dental y el fluido de la placa circundante, trae como resultado

una pérdida del mineral de la superficie dental, cuyo signo clínico es la destrucción localizada de tejidos duros (González S et al. 2014).

Probióticos y caries dental

Dado que existen numerosos estudios que han probado el papel de los probióticos en las afecciones gastrointestinales, y teniendo en cuenta que la cavidad oral representa la puerta de entrada al tracto digestivo, Meurman y cols sugieren que, al menos, algunas cepas probióticas también podrán alcanzar algún cometido en la cavidad bucal. Asimismo, también insinúan que la micro flora oral podría contener microorganismos residentes con capacidad probiótica, cohabitando en la placa dental y contribuyendo en la formación y desarrollo de los diferentes biofilms orales. Para que una bacteria probiótica ejerza un efecto anticariogénico debe, progresivamente, ser capaz de adherirse a la superficie del diente, adaptarse al biofilm y competir con los microorganismos cariogénicos, reduciendo su colonización. La determinación de los mejores probióticos para el fomento de la salud oral es una línea de investigación abierta. Comelli y cols. Elaboraron un estudio *in vitro* con el fin de determinar qué cepas probióticas podían desempeñar un papel preventivo en la patogénesis de la caries dental (Robert P, Allaker, Abish S. 2017). Para ello dispusieron de 23 bacterias probióticas ácido lácticas, pertenecientes a dos especies (*Streptococcus thermophilus* y *Lactococcus lactis*) y cinco cepas de microorganismos orales (*S. sobrinus*, *S. oralis*, *A. naeslundii*, *V. dispar* y *F. nucleatum*). Observaron cómo *S. thermophilus* y *L. lactis* eran capaces de adherirse a la hidroxiapatita y crecer en el biofilm, del mismo modo en que lo hace el cariogénico *S. sobrinus*. Además, *L. lactis* moduló el crecimiento de las bacterias orales, disminuyendo la colonización de cuatro especies representativas de la placa supragingival: *S. oralis*, *V. dispar*, *A. naeslundii* y *S. Sobrinus*. (Robert P, Allaker, Abish S. 2017)

Aunque la mayoría de tratamientos con probióticos están indicados a la prevención de enfermedades relacionadas con el tracto gastrointestinal, otras áreas del cuerpo, como la boca, el tracto urogenital y la piel, también son consideradas para el tratamiento con estos productos por lo tanto los probióticos pueden desempeñar un importante papel en la odontología (Vandenplas Y, Huys G, Daube G. 2015).

Los probióticos son microorganismos que, si se administran en cantidades adecuadas, pueden tener un efecto positivo sobre el huésped. Los probióticos más usados y comercializados son cepas de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Enterococcus* y *Streptococcus*. Anteriormente se enfocaba su uso en equilibrar la flora gastrointestinal. Actualmente se usan sobre microorganismos causantes de la caries dental, enfermedad periodontal etc. Extendiendo aún más su uso para mantener y reformar la flora bacteriana considerada actualmente un excelente método para la prevención y tratamiento de estas enfermedades (Wu C, Jung S, Mar K, Hsu C, Hung S. 2019).

Existe evidencia científica de que el género *Lactobacillus* tiene un rol protector basado en la producción de diferentes tipos de bacteriocinas, sustancias proteínicas con diferentes mecanismos de acción inhibitoria contra *Streptococcus mutans*. Se sabe que *Lactobacillus* spp. Pertenecen a la microbiota oral y su capacidad para producir bacteriocinas exhibe una capacidad adhesiva significativa, y estas cepas también pueden reducir la cantidad de *Streptococcus mutans* de la superficie del diente cubierta por saliva (Torrez W, Zulema Susy Bueno Bravo 2020).

Así mismo, en la actualidad, se ha demostrado que el papel de la microbiota es muy importante en la patogenia de muchas enfermedades. Existen evidencias científicas del beneficio

de la prescripción de probióticos y simbióticos, especialmente en la patología digestiva, puesto que modifican y reponen la microbiota del tubo, induciendo una inmunomodulación y potenciando la capacidad antioxidante del individuo. Se ha comprobado que determinadas cepas de *Lactobacillus* inhiben el crecimiento de microorganismos responsables de la aparición de gingivitis, como pueden ser *Treponema denticola*, *Tannarella forsythia* o *A. actinomycetemcomitans*, por este motivo la administración de probióticos puede tener un rol importante en el ecosistema oral (Kaur G, Mantha S, Murthi S, Sura H, Kadaru P, Kumar J.2015).

Muchos tipos de bacterias son reconocidas como probióticos, estos tienen diferentes beneficios, pues no todos los probióticos son iguales, actualmente la literatura reporta que existen dos tipos: bacterianos y levadura. Entre los bacterianos, los más comunes son *Lactobacillus spp* y *Bifidobacterium spp*, conformados por distintas especies. Otros probióticos bacterianos de distintas especies. Otros probióticos bacterianos de distintas especies corresponden los géneros *Lactococcus*, *Enterococcus* y *Bacillus* y entre los probióticos de levadura el único reconocido es el *Saccharomyces baoulardii*, y sobre sus ventajas se han publicado múltiples investigaciones que evidencian su eficacia en distintas formas de diarreas, y establecen sus propiedades y mecanismos de acción sobre las diferentes con los probióticos bacterianos (Castañeda C. 2018).

Acción inhibitoria de probióticos *Lactobacillus rhamnosus* sobre *Lactobacillus spp*.

Los probióticos son bacterias beneficiosas que pueden mejorar el equilibrio de la micro-ecológica oral. La mayoría de las bacterias probióticas pertenecen a los géneros *Lactobacillus* o *Bifidobacterium* y estas bacterias se añaden comúnmente a las bebidas probióticas o productos de yogur. Estudios recientes han demostrado que los probióticos juegan un papel positivo en la salud

oral, y pueden afectar la micro-ecología oral mediante el cambio de la composición de proteína de la placa dental. Esto ha estimulado la investigación para estudiar el efecto anti-caries de los probióticos (Hajikand T, Lundberg U, Eldh C, Twetman S. 2015)

Existe evidencia científica de que el género *Lactobacillus* tiene un rol protector basado en la producción de diferentes tipos de bacteriocinas, sustancias proteínicas con diferentes mecanismos de acción inhibitoria contra *Streptococcus mutans*. Se sabe que *Lactobacillus spp.* Pertenece a la microbiota oral y su capacidad para producir bacteriocinas exhibe una capacidad adhesiva significativa, y estas cepas también pueden reducir la cantidad de *Streptococcus mutans* de la superficie del diente cubierta por saliva (Torrez W, Zulema Susy Bueno Bravo 2020).

Muchos estudios han demostrado que la caries es causada por el desequilibrio ecológico en la cavidad oral, cuando las bacterias de caries relacionadas aumentan y bacterias beneficiosas se reducen, la placa dental se puede transformar de placa no cariogénico a la placa cariogénico. Por lo tanto, el control de la caries debe estar orientado a mantener el equilibrio ecológico eficaz de la flora bucal (Hajikand T et al. 2015).

Lactobacillus spp está relacionado con la etiología y patogénesis de la caries dental. Las especies *Lactobacillus* son microorganismos que se asocian mayormente con la colonización de zonas retentivas creadas por las lesiones en las que quedan atrapados físicamente, aumentando en número durante la progresión y avance de la caries (Giancaman R, Muñoz C, Bravo E, Cerda F. 2013).

Estudios *in vitro* han demostrado que *Lactobacillus rhamnosus* y *L. paracasei* puede reducir la cantidad de *S. mutans* significativamente. En un estudio se recolectó la placa dental de los niños con caries activa y se mezclan estos organismos con *lactobacilos* probióticos, para calcular el número de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus*, en las biopelículas. El resultado final en el estudio fue que si hubo inhibición de *S. mutans* por ende también disminución de caries dental. El valor exacto de la reducción de *S. mutans* fue del 22% (Hajikand T et al. 2015).

El estudio anterior ha demostrado que cinco cepas de *Lactobacillus* probióticos fueron capaces de inhibir la formación y crecimiento de biofilm, probablemente mediante la producción de un medio ácido, los polipéptidos similares a bacteriocina o ambos. Aquí se comparó el efecto de cuatro *Lactobacillus* comunes, con cepas cariogénicas aisladas clínicamente y biopelículas mixtas de los niños con caries activas para explorar el valor práctico de los probióticos en la prevención de caries (Hajikand T et al. 2015).

Sustancias antibacterianas producidas por *lactobacilos* probióticos incluyen el ácido láctico, que puede inhibir el crecimiento microbiano mediante la reducción el pH, peróxido de hidrógeno, que puede inhibir la síntesis de ADN bacteriana y bacteriocinas, que pueden destruir las membranas celulares bacterianas para matar las bacterias Gram-positivas como *S. mutans* y bacterias cariogénicas es posible que las sustancias antibacterianas en los probióticos pueden ser principalmente bacteriocinas o proteínas similares a bacteriocina (Hajikand T et al. 2015).

Estudios han demostrado que *Lactobacillus reuteri* y *Lactobacillus plantarum* mostraron efectos inhibitorios significativos sobre el *S. mutans* y bacterias cariogénicas debido a la

producción de bacteriocinas. En el estudio, el número de *S. mutans* y *S. sanguinis* en el biofilm de la placa mixta, disminuyeron significativamente cuando se co-cultivaron con *lactobacilos*, lo que indica que los *lactobacilos* probióticos desempeñan un papel positivo en la prevención de la caries (Hajikand T et al. 2015).

Estudios clínicos recientes han demostrado que cepas de *L. rhamnosus* tienen efecto inhibitorio sobre *S. mutans* y especies cariogénicas como *Lactobacillus spp.* Se ha visto una disminución muy alta al observar placa y saliva luego de su efectiva aplicación. En el estudio se demostró un efecto inhibitorio significativo sobre *Lactobacillus spp.* (Villavicencio J et al. 2017).

Cepas probióticas como *Lactobacillus casei*, *L. rhamnosus* y *Lactobacillus johnsonii* disminuyen la colonización de las principales bacterias productoras de caries dental, pueden ser utilizadas como apoyo en la prevención de la caries dental (Rebolledo M et al. 2013).

L. rhamnosus como agente probiótico, tiene un efecto de interferencia contra patógenos a través de varios mecanismos, reducción de biofilm y acidogenicidad después del consumo de estos probióticos. Está claro que *L. rhamnosus* inhibe la formación de biofilm y bacterias orales, los mecanismos que utilizan estos *Lactobacillus* no están tan claros, sin embargo, uno de los mecanismos es la producción de biosurfactante. Se determinó que *Lactobacillus rhamnosus* tiene un efecto biosurfactante sobre la formación de biofilm (Arezo T et al 2019).

Bifidobacterium breve– Lactobacillus rhamnosus sobre Lactobacillus spp.

El consumo de yogurt podría mejorar la función inmune basado en su composición de los

probióticos, zinc, vitamina B6 y proteínas, que se asocian con el realce inmune. Entre estos componentes, los probióticos son considerados como los más importantes en términos de estimular el sistema inmunológico. Muchos estudios han demostrado que la ingesta de algunas cepas probióticas puede afectar la respuesta inmune con diferentes manifestaciones. Con *Bifidobacterium animalis* y *Lactobacillus paracasei* podría ser un medio eficaz para mejorar la función inmunológica al aumentar la respuesta inmune sistémica a desafiar los microorganismos patógenos. Se Mostró que el consumo de yogur fermentado con *Lactobacillus delbrueckii* ssp aumenta la efectividad de las células natural killer (NK) la actividad células beta y reduce el riesgo de infección en individuos de edad avanzada (Yousuf A et al. 2015).

Entre estos componentes, los probióticos se consideran los más importantes para mejorar la eficiencia del Sistema inmunológico en todos los sentidos. Muchos estudios ya han demostrado que los probióticos pueden modificar el ambiente otros microorganismos y el Sistema inmunológico en sí. La suplementación con *Bifidobacterium animalis* ssp. *Lactis* (BB-12[®]) y *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei* (*L. casei* 431[®]) pueden ser una manera efectiva de mejorar la función del Sistema inmunológico mejorándola respuesta inmediata del mismo haciendo que controlar microorganismos patógenos sea más fácil (Yousuf A et al. 2015).

Se demostró que el consumo de yogur fermentado con *Lactobacillus delbrueckii* ssp, aumentaba la efectividad de células natural killer (NK)-cell, de esta manera reduciendo el riesgo de infección para personas de edad avanzada. Adicionalmente se observó que *Lactobacillus plantarum* tiene un efecto beneficioso en mejorar y complementar la efectividad de los linfocitos, mejorando así la respuesta del sistema inmune evitando de esta manera la infección para todo tipo

de paciente. También, algunos estudios demuestran que probióticos *Lactobacillus* tratados con calor, generan beneficio sobre el huésped mejorando el sistema inmune. (Yousuf A et al. 2015).

La mayoría de las bacterias probióticas pertenecen a los géneros *Lactobacillus* o *Bifidobacterium*. Estudios recientes han demostrado que los probióticos juegan un papel positivo en la salud oral, y pueden afectar a la micro-ecología oral mediante el cambio de la composición de proteínas de la placa dental, esto ha estimulado la investigación para estudiar el efecto anti-caries de los probióticos (Xiaolong Lin, Chen Xi, Yan Ma, Wang Sa, Hui Chen. 2017).

Bifidobacterium ha sido ampliamente utilizada como probiótico y se encuentra actualmente considerado como una especie segura para su uso, sin producir efectos adversos ni complicaciones en los pacientes. Los mecanismos con efectos beneficiosos incluyen, exclusión competitiva, alteración del pH, que inhibe la capacidad tampón que tienen los microorganismos patógenos y efectos inmunoestimuladores. Existe una hipótesis de que *Bifidobacterium*, inactivado por calor, reduce el efecto cariogénico producido por especies cariogénicas, *in vitro*, lo que llevó a realizar un estudio que concluyo que esta cepa inactivada por calor, tiene efectos como coagregación o anti adhesión y efectos antimicrobianos, reduciendo la cariogenicidad de la biopelícula dental en cavidades de la dentina, y no en esmalte (Schwendicke F, Horb K, Kniest S, Christof R. 2104).

La caries dental es una de las enfermedades de la cavidad oral más prevalentes a nivel mundial afectando a más del 90% de la población. (OMS) 2018. Esta problemática despierta el interés por obtener mayor cantidad de métodos efectivos que permitan disminuir este porcentaje que afecta a casi toda la población.

En conclusión, se logró determinar que probióticos como *Bifidobacterium breve* tiene efecto inhibitorio sobre bacterias involucradas en gran parte en la formación de la caries dental como *Lactobacillus acidophilus* esto se determinó mediante un estudio *in vitro* donde se observó el efecto inhibitorio de este último sobre *L. acidophilus*, midiendo el halo de inhibición formado alrededor del probiótico después de la incubación. Se formó un halo de inhibición (mm) alrededor de cada colonia del probiótico. El efecto inhibitorio de *Lactobacillus rhamnosus* sobre los principales *Lactobacillus spp.* Esto se encuentra soportado en la revisión elaborada en este estudio. Esta investigación es importante porque aporta nueva información científica que suma al desarrollo en este campo y ayudara a dar soporte en que los probióticos son efectivos para la prevención de la caries dental.

Diseño metodológico

Tipo de investigación

Se realizó un estudio de tipo experimental *in vitro*, mediante un experimento se llegó a la causa del fenómeno, su esencia consistió en someter el objeto de estudio a la influencia de ciertas variables en condiciones controladas y conocidas por el investigador. (Vanegas M, González L, Arévalo S. 2010).

Se complementó con una revisión sistemática de la literatura. Las revisiones sistemáticas son investigaciones científicas en las cuales la unidad de análisis son los estudios originales primarios. (Ferreira I, Urrutia G, Coello P. 2011)

Población y muestra

La población y muestra está constituida por la cepa probiótica de *B. breve* ATCC 15700 y el agente patógeno *L. acidophilus* ATCC 314 y por los 50 artículos de revisión bibliográfica publicados del año 2010 al año 2020 en buscadores conocidos como Pubmed, Science direct y Scielo, los artículos son de revistas indexadas revistas indexadas como Frontiers in Microbiology y Journal of clinical and diagnostic research entre otros, base de datos de la Universidad Antonio Nariño.

Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de Inclusión. Cepas certificadas de los microorganismos objeto de la investigación, cepas con fecha de vencimiento no expirada, cepas certificadas procedentes de laboratorios

reconocidos comercialmente.

En la revisión sistemática de la literatura los criterios de inclusión fueron artículos de cualquier país, artículos en cualquier idioma, artículos indexados, enfocados en probióticos y caries dental, artículos con textos completos y lo más actuales posible.

Criterios de exclusión. Otros microorganismos causantes de caries dentales diferentes a *L. acidophilus* ATCC 314, otros microorganismos con características probióticas diferentes a *L. rhamnosus* ATCC 9595 y *B. breve* ATCC 15700, tesis de pre grado, artículos incompletos, artículos de años menores al 2010.

Variables

Variables dependientes. Efecto inhibitorio de *Bifidobacterium breve* sobre *L. acidophilus* determinado por un halo inhibitorio igual o mayor a 2mm.

Variables independientes. Concentraciones de las cepas microbianas.

Variables intervinientes. Temperatura, pH, tiempo de incubación, métodos de siembra de *L. acidophilus*

Materiales y métodos

El desarrollo de la investigación se realizó en el laboratorio de Ciencias Básicas de la universidad Antonio Nariño Sede Cúcuta, la investigación inicio con la adquisición de los insumos y elementos requeridos para ejecución del mismo, se utilizaron como probióticos las cepas certificadas de *L.*

rhamnosus ATCC® 53103™ y *Bifidobacterium* breve ATCC® 15700™. Como agente patógeno se evaluará *L. acidophilus* ATCC® 314

Inicialmente se procedió a preparar los medios de cultivo y de siembra, en este caso caldo de infusión cerebro corazón (BHI) y Mann Rogosa Sharpa (MRS), también se preparó un agar sólido de MRS, estos se prepararon suspendiendo 55.25 g de polvo en 1 litro de agua purificada según lo indica la casa fabricante, se dejó reposar durante cinco minutos, procediendo a calentar con agitación frecuente hasta alcanzar ebullición durante uno a dos minutos. Finalmente se depositó la solución en tubos de ensayo para el caso del caldo BHI 2ml, se esterilizaron en autoclave durante 15 minutos con presión de 15 libras y 121 grados centígrados. (Anexos F, G, H)

Los tres microorganismos *L. rhamnosus* ATCC® 53103™, *Bifidobacterium* breve ATCC® 15700™ y *L. acidophilus* ATCC® 314, fueron activados según recomendación de la casa comercial fabricante de la siguiente manera, se dejaron la bolsa del empaque de KWIK-STIK sin destapar a temperatura ambiente, propiciando por un equilibrio de temperatura interna con la temperatura ambiente. Se abrió la bolsa por la muesca indicada y se retiró la unidad KWIK-STIK. Se presionó una única vez, la parte superior de la ampolla que contenía el fluido hidratante dando ligeros golpes para que este bajara hacia la punta del hisopo donde se encontraba la cepa liofilizada, se dejó actuar durante unos minutos, asegurando tener el hisopo hidratado, se procedió a realizar la siembra en el caldo BHI respectivo y el adecuado descarte de los elementos sobrantes del proceso de activación de la cepa. (Anexo E)

Los dos probióticos se activaron nuevamente en condiciones de anaerobiosis, esta condición se obtuvo implementando una jarra con sobres de anaerobiosis (Anaerogen), utilizando

como medio de cultivo un caldo Mann Rogosa Sharpa (MRS) luego se realizó incubación a temperatura de 37°C durante 48 a 72 horas (Vanegas M, González L, Arévalo S. 2010).

El agente patógeno se activó usando caldo MRS, incubando a 37 °C en condiciones de anaerobiosis (Xuepeng Lv, Liu G, Sun X, Chen H, Sun J, feng Z. 2017).

En este paso de la investigación, se dispuso de tres tubos de ensayo, cada uno con un microorganismo activo, considerado concentración pura, posteriormente, se preparó un cuarto tubo con medio de cultivo líquido BHI, en el cual se agregó un ml del caldo con *L. rhamnosus* activo y un ml de caldo con *Bifidobacterium breve* activo, obteniendo así, la concentración pura de la mezcla de los dos probióticos a utilizar (cuadro 1) (Gamboa F. 2014).

Se procedió a realizar diluciones seriadas a partir de la concentración pura de cada microorganismo. Para esta actividad, se alistaron 7 tubos de ensayo por cada microorganismo activo en caldo nutritivo, 25 tubos en total. A cada tubo se le agrego 4,5 ml del caldo nutritivo; para los probióticos se utilizó caldo MRS y para el agente patógeno caldo de infusión cerebro corazón. Paso a seguir, del primer tubo donde se encontraba la solución inicial “cepa activa, concentración pura” se tomó 0,5 ml y se agregó a un nuevo recipiente con 4,5 ml de caldo nutritivo, se agito hasta homogenizar, este segundo frasco se rotulo dilución 10^{-1} . Este proceso se repitió hasta obtener dilución 10^{-7} se observó efecto inhibitorio. Este proceso se repitió con cada microorganismo (Tabla 1). (Castillo P, Betancur C, Pardo E. 2018) (Ramírez J, Parra V Adalucy A. Sf).

Tabla 1. Ilustración del proceso de dilución seriada con cada uno de los microorganismos

Microorganismo	Concentraciones/diluciones							
	Puro	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}	10^{-6}	10^{-7}
<i>L. rhamnosus</i>								
<i>Bifidobacterium breve</i>								
<i>L. rhamnosus</i> más <i>Bifidobacterium breve</i>								
<i>L. acidophilus</i>								

*Las imágenes y colores son simbólicas tabla 1.

Se procedió a preparar el agar solido de MRS en 30 cajas de Petri. Una vez fue realizado este procedimiento, existiendo las cajas de Petri con el agar MRS ya solidificado y conservado, se procedió a tomar y sembrar 1 ml de la dilución 10^{-1} de *L. rhamnosus* en una caja de Petri; a su vez, esta siembra se le realizo en un adicional de cuatro cajas de Petri, para un total de cinco cajas para *L. rhamnosus* obteniendo de la dilución 10^{-1} . Este proceso se repitió con las diluciones 10^{-2} hasta 10^{-7} de *L. rhamnosus* siendo estas diluciones los más estándares, obteniendo igualmente cinco cajas de Petri por cada dilución. Finalmente, este proceso se realizó idéntico a partir de la dilución 10^{-1} hasta 10^{-7} de *Bifidobacterium* y de *L. rhamnosus* unido con *Bifidobacterium* (Cuadro 2) (Castillo P, Betancur C, Pardo E. 2018) (Ramírez J, Parra V Adalucy A. Sf).

La siembra del microorganismo en el agar Mann Rogosa Sharpa, se realizó utilizando un Asa en L previa dispensación. El Asa fue deslizada en tres direcciones con un ángulo aproximado de 60°C hasta que quedo totalmente homogenizado. (Sánchez L, Peña J. 2016) En todos los casos, la incubación se realizó a 37°C durante 48 a 72 horas en condiciones de anaerobiosis. Se esperó observar formación de UFC de cada probiótico y la siembra de la mezcla de los dos probióticos evaluados (Fisher 2018).

Tabla 2. Ilustración del proceso de siembra del microorganismo en cajas de Petri

Microorganismo	diluciones		Cajas de Petri				
			Caja N° 1	Caja N° 2	Caja N° 3	Caja N° 4	Caja N° 5
<i>L. rhamnosus</i>	10 ⁻¹						
	10 ⁻²						
	10 ⁻³						
	10 ⁻⁴						
	10 ⁻⁵						
	10 ⁻⁶						
	10 ⁻⁷						
<i>Bifidobacterium</i>	10 ⁻¹						
	10 ⁻²						
	10 ⁻³						
	10 ⁻⁴						
	10 ⁻⁵						
	10 ⁻⁶						
	10 ⁻⁷						
<i>L. rhamnosus</i> más <i>Bifidobacterium</i>	10 ⁻¹						
	10 ⁻²						
	10 ⁻³						
	10 ⁻⁴						
	10 ⁻⁵						
	10 ⁻⁶						
	10 ⁻⁷						
<i>L. acidophilus</i>							

Las imágenes y colores son simbólicas

Se preparó un total de 1050 ml de agar infusión cerebro corazón BHI (25 ml por cada caja de Petri “son 105 cajas”), se agregó 0,01 ml del caldo en concentración 10⁻⁶ y/o 10⁻⁷ que contenía el microorganismo patógeno *L. acidophilus*, obteniendo así, un medio líquido con inoculación de *L. acidophilus*, posterior a observar formación de colonias visibles, se procedió a verter sobre cada

caja de Petri con formación de UFC de los probióticos, 25 ml del caldo líquido de infusión cerebro corazón que previamente se le agrego 0,01 ml del caldo nutritivo en concentración 10^{-6} y/o 10^{-7} que contenía el microorganismo patógeno *L. acidophilus*; se continuó con el proceso de colocar nuevamente estas cajas de Petri en incubación a 37°C por 48 a 72 horas en condiciones de anaerobiosis (Sánchez L, Peña J. 2016).

La acción inhibitoria de los probióticos evaluados (*Bifidobacterium breve*) sobre *L. acidophilus* se evaluó con base en la formación de un halo de inhibición (mm) alrededor de la colonia del probiótico. Este halo se observó como una zona transparente alrededor de la colonia; en esta investigación se consideró la condición de un efecto inhibitorio con la formación de un halo mayor a 2 mm basados en estudios anteriores que han implementado esta medida, como la más estandarizada para considerar un efecto inhibitorio (Vanegas M, González L, Martínez A, Arévalo S. 2016).

De forma simultánea con el vertimiento del agar nutritivo de infusión cerebro corazón con el microorganismo patógeno, se sembró en tres cajas de Petri con agar de infusión cerebro corazón un ml de caldo nutritivo que contenía *L. acidophilus*. Se realizó incubación a 37°C durante 48 a 72 horas en condiciones de anaerobiosis. Esto con la finalidad de tener un grupo control en el cual se realizó seguimiento del crecimiento del microorganismo (Castillo P, Betancur C, Pardo E. 2018).

La investigación se organizó bajo un modelo completamente al azar. La variable que se registró y se evaluó fue el halo de inhibición (mm) formado alrededor de cada colonia del probiótico, *Bifidobacterium*.

En el trabajo se incluye *Lactobacillus rhamnosus* ATCC® 53103TM ya que el estudio se realizó y se logró enfrentamiento de *Bifidobacterium breve* sobre *Lactobacillus acidophilus*. El paso que no se logró fue el enfrentamiento de *Lactobacillus rhamnosus* sobre *Lactobacillus acidophilus* por el ordenamiento del gobierno a confinamiento como respuesta al Covid-19.

Para la revisión sistemática de la literatura se seleccionó la muestra basado en una revisión de artículos científicos, empleando bases de datos como Pubmed, Scielo, Scopus, Science Direct y la base de datos de la universidad Antonio Nariño, realizando la búsqueda por medio de palabras como probióticos y caries dental (Probióticos orales que inhiben bacterias cariogénicas, *Lactobacillus acidophilus* y caries dental, *Lactobacillus rhamnosus* como probiótico, caries dental) la búsqueda se realizó entre Septiembre del año 2017 a Mayo del año 2020 la selección fue enfocada en buscar artículos indexados, en cualquier tipo de idioma y de cualquier país. Se seleccionaron 50 artículos.

Cada artículo tenía un enfoque específico:

- 18 artículos sobre probióticos orales
- 13 artículos sobre caries dental
- 12 sobre bacterias ácido génicas
- 1 catálogo de microbiología
- 1 artículo sobre metodología de investigación
- 5 artículos sobre materiales y métodos en experimentos *in vitro*

Posterior a esta selección se realizó la lectura correspondiente de los artículos y se identificó el efecto inhibitorio que tienen los probióticos *Lactobacillus rhamnosus*-*Bifidobacterium breve* sobre *Lactobacillus spp.*

Se agregó una tabla para organizar los artículos por autores, año de publicación y tema específico (Anexo A).

Análisis estadístico

Los 50 artículos de la revisión bibliográfica se describieron y se ordenaron en tablas en orden alfabético, con fecha de publicación y título de artículo científico y breve descripción.

Resultados

En la presente investigación se determinó que *Bifidobacterium breve* tuvo efecto inhibitorio sobre *Lactobacillus acidophilus*, mostrando un halo de inhibición promedio de 3.4 mm en la dilución 10^{-1} . La fase experimental no se pudo completar debido a la emergencia sanitaria producida por el covid-19 a nivel mundial lo cual imposibilitó la culminación de la fase experimental. Ver Tabla 3

Tabla 3. Valores de resistencia y sensibilidad de *Lactobacillus acidophilus* frente a *Bifidobacterium breve*

Probiótico	Dilución	Rep #1	Rep #2	Rep #3	Rep #4	Rep#5	Promedio
<i>Bifidobacterium breve</i>	10^{-1}	3(S)	3(S)	4(S)	3(S)	4(S)	3.4 mm
	10^{-2}	2(S)	2(S)	2(S)	2(S)	3(S)	2.2 mm
	10^{-3}	2(S)	2(S)	2(S)	2(S)	2(S)	2 mm
	10^{-4}	1(R)	2(S)	1(R)	1(R)	1(R)	1.2 mm

S: Cepa sensible con un halo ≥ 2 mm; R: Cepa resistente con un halo < 2 mm tabla 1.

Actividad inhibitoria de *Bifidobacterium breve* sobre *Lactobacillus spp*

Se realizó una revisión bibliográfica de 50 artículos científicos de diversos autores los cuales fueron ordenados alfabéticamente en una tabla. En 2 artículos con años de publicación 2012 – 2017, reportan que *L. rhamnosus* tiene efecto inhibitorio sobre *Lactobacillus spp*, con lo que se

logró determinar que si hay efecto inhibitorio de *Lactobacillus rhamnosus* sobre *Lactobacillus spp.* (Anexo A)

Tabla 4.

Efecto inhibitorio de *Lactobacillus rhamnosus* sobre *Lactobacillus spp.*

Resultados	Autores
Determinaron por medio de un estudio in vitro que cepas de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> tienen efecto inhibitorio sobre especies cariogénicas <i>Lactobacillus spp.</i>	Villavicencio J, Villegas L, Arango M, Arias S, Triana F (2017).
Comprobaron que <i>Lactobacillus rhamnosus</i> neutraliza el pH de <i>Lactobacillus spp</i> y aumenta la capacidad amortiguadora salival.	Domagoj Glavina, Kristina Goreta, Ilija krinjari, Dubravka Negoveti Vrani, Ketij Mehuli and Karlo Ko`ul (2012)

Villavicencio y col determinaron que cepas de *Lactobacillus rhamnosus* tienen efecto inhibitorio sobre especies cariogénicas tales como *Lactobacillus spp* y *S. mutans*. Se vio una disminución del recuento de *Lactobacillus spp* al observar placa y saliva en pacientes de 3-4 años. En el estudio realizado la muestra estuvo compuesta por niños de 3 a 4 años, estos participantes fueron incorporados de 5 centros de desarrollo en una zona de Cali, Colombia. Todos tenían el consentimiento informado para participar. Se realizó con niños saludables, sin desordenes sistémicos, sin intolerancia a la lactosa y tampoco bajo tratamiento antibiótico. El protocolo publicado tenía estipulado un estudio durante 12 meses, pero finalmente se modificó a un periodo alternativo de 9 meses, al cabo de los cuales, se observó que el recuento de UFC/mL de *S. mutans* estuvo más bajo en comparación con el grupo de control, sin embargo, las diferencias no lograron un cambio estadísticamente significativo, ($p=0.173$). Los resultados que mostraron diferencia

estadísticamente significativa entre grupo intervenido y el grupo control fueron los de *Lactobacillus spp* después de la intervención ($p=0.002$). Estos autores, también determinaron el efecto neutralizante que ejerce *L. rhamnosus* sobre el pH, al disminuir la acidogenicidad del medio creado por *S. mutans* y *Lactobacillus spp*.

Domagoj G y col en 2013 mediante un estudio determinaron que *L. rhamnosus* tiene efecto inhibitorio sobre *Lactobacillus spp* al neutralizar el pH disminuyendo el efecto acidogénico de *Lactobacillus spp* y aumentando la capacidad amortiguadora salival ayudando así a disminuir el recuento de *Lactobacillus spp* y *Streptococcus mutans*. En este estudio donde la muestra estuvo conformada por 25 pacientes de 6–10 años de edad que participaron voluntariamente, habiendo firmado por parte de sus padres o tutores el consentimiento informado, a los cuales les fue explicado el procedimiento, los beneficios y posibles riesgos de la investigación, pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión, completamente sanos al momento de realizar los procedimientos y que no estaban consumiendo ningún tipo de antibiótico ni probiótico. A cada paciente se le suministró 200g de yogurt (Bioaktiv LGG, Dukat, Croatia) diario, conteniendo *Lactobacillus rhamnosus* por un tiempo de 30 días, al cabo de los cuales se realizó un recuento de *S. Mutans*, *Lactobacillus spp*. y capacidad amortiguadora salival, utilizando un sistema CRT (Test de Riesgo de Caries marca registrada por IVOCLAR VIVADENT). Se determinó que hubo un aumento en la capacidad amortiguadora de la saliva, esto fue un cambio significativo que incremento a los 30 días del inicio del estudio, esta capacidad amortiguadora aumentó al 86% en comparación con el 64% que tenían al inicio. El recuento de *S. mutans* disminuyó de un 80% a 52%, en relación al recuento de *Lactobacillus spp*. Del cual se observó una disminución después de 14 días de consumo del yogurt de un 68% a un 48% (Domagoj G, Goretal K, Negoveti D, Ketij M, Ko`ul K 2012).

Acción de probióticos sobre cepas cariogénicas

Rebolledo M y col en estudios *in vitro* pudieron comprobar que cepas probióticas como *L. casei*, *L. rhamnosus* y *L. johnsonii* disminuyen la colonización de las principales bacterias productoras de caries dental, pueden ser utilizadas como apoyo en la prevención como: uso de fluoruros, promoción de higiene oral o cambios en el consumo de carbohidratos, proporcionando efectos favorables para la salud, especialmente en pacientes con alto riesgo de caries. Se realizó el estudio utilizando el método de difusión de agar estandarizado, de uso común en el laboratorio de microbiología. Método que se basa en la obtención de resultados cuantitativos obtenidos mediante la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI). Se utilizaron dos cepas probióticas que se obtuvieron de los productos Chamyto y Lactil de la marca Nestlé que contienen la cepa *Lactobacillus casei* variedad *rhamnosus* (LCR35), en una proporción de 10^8 UFC/ml, probiótico administrado por vía oral disuelto en agua y *Lactobacillus johnsonii* (LA1) en una proporción de 10^7 UFC/ml. En este estudio las dos cepas de bacterias contenidas en dos probióticos fueron analizadas en cuatro diluciones distintas. Los *S. mutans* que se ajustaron al patrón 0,5 Mcfarland, se inocularon en medio selectivo Agar mitis Salivarius que contenían los pocillos de siembra con las cepas probióticas *Lactobacillus casei* variedad *rhamnosus* (LCR35) y *Lactobacillus johnsonii* (LA1) en dilución 1 (directa), 1/10, 1/100 y 1/1000, resultando diferentes halos de inhibición en mm después de 24 h. Se demostró que *L. casei* variedad *rhamnosus* tenía mayor capacidad inhibitoria que *Lactobacillus johnsonii*, el valor de significancia entre ambos probióticos Lactil y Chamyto fue de $p=0,82$. (Rebolledo M et al. 2013).

Arezo T y col mediante experimentos *in vitro* determinaron que *Lactobacillus rhamnosus* como agente probiótico, tiene un efecto de interferencia contra patógenos cariogénicos a través de

varios mecanismos, como la reducción de biofilm y acidogenicidad. Está claro que *Lactobacillus rhamnosus* inhibe la formación de biofilm y bacterias orales, los mecanismos que utiliza *Lactobacillus rhamnosus* no están tan claros, sin embargo, uno de los mecanismos es su producción de biosurfactante. En el estudio *in vitro* la cepa # 22 *S. mutans* fue previamente aislada de la placa dental en el laboratorio y seleccionada entre 40 aislados debido a su mayor capacidad de formación de biopelículas y *S. mutans* ATCC 35668 se utilizó también en el estudio. Las cepas se cultivaron en agar *mitis salivarius* y agar sangre e incubadas a 37°C en una atmósfera enriquecida con CO₂. *Lactobacillus rhamnosus* ATCC 7469 se usó como probiótico en caldo MRS. Las gotas de biosurfactante resultaron en una gota colapsada, lo que indica el efecto biosurfactante en la reducción de la tensión superficial. La composición molecular del biosurfactante derivado de *L. rhamnosus* se analizó utilizando espectroscopia infrarroja de transformación de Fourier (FTIR). Al culminar el estudio se determinó que *L. rhamnosus* tiene efecto inhibitorio por medio de un mecanismo de producción biosurfactante (Arezo T et al 2019).

Hajikand T y col realizaron experimentos donde encontraron que la mayoría de las bacterias probióticas pertenecen a los géneros *Lactobacillus* o *Bifidobacterium* y estas bacterias se añaden comúnmente a las bebidas probióticas o productos de yogur. Estudios recientes han demostrado que los probióticos juegan un papel positivo en la salud oral, y pueden afectar la microecología oral mediante el cambio de la composición de proteína de la placa dental. Esto ha estimulado la investigación para estudiar el efecto anti-caries de los probióticos (Hajikand T et al 2015).

Hajikand T y col en un estudio *in vitro* determinaron que sustancias antibacterianas producidas por probióticos *Lactobacilos*, pueden inhibir el crecimiento microbiano mediante la

reducción del pH, que puede inhibir la síntesis de ADN bacteriano y a su vez destruir las membranas celulares bacterianas de las bacterias cariogénicas. Es posible que las sustancias antibacterianas en los probióticos puedan ser principalmente bacteriocinas o proteínas similares a bacteriocinas. La investigación empleó un diseño aleatorizado. El grupo de estudio consistió de 138 niños sanos de 2-3 años que fueron reclutados consecutivamente después de firmar el consentimiento informado por parte de los padres. Los padres del grupo de prueba fueron instruidos en dar a su hijo una tableta de masticación por día que contiene tres cepas de bacterias probióticas vivas (ProBiora3®) y el grupo placebo consiguió tabletas idénticas sin bacterias. La duración fue de un año y la prevalencia y el incremento de las lesiones iniciales de caries se examinaron al inicio y al final del estudio. A todos los padres se les instruyó que cepillaran los dientes de sus hijos dos veces al día con pasta de dientes con flúor. Al finalizar el estudio alrededor de 2/3 de los niños cumplieron con las instrucciones lo cual fue aceptable. El índice de caries fue significativamente menor en el grupo de prueba en comparación con el grupo placebo, 0,2 frente a 0,8 ($p < 0,05$). La reducción del riesgo fue de 0,47 (IC del 95% 0,24–0,98). No se mostraron diferencias entre los grupos con respecto a la presencia de placa visible o sangrado en el cepillado y no se notificaron efectos secundarios (Hajikand T et al. 2015).

Torrez y col lograron determinar que *Lactobacillus* tiene un rol protector basado en la producción de diferentes tipos de bacteriocinas, sustancias proteínicas con diferentes mecanismos de acción inhibitoria contra *Streptococcus mutans*. Se sabe que *Lactobacillus spp.* pertenece a la microbiota oral y su capacidad de producir bacteriocinas es alta y exhibe una capacidad adhesiva significativa, también puede reducir la cantidad de *Streptococcus mutans* de la superficie del diente cubierta por saliva. El objetivo de este trabajo fue identificar alguna especie del género

Lactobacillus productor de sustancias inhibitorias contra *Streptococcus mutans* en saliva de niños. Se aislaron diferentes cepas de *Lactobacillus* de saliva de 60 niños con caries y sin caries activa (rehabilitados) y libres de caries, a las cuales se les estudió su capacidad antagónica contra cepas de *Streptococcus mutans*, mediante ensayos en doble capa, test del pocillo y sobre crecimiento bacteriano. Las cepas que elaboran sustancias con mayor capacidad antagónica fueron identificadas como *Lactobacillus fermentum* mediante el sistema Api test 50 CH. Se demostró que *Lactobacillus fermentum* está presente en mayor porcentaje en el grupo de niños sin caries, lo cual podría sugerir un efecto natural de control biológico en la cavidad oral de este grupo de niños.

Los objetivos planteados para este trabajo se resumen en determinar la actividad inhibitoria de probiótico *Bifidobacterium breve* sobre *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus rhamnosus* sobre *Lactobacillus spp* y probióticos sobre cepas cariogénicas teniendo en cuenta que éste último, juega un papel muy importante en la producción de caries.

Discusión

La presente investigación consistió en determinar la acción inhibitoria del probiótico *Bifidobacterium breve* sobre *Lactobacillus acidophilus* y mediante revisión de la literatura determinar el efecto inhibitorio de *Lactobacillus rhamnosus* sobre *Lactobacillus spp.*

Villavicencio y col demostraron por medio de estudios clínicos recientes que cepas de *Lactobacillus rhamnosus* tienen efecto inhibitorio sobre *Streptococcus mutans* y especies cariogénicas *Lactobacillus*. Se ha visto una disminución muy alta al observar placa y saliva luego de su efectiva aplicación. En un estudio se demostró un efecto disminución de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus spp* como componente primario y secundario la disminución de caries dental (Villavicencio J et al. 2017). Comparado con el presente estudio, donde se logró determinar que *Lactobacillus rhamnosus* tiene efecto inhibitorio sobre *Lactobacillus spp.* por medio de una revisión bibliográfica.

Es demostrado que cepas de *Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium spp* tienen efecto inhibitorio sobre *Streptococcus mutans* y especies cariogénicas de *Lactobacillus*. Se ha visto una disminución muy alta al observar placa y saliva luego de su efectiva aplicación. En un estudio se demostró un efecto disminución de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus spp* como componente primario y secundario la disminución de caries dental (Villavicencio J et al. 2017). En el presente estudio se determinó que *B. breve* tiene efecto inhibitorio sobre *Lactobacillus acidophilus* y mediante revisión bibliográfica, que *L. rhamnosus* tiene efecto inhibitorio sobre bacterias cariogénicas como *S. mutans* y *Lactobacillus spp.*

Domagoj G y col determinaron que *Lactobacillus rhamnosus* no tiene efecto significativo sobre *Lactobacillus spp*, sin embargo, este probiótico si se aplica genera neutralización del pH disminuyendo el efecto acidogénico de *Lactobacillus spp* y aumenta la capacidad amortiguadora salival ayudando así a disminuir el recuento de *Lactobacillus spp* y *Streptococcus mutans*. (Domagoj G, Goretal K, Negoveti D, Ketij M, Ko`ul K 2012). Teniendo en cuenta lo reportado por diferentes autores, en contraposición a Domagoj y colaboradores, se determinó a través de revisión de la literatura que *Lactobacillus rhamnosus* tiene efecto inhibitorio sobre las principales bacterias cariogénicas entre esas *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus spp*. mediante reducción del pH lo cual inhibe la acidogenicidad de bacterias cariogénicas.

Rebolledo M y col determinaron que los probioticos al ser administrados en cantidades suficientes promueven efectos fisiológicos beneficiosos sobre el huésped y actúan a través de una variedad de mecanismos, como la competencia con los posibles agentes patógenos, degradación de toxinas, producción de sustancias antimicrobianas e inmunomoduladores locales y sistémicos. (Rebolledo M et al. 2013). Para Rebolledo y col existe efecto inhibitorio a través de mecanismos como los que estos autores mencionan, sin embargo, se requieren más estudios para determinar específicamente sobre que bacterias cariogénicas tienen esos efectos, estudios que, a través de la revisión bibliográfica, mostraron que específicamente, *L. rhamnosus* y *B. breve*, inhiben crecimiento de microorganismos cariogénicos.

Arezo y col demostraron que *Lactobacillus* como agente probiótico, tiene un efecto de interferencia contra patógenos a través de varios mecanismos, como a través de la reducción de biofilm y acidogenicidad después del consumo de estos probióticos. Está claro que *Lactobacillus*

spp inhiben la formación de biofilm y bacterias orales, los mecanismos que utilizan estos *Lactobacillus* no están tan claros. Sin embargo, uno de los mecanismos es su producción de biosurfactante. Determinaron que *Lactobacillus rhamnosus* tiene un efecto biosurfactante sobre la formación de biofilm (Arezoo T et al 2019). Para Arezoo y col la producción de biosurfactantes inhibe la adhesión de biofilm en cavidad oral, elemento indispensable para iniciar la colonización de microorganismos con capacidad cariogénica, como *S. mutans* y *Lactobacillus spp*.

Hajikand y col demostraron que cinco cepas de *Lactobacillus* probióticos fueron capaces de inhibir la formación y crecimiento de biofilm, probablemente mediante la producción de un medio ácido, los polipéptidos similares a bacteriocina o ambos (Hajikand T et al. 2015). El estudio realizado por Hajikand y col está en correspondencia con los resultados descritos por otros autores que comprueban que probióticos *Lactobacillus* tienen efecto inhibitorio sobre bacterias cariogénicas a través de diferentes mecanismos como la producción de bacteriocinas.

Torrez y col lograron determinar que *Lactobacillus* tiene un rol protector basado en la producción de diferentes tipos de bacteriocinas, sustancias proteínicas con diferentes mecanismos de acción inhibitoria contra *Streptococcus mutans*. Se sabe que *Lactobacillus spp*. Pertenece a la microbiota oral y su capacidad de producir bacteriocinas es alta y exhibe una capacidad adhesiva significativa, también pueden reducir la cantidad de *Streptococcus mutans* de la superficie del diente cubierta por saliva. El estudio realizado por Torrez y col está en correspondencia con los resultados descritos por otros autores que comprueban que probióticos *Lactobacillus* tienen efecto inhibitorio sobre bacterias cariogénicas a través de mecanismos tales como la producción de bacteriocinas y la disminución de la capacidad adhesiva de estos microorganismos.

Igualmente a través de diversos estudios se ha comprobado el beneficio que conlleva para la salud en otros varios aspectos generales, el consumo de probióticos, sin embargo, con respecto a sus efectos en la salud oral y la lucha contra la caries, a partir de experiencias y conocimientos obtenidos, la ciencia ha intentado desarrollar probióticos, entre los que se encuentran los probióticos, *Lactobacillus spp* y *Bifidobacterium spp* cuya finalidad es el control selectivo de los agentes etiológicos de la caries y el mantenimiento de la homeostasis oral.

El uso de probióticos en las ciencias de salud es aceptado a nivel mundial por gobiernos e instituciones serias, como la Organización mundial de la salud (OMS) y la Organización de alimentos y agricultura (FAO), y se resume en el uso de “microorganismos vivos, principalmente bacterias, que son seguros para el consumo humano, y cuando son ingeridos en suficiente cantidad, tienen efectos benéficos en la salud humana.

Conclusiones

Se determinó que existe un efecto inhibitorio de *Bifidobacterium breve* sobre *Lactobacillus acidophilus* esto se pudo determinar mediante el halo de inhibición formado alrededor del probiótico que dio un promedio de 3.4 mm de la dilución 10^{-1} al realizar la confrontación.

Mediante la revisión de la literatura se determinó que, a través de diferentes mecanismos como la producción de bacteriocinas, reducción del pH, liberación de biosurfactantes existe efecto inhibitorio de *Lactobacillus rhamnosus* sobre *Lactobacillus spp.*

Los autores anteriormente mencionados respaldan con sus estudios, que el consumo de probióticos tiene efectos positivos como el aumento de la capacidad amortiguadora salival, que disminuye el recuento de bacterias cariogénicas en cavidad oral.

La diversidad microbiana existente de la cavidad oral es muy amplia y diversas técnicas probióticas se han desarrollado con el objetivo de inhibir el crecimiento bacteriano de bacterias patógenas que crean enfermedad como la caries dental. Gracias a este estudio se ha demostrado que existen diversas técnicas probióticas que podrían beneficiar al ser humano. Se ha demostrado que *Bifidobacterium breve* tiene gran potencial inhibitorio sobre *Lactobacillus acidophilus*. Se puede determinar con revisión bibliográfica que *Lactobacillus rhamnosus* tiene efecto inhibitorio sobre *Lactobacillus spp.*

Recomendaciones

El presente estudio conlleva una responsabilidad especial que implica el uso a futuro de probióticos como tratamiento de alta eficacia en la prevención de la caries; ya que en algunos países como Colombia no existen productos desarrollados específicamente para el control de esta enfermedad.

Se recomienda continuar con la línea de investigación y determinar el efecto inhibitorio de *Lactobacillus rhamnosus* sobre *Lactobacillus acidophilus* ya que la fase experimental no se pudo completar debido a la emergencia sanitaria producida por el covid-19 a nivel mundial.

En un futuro se recomienda utilizar probióticos *Lactobacillus rhamnosus* y *Bifidobacterium breve* en bebidas o cremas dentales.

Referencias

- Allaker R, Abish S. (2017). Use of Probiotics and oral health. Londres. Inglaterra: *Instituto de odontología*, (4), 309–318.
- Angarita M. (2016). Probióticas y su relación con el control de caries. Villavicencio. Colombia: *Facultad de odontología*, 28(1), 179-202.
- Arezo T, Rooha Kasra K, Rasool S. (2019). *Lactobacillus rhamnosus* biosurfactant inhibits biofilm formation and gene expression of caries-inducing *Streptococcus mutans*. *Dental research journal*. J, (16), 87-94.
- Castañeda C. (2018). Probióticos, puesto al día. Revista Cubana de Pediatría. Cuba: *Revista Cubana Pediátrica*. 90(2), 286 – 298.
- Castillo P, Betancur C, Pardo E. (2018). Caracterización de microorganismos con potencial probiótica aislados de estiércol de terneros Brahman en Sucre. Colombia: *Revista investigativa de Perú*. 29(2), 438-448.
- Cerón X (2015), El sistema ICDAS como método complementario para el diagnóstico de caries dental. *Revista CES Odontología*. 28(2). 100-109.
- Cayo C, Quijandria L, Ramos J. (2016). Evaluación *in vitro* del efecto antibacteriano del Propóleo sobre cultivos de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). Perú: *Ciencia y Desarrollo*. 19(2), 19-24.

Craig J. (2019). Exploiting the Oral Microbiome to Prevent Tooth Decay: Has Evolution already provided the best tools? CA, United States: *Frontiers in Microbiology*. (9), 1-5.

Díaz M. (2016). Probióticos y su relación con el control de caries. Antioquia. Colombia: *Revista facultad de odontología Universidad Antioquia*. (28), 179-197.

Domagoj G, Goreta K, Negoveti D, Mehuli, Ko`ul K (2013). Effect of LGG Yoghurt on *Streptococcus Mutans* and *Lactobacillus Spp*. Salivary Counts in Children. *Revista Collegium Antropologicum*. 36 (1). 129–132

Ferreira I, Urrutia G, CoelloP. 2011. Revisiones sistemáticas y meta análisis bases conceptuales e interpretación. *Revista española de cardiología*. 64(8), 688-696.

Fierro Monti C, Saldías C, Climent F, Figueroa F. (2017). Rol de los probióticos como bacterioterapia en odontología. Chile: *Odontoestomatología*. (30), 1-11.

Figueroa-Gordon M, Alonso, Guillermina, Acevedo AM. (2009). Microorganismos presentes en las diferentes etapas de la progresión de la lesión de caries dental. *Acta odontológica venezolana*. 47(1). 1-14.

Fisher. (2018). Catálogo de productos para microbiología. Madrid. España: *thermofisher*. (4),1-90.

Gagandeep Kaur Sidhu, Somasundar Mantha, Surekha Murthi, Himagiri Sura, Pravallika Kadaru, Jogender Kumar Jangra. (2015). Evaluation of *Lactobacillus* and *Streptococcus mutans* by Addition of Probiotics in the form of Curd in the Diet. Australia: *Journal of International Oral Health*. 7(7), 85-89

Gamboa F. (2014). Identificación y caracterización microbiológica, fenotípica y genotípica del *Streptococcus mutans*. Bogotá. Colombia: *Pontificia Universidad javeriana*. 33(71), 65-73.

Giacaman R, Muñoz-S, Bravo G, Farfán C. (2014). Cuantificación de bacterias relacionadas con la caries dental en saliva de adultos y adultos mayores. Talca. Chile: *Clínica de Periodoncia Implantología Rehabilitación*. 6(2), 71-74.

González S, Pedroso L, Rivero M, Reyes V (2018). Epidemiología de la caries dental en la población venezolana menor de 19 años. *Revista de ciencias La Habana*. 14(1), 42-46.

Hajikand T, Lundberg U, Eldh C, Twetman S. (2015). Effect of probiotic chewing tablets on early childhood caries – a randomized controlled trial. Japan: *BMC Oral Health*. 15(112), 1-5.

Jiménez R, Castañeda M, Corona C. Estrada G y Quinzán A. (2016). Factores de riesgo de caries dental en escolares de 5-11. Santiago, Cuba: *MEDISAN*. 20(5), 604-609.

- Jyumpei K, Yukimoto J, Shimizu Y, Ohmori T, Suzuki H, Doi K and Ohshima T. (2015). Characterization of *Lactobacillus salivarius* alanine racemase: short-chain carboxylate-activation and the role of A131. Japan: *Microbial genetics division*. 4(639), 1-8.
- Kshirsagar M, Dodamani A, Karibasappa G, Vishwakarma P, Vathar J, Sonawane K, Jadhav H, Khobragade V. (2019). Antibacterial activity of garlic extract on cariogenic bacteria: An *in vitro* study. *Nigeria: Microbiology research journal international*. (39), 165-168.
- Kyrill S, Ueffing H, Dalpke A, Wolff B, Frese C, Wolff D, Boutin S. (2019) Bacterial biofilm composition in healthy subjects with and without caries experience. *Journal of oral Microbiology*. (11), 1-9.
- Le Roy C, Stsepetova J, Songisepp, Sandrine P. Claus and Mikelsaar M. (2015). New insights into the impact of *Lactobacillus* population on host-bacteria metabolic interplay. Reino Unido: *Impact Journals*. 6(31), 30545-30546.
- Lee A, Lee Y, Yoo H, Kim M, Chang Y, Lee D, Lee J. (2017). Consumption of dairy yogurt containing *Lactobacillus paracasei* ssp. *Paracasei*, *Bifidobacterium animalis* ssp *Lactis* and heat-treated *Lactobacillus plantarum* improves immune function including Natural killer cell activity. Korea: *Nutrients*. 9 (558), 1-9.

- Lin X, Xi Chen, Ma Y, Sa W, Chen H. (2017). Efecto del probiótico *Lactobacillus* sobre el crecimiento de *Streptococcus mutans* Las biopelículas y especies múltiples aislamientos en niños con caries activas. Japan: *Medical Science Monitor*. 19 (30), 1-11.
- May-Lei M, Chun-Hung C, Kan-Hung L, Ching-Ming C, Chin-Man E (2013). Caries arresting effect of silver diamine fluoride on dentine carious lesion with *S. mutans* and *Lactobacillus acidophilus* dual-species cariogenic biofilm. *Medicina Oral Patología y Oral Cirugía Bucal*. 18(6), 24-31.
- Martínez M, Morales S, Martínez C. (2013). Caries dental en adultos jóvenes en relación con características microbiológicas y fisicoquímicas de la saliva. Medellín. Colombia: *Revista Salud pública*. 15 (6), 867-877.
- Monserrat C, Cortez O. (2014). La caries dental una enfermedad que se puede prevenir. *Anales de Pediatría Continuada*. 12(3).147-151.
- Páez Y, Tamayo B, Peña Y, Bárbara Y, Sánchez M. (2017). Intervención educativa sobre caries dental en escolares de sexto grado. Cuba: *Correo Científico Médico de Holguín*. (4), 1014-1022.
- Ramírez J, Parra V, Adalucy A. (Sf). Análisis de técnicas de recuento de Microorganismos. *Universidad Libre Pereira*. (1), 1-8.

Rebolledo M, Rojas E, Salgado F. (2013). Efecto de dos probióticos que contienen cepas de *Lactobacillus casei* variedad *ramnosus* y *Lactobacillus johnsonii* sobre el crecimiento *in Vitro* de *Streptococcus mutans*. *International Journal of Odontostomatology*. 7(3), 415-419.

Robert P. Allaker 1 & Abish S. Stephen1. (2017). Use of Probiotics and Oral Health. London. United Kingdom: *Cross Mark*. (4), 309–318.

Rodríguez S, Ramos I, Villalón M, Suárez V. (2014). Epidemiología de la caries dental. La Habana. Cuba: *Ciencias Médicas Cuba*. (2), 1-20.

Rojas Pareda M, Vera González F. (2014). Comportamiento del tabaquismo y la deficiente higiene bucal como factores de riesgo de la caries dental. Cuba: *Ciencias Médicas de Holguín*. 18 (4), 623-632.

Sandra Teresa López Parrilla Estelí, Septiembre (2015). Técnicas de investigación documental. Farem Esteli. 1-7.

Sánchez L, Peña J. (2016). Actividad antimicrobiana de cepas de *Lactobacillus spp.* Contra patógenos causantes de mastitis bovina. *Cuba. Salud Administrativa*. 38(2), 85-92.

Scoilew K, Ueffing H, Dalpke A, Wolff B, Frese C, Wolff D, Boutin S. (2019). Bacterial biofilm composition in healthy subjects with and without caries experience. Germany: *Journal of oral microbiology*. (11), 1-9.

Singh V, Sharma J, Babu S, Rizwanulla, Singla A. (2013). Role of probiotics in health and disease: A review. Nepal: *Koirala institute of health sciences*. (63), 253-257.

Sunil D. Saroj†, Lisa Maudsdotter†, Raquel Tavares and Ann-Beth Jonsson. (2016). Lactobacilli Interfere with *Streptococcus pyogenes* Hemolytic Activity and Adherence to Host Epithelial Cells. United States: *Frontiers in Microbiology*. (7), 1-8.

Teanpaisan R, Piwat S, Dahlen. (2011). Inhibitory effect of oral *Lactobacillus* against oral pathogens. *Letters in applied microbiology*. (53), 452-459.

Torrez W, Zulema Susy Bueno Bravo (2020). Inhibición de *Streptococcus mutans* aislado de cavidad oral de niños sin caries mediante sustancia antagónica producida por *Lactobacillus spp.* *Revista de odontopediatría Latinoamericana*. 10(1). 13-23.

Vandenplas Y, Huys G, Daube G. (2015). Probiotics: an update. Brasil: *The Journal of Pediatrics*. (91), 1-16.

Vanegas M, González L, Arévalo S. (2010). Capacidad bactericida de *Bifidobacterium spp.* aislada de leche materna y de heces de neonatos, frente a los principales causantes de enfermedades transmitidas por alimentos. Bogotá. Colombia: *Departamento de ciencias biológicas universidad los Andes*. 14 (14), 241-247.

Vanegas M, González L, Martínez A, Vivas M, Arévalo S. (2012). Acción bactericida de bacterias acidolácticas contra *Listeria Monocytogenes* Serotipo 4b. Bogotá. Colombia: *Revista Alimentos*. 21 (25), 90-98.

Villavicencio J, Villegas L, Arango M, Arias S, Triana F. (2017). Effects of a food enriched with probiotics on *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus spp.* Salivary counts in preschool children: a cluster-randomized trial. Cali. Colombia: *Journal of applied oral science*. (26), 1-9.

Xuepeng Lv, Liu G, Sun X, Chen H, Sun J, Feng Z. (2017). Short Communication: Nutrient consumption patterns of *Lactobacillus acidophilus* KLDS 1.0738 in controlled pH batch fermentations. *United States. American Dairy Science Association*. (100), 5188-5194.

- Zafer R, Ashour H. (2018). Probiotic *Lactobacillus* sp. inhibit growth, biofilm formation and gene expression of caries-inducing *Streptococcus mutans*. United States: *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 22(3), 1972-1983.
- Zalba Elizari JI, Flichy Fernandez AJ. (2013). Empleo de Probioticos en Odontología. *Nutrición Hospitalaria*. (28), 49-50.
- Ze Zhang T. Wen, Liao S, Bitoun J, Jorgensen A, Feng S, Xu X, Chain P, Page W. Caufield, Koo, Li Y. (2017). *Streptococcus mutans* Displays Altered Stress Responses While Enhancing Biofilm Formation by *Lactobacillus casei* in Mixed-Species Consortium. United States: *Frontiers*. 7(524), 1-12.

Anexo A.

AUTORES	AÑO DE PUBLICACION	TEMA
Allaker R, Abish S.	2017	Use of Probióticas and oral health: Determino estrategias con potencial para el control de la caries dental.
Angarita M.	2016	Probióticos y su relación con el control de caries: Encontró <i>Lactobacillus</i> acidogénicos y ácido tolerantes en lesiones cariosas y hablo sobre efectos probióticos.
Arezo T, Rooha Kasra K, Rasool S	2019	<i>Lactobacillus rhamnosus</i> biosurfactant inhibits biofilm formation and gene expression of caries-inducing <i>Streptococcus mutans</i> : Determino que <i>Lactobacillus rhamnosus</i> como agente probiótico, tiene un efecto de interferencia contra patógenos causantes de caries.
Castañeda C	2018	Probióticos, puesto al día: Encontró <i>Lactobacillus</i> usados como probióticos.
Castillo P, Betancur C, Pardo E	2018	Caracterización de microorganismos con potencial probiótica aislados de estiércol de terneros Brahman en Sucre: Realizo un experimento <i>in vitro</i> similar al presente estudio.
Cerón X	2015	El sistema ICDAS como método complementario para el diagnóstico de caries: Menciono las lesiones cariosas y sus características.
Cayo C, Quijandria L, Ramos J	2016	Evaluación <i>in vitro</i> del efecto antibacteriano del Propóleo sobre cultivos de <i>Streptococcus mutans</i> (ATCC 25175): Hablo de probióticos y sus beneficios.
Craig J	2019	Exploiting the Oral Microbiome to Prevent Tooth Decay: Has Evolution already provided the best tools? Halo de la caries dental y su efecto en el mundo.
Díaz M	2016	Probióticos y su relación con el control de caries
Domagoj G, Goreta K, Negoveti D, Mehuli, Ko`ul K	2013	Effect of LGG Yoghurt on <i>Streptococcus Mutans</i> and <i>Lactobacillus Spp.</i> Salivary Counts in Children: Determinaron efecto inhibitorio de <i>L. rhamnosus</i> sobre <i>Lactobacill</i>

Ferreira I, Urrutia G, Coello P	2011	Revisiones sistemáticas y meta análisis bases conceptuales e interpretación.
Fierro Monti C, Saldías C, Climent F, Figueroa F	2017	Rol de los probióticos como bacterioterapia en odontología. Chile: <i>Odontoestomatologia</i>
Figueroa-Gordon M, Alonso, Guillermina, Acevedo AM	2009	Microorganismos presentes en las diferentes etapas de la progresión de la lesión de caries dental: Encontró <i>Lactobacillus</i> en lesiones cariosas.
Fisher	2018	Catálogo de productos para microbiología
Gagandeep Kaur Sidhu, Somasundar Mantha, Surekha Murthi, Himagiri Sura, Pravallika Kadaru, Jogender Kumar Jangr	2015	Evaluation of <i>Lactobacillus</i> and <i>Streptococcus mutans</i> by Addition of Probiotics in the form of Curd in the Diet: Studio <i>Lactobacillus</i> y <i>Streptococcus mutans</i> y effect cariogénico.
Gamboa F	2014	Identificación y caracterización microbiológica, fenotípica y genotípica del <i>Streptococcus mutans</i>
Giacaman R, Muñoz-S, Bravo G, Farfán C	2014	Cuantificación de bacterias relacionadas con la caries dental en saliva de adultos y adultos mayores: Encontró <i>Lactobacillus</i> en lesiones cariosas.
González S, Pedroso L, Rivero M, Reyes V	2018	Epidemiología de la caries dental en la población venezolana menor de 19 años: Estudio la etiología de la caries.
Hajikand T, Lundberg U, Eldh C, Twetman S	2015	Effect of probiotic chewing tablets on early childhood caries – a randomized controlled trial: Describio efecto probiótico de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> .
Jiménez R, Castañeda M, Corona C. Estrada G y Quinzán A	2016	Factores de riesgo de caries dental en escolares de 5-1: Determino causas de la caries.
Jyumpei K, Yukimoto J, Shimizu Y, Ohmori T, Suzuki H, Doi K and Ohshima T	2015	Characterization of <i>Lactobacillus salivarius</i> alanine racemase: short-chain carboxylate- activation and the role of A131: Describió <i>Lactobacillus</i> como probiótico.
Kshirsagar M, Dodamani A, Karibasappa G, Vishwakarma P, Vathar J, Sonawane K, Jadhav H, Khobragade V	2019	Antibacterial activity of garlic extract on cariogenic bacteria: An <i>in vitro</i> study

Kyrill S, Ueffing H, Dalpke A, Wolff B, Frese C, Wolff D, Boutin S	2019	Bacterial biofilm composition in healthy subjects with and without caries experience: Describió las bacterias presentes en la caries dental.
Le Roy C, Stsepetova J, Songisepp, Sandrine P. Claus and Mikelsaar M	2015	New insights into the impact of <i>Lactobacillus</i> population on host-bacteria metabolic interplay
Lee A, Lee Y, Yoo H, Kim M, Chang Y, Lee D, Lee J.	2017	Consumption of dairy yogurt containing <i>Lactobacillus paracasei</i> ssp. <i>Paracasei</i> , <i>Bifidobacterium animalis</i> ssp <i>Lactis</i> and heat-treated <i>Lactobacillus plantarum</i> improves immune function including Natural killer cell activity: Describió beneficios de <i>Lactobacillus</i> como probiótico.
Lin X, Xi Chen, Ma Y, Sa W, Chen H.	2017	Efecto del probiótico <i>Lactobacillus</i> sobre el crecimiento de <i>Streptococcus mutans</i> Las biopelículas y especies múltiples aislamientos en niños con caries activas: Describió efecto inhibitorio de <i>Lactobacillus</i> como probiótico sobre <i>Streptococcus mutans</i> .
May-Lei M, Chun-Hung C, Kan-Hung L, Ching-Ming C, Chin-Man E	2013	Caries arresting effect of silver diamine fluoride on dentine carious lesion with <i>S. mutans</i> and <i>Lactobacillus acidophilus</i> dual-species cariogenic biofilm: Determino que <i>Lactobacillus</i> y <i>Streptococcus mutans</i> son las bacterias mas involucradas en la caries dental.
Martínez M, Morales S, Martínez C	2013	Caries dental en adultos jóvenes en relación con características microbiológicas y fisicoquímicas de la saliva: Describió la microbiología de la caries dental.
Montserrat C, Cortez O	2014	La caries dental una enfermedad que se puede prevenir: Describió los métodos de prevención ante la caries dental.
Páez Y, Tamayo B, Peña Y, Bárbara Y, Sánchez M	2017	Intervención educativa sobre caries dental en escolares de sexto grado: Describió métodos de intervención ante la caries dental.
Rebolledo M, Rojas E, Salgado F	2013	Efecto de dos probioticos que contienen cepas de <i>Lactobacillus casei</i> variedad <i>rhamnosus</i> y <i>Lactobacillus johnsonii</i> sobre el crecimiento <i>in Vitro</i> de <i>Streptococcus mutans</i> : Describió el efecto probiótico de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> .
Robert P. Allaker 1 & Abish S. Stephen1	2017	Use of Probiotics and Oral Health

Rodríguez S, Ramos I, Villalón M, Suárez V	2014	Epidemiología de la caries dental
Ramírez J, Parra V Adalucy A	Sf	Análisis de técnicas de recuento de Microorganismos
Sánchez L, Peña J.	2016	Actividad antimicrobiana de cepas de <i>Lactobacillus spp.</i> Contra patógenos.
Scoilew K, Ueffing H, Dalpke A, Wolff B, Frese C, Wolff D, Boutin S	2019	Bacterial biofilm composition in healthy subjects with and without caries experience: Comparo la flora de un huésped con y sin caries.
Singh V, Sharma J, Babu S, Rizwanulla, Singla A	2013	Role of probiotics in health and disease: A review: Hablo de la importancia de los probióticos.
Sunil D. Saroj†, Lisa Maudsdotter†, Raquel Tavares and Ann-Beth Jonsson	2016	<i>Lactobacilli</i> Interfere with <i>Streptococcus pyogenes</i> Hemolytic Activity and Adherence to Host Epithelial Cells: Hablo de cepas probióticas de <i>Lactobacillus</i> .
Torrez W, Zulema Susy Bueno Bravo	2020	Inhibición de <i>Streptococcus mutans</i> aislado de cavidad oral de niños sin caries mediante sustancia antagónica producida por <i>Lactobacillus spp</i> : determinaron que <i>Lactobacillus</i> tiene efecto inhibitorio sobre <i>Streptococcus mutans</i>
Vandenplas Y, Huys G, Daube G	2015	Probiotics: an update
Vanegas M, González L, Arévalo S	2010	Capacidad bactericida de <i>Bifidobacterium Sp</i> aislada de leche materna y de heces de neonatos, frente a los principales causantes de enfermedades transmitidas
Vanegas M, González L, Martínez A, Vivas M, Arévalo S	2012	Acción bactericida de bacterias acidolácticas contra <i>Listeria Monocytogenes</i> Serotipo 4b
Villavicencio J, Villegas L, Arango M, Arias S, Triana F	2017	Effects of a food enriched with probiotics on <i>Streptococcus mutans</i> and <i>Lactobacillus spp.</i> Salivary counts in preschool children: a cluster-randomized trial
Xuepeng Lv, Liu G, Sun X, Chen H, Sun J, Feng Z.	2017	Short Communication: Nutrient consumption patterns of <i>Lactobacillus acidophilus</i> KLDS 1.0738 in controlled pH batch fermentations

Zafar R, Ashour H	2018	Probiotic <i>Lactobacillus</i> sp. inhibit growth, biofilm formation and gene expression of caries-inducing <i>Streptococcus mutans</i>
Zalba Elizari JI, Flichy Fernández AJ	2013	Empleo de Probioticos en Odontología
Ze Zhang T. Wen, Liao S, Bitoun J, Jorgensen A, Feng S, Xu X, Chain P, Page W. Caufield, Koo, Li Y	2017	<i>Streptococcus mutans</i> Displays Altered Stress Responses While Enhancing Biofilm Formation by <i>Lactobacillus casei</i> in Mixed-Species Consortium.

Anexo B. Registro del halo de inhibición (mm) observado alrededor de cada colonia de los probióticos

UNIVERSIDAD ANTONIO NARIÑO - ODONTOLOGÍA

Fecha: _____ Investigador: _____

Microorganismo	Diluciones	UFC por caja de Petri	Cajas de Petri				
			Nº 1	Nº 2	Nº 3	Nº 4	Nº 5
_____	1/10	Colonia Nº 1					
		Colonia Nº 2					
		Colonia Nº 3					
		Colonia Nº 4					
		Promedio					
	1/100	Colonia Nº 1					
		Colonia Nº 2					
		Colonia Nº 3					
		Colonia Nº 4					
		Promedio					
	1/1000	Colonia Nº 1					
		Colonia Nº 2					
		Colonia Nº 3					
		Colonia Nº 4					
		Promedio					
	1/10000	Colonia Nº 1					
		Colonia Nº 2					
		Colonia Nº 3					
		Colonia Nº 4					
		Promedio					
	1/100000	Colonia Nº 1					
		Colonia Nº 2					
		Colonia Nº 3					
		Colonia Nº 4					
		Promedio					
	1/1000000	Colonia Nº 1					
		Colonia Nº 2					
		Colonia Nº 3					
		Colonia Nº 4					
		Promedio					
	1/10000000	Colonia Nº 1					
		Colonia Nº 2					
		Colonia Nº 3					
		Colonia Nº 4					
		Promedio					

Anexo B. Certificación *Lactobacillus rhamnosus*



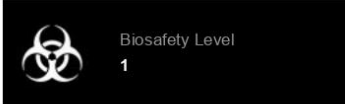
ATCC

Product Sheet

Lactobacillus rhamnosus

(ATCC® 9595™)

Please read this FIRST



Intended Use

This product is intended for research use only. It is not intended for any animal or human therapeutic or diagnostic use.

Citation of Strain

If use of this culture results in a scientific publication, it should be cited in that manuscript in the following manner: *Lactobacillus rhamnosus* (ATCC® 9595™)

American Type Culture Collection
PO Box 1549
Manassas, VA 20108 USA
www.atcc.org

800.638.6597 or 703.365.2700
Fax: 703.365.2750
Email: Tech@atcc.org

Or contact your local distributor



Description

Designation: 4R2127 [ATCC 11979, BUCSAV 226, LD5, NCDO 207, NCIB 7473, NCIB 8019, NCTC 7473]

Deposited Name: *Lactobacillus casei* (Orla-Jensen) Hansen and Lesel



Propagation

Medium

ATCC® Medium 416: Lactobacilli MRS Agar/Broth

Growth Conditions

Temperature: 37.0°C

Propagation Procedure

1. Open vial according to enclosed instructions.
2. Using a single tube of #416 broth (5 to 6 ml), withdraw approximately 0.5 to 1.0 ml with a Pasteur or 1.0 ml pipette. Rehydrate the entire pellet.
3. Aseptically transfer this aliquot back into the broth tube. Mix well.
4. Use several drops of the suspension to inoculate a second tube of broth, a slant and/or plate.
5. Incubate all tubes and plates at 37°C in an atmosphere of 5% CO₂ for 24-48 hours. Loosen screw caps of all test tubes during the incubation period.



Notes

After 24-48 hours, growth is evident by turbidity in the broth and the formation of small colonies on the slant and/or plate. Growth is best in broth culture or on biphasic slants. Only scant growth is observed on agar.



References

References and other information relating to this product are available online at www.atcc.org.



Biosafety Level: 1

Appropriate safety procedures should always be used with this material. Laboratory safety is discussed in the current publication of the *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* from the U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes for Health.

ATCC Warranty

ATCC® products are warranted for 30 days from the date of shipment, and this warranty is valid only if the product is stored and handled according to the information included on this product information sheet. If the ATCC® product is a living cell or microorganism, ATCC lists the media formulation that has been found to be effective for this product. While other, unspecified media may also produce satisfactory results, a change in media or the absence of an additive from the ATCC recommended media may affect recovery, growth and/or function of this product. If an alternative medium formulation is used, the ATCC warranty for viability is no longer valid.

Disclaimers

This product is intended for laboratory research purposes only. It is not intended for use in humans. While ATCC uses reasonable efforts to include accurate and up-to-date information on this product sheet, ATCC makes no warranties or representations as to its accuracy. Citations from scientific literature and patents are provided for informational purposes only. ATCC does not warrant that such information has been confirmed to be accurate.

This product is sent with the condition that you are responsible for its safe storage, handling, and use. ATCC is not liable for any damages or injuries arising from receipt and/or use of this product. While reasonable effort is made to insure authenticity and reliability of materials on deposit, ATCC is not liable for damages arising from the misidentification or misrepresentation of such materials.

Please see the enclosed Material Transfer Agreement (MTA) for further details regarding the use of this product. The MTA is also available on our Web site at www.atcc.org

Additional information on this culture is available on the ATCC web site at www.atcc.org.

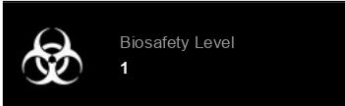


© ATCC 2018. All rights reserved. ATCC is a registered trademark of the American Type Culture Collection. [08/17]

Product Sheet

Lactobacillus rhamnosus
(ATCC® 9595™)

Please read this FIRST



Intended Use

This product is intended for research use only. It is not intended for any animal or human therapeutic or diagnostic use.

Citation of Strain

If use of this culture results in a scientific publication, it should be cited in that manuscript in the following manner: *Lactobacillus rhamnosus* (ATCC® 9595™)

American Type Culture Collection
PO Box 1549
Manassas, VA 20108 USA
www.atcc.org

800.638.6597 or 703.365.2700
Fax: 703.365.2750
Email: Tech@atcc.org

Or contact your local distributor

Anexo C. Certificación *Bifidobacterium breve*



ATCC

Product Sheet

Bifidobacterium breve

(ATCC® 15700™)

Please read this FIRST



Storage Temp.
Frozen: -80°C or colder
Freeze-Dried: 2°C to 8°C
Live Culture: See Propagation Section



Biosafety Level
1

Intended Use

This product is intended for research use only. It is not intended for any animal or human therapeutic or diagnostic use.

Citation of Strain

If use of this culture results in a scientific publication, it should be cited in that manuscript in the following manner: *Bifidobacterium breve* (ATCC® 15700™)

American Type Culture Collection
PO Box 1549
Manassas, VA 20108 USA
www.atcc.org

800.638.6597 or 703.365.2700
Fax: 703.365.2750
Email: Tech@atcc.org

Or contact your local distributor



Description

Designation: S1 (Variant a)

Deposited Name: *Bifidobacterium breve* Reuter

Product Description: Type strain. Produces restriction endonuclease *Bbe*SI. Biolog quality control strain.



Propagation

Medium

ATCC® Medium 2107: Modified Reinforced Clostridial

Growth Conditions

Temperature: 37°C

Atmosphere: Anaerobic

Propagation Procedure

1. Open vial according to enclosed instructions or visit www.atcc.org for instructions.
2. Under anaerobic conditions aseptically rehydrate the entire pellet with approximately 0.5 mL of #2107 broth. Aseptically transfer the entire contents to a 5-6 mL tube of #2107 broth. Additional test tubes can be inoculated by transferring 0.1 mL of the primary broth tube to these secondary broth tubes. Best practice dictates the use of pre-reduced media.
3. Use several drops of the primary broth tube to inoculate a Brucella plate and/or agar slant.
4. Incubate in an anaerobic atmosphere at 37°C for 24-48 hours. Incubate one agar plate aerobically at 37°C to check for contamination.

ANAEROBIC CONDITIONS:

Anaerobic conditions for transfer may be obtained by the use of an anaerobic gas chamber or placement of test tubes under a gassing cannula system connected to anaerobic gas.

Anaerobic conditions for incubation may be obtained by any of the following:

- Loose screw caps on test tubes in an anaerobic chamber
- Loose screw caps on test tubes in an activated anaerobic gas pack jar
- Use of sterile butyl rubber stoppers on test tubes so that an anaerobic gas headspace is retained



Notes

Anaerobe Systems Brucella Blood Agar plates (AS-111 or AS-141) are recommended for analyzing colony morphology and purity.

Purified genomic DNA of this strain is available as ATCC® 15700D-5™.

Additional information on this culture is available on the ATCC® web site at www.atcc.org.



References

References and other information relating to this product are available online at www.atcc.org.



Biosafety Level: 1

Appropriate safety procedures should always be used with this material. Laboratory safety is discussed in the current publication of the *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* from the U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes for Health.

ATCC Warranty

ATCC® products are warranted for 30 days from the date of shipment, and this warranty is valid only if the product is stored and handled according to the information included on this product information sheet. If the ATCC® product is a living cell or microorganism, ATCC lists the media formulation that has been found to be effective for this product. While other, unspecified media may also produce satisfactory results, a change in media or the absence of an additive from the ATCC recommended media may affect recovery, growth and/or function of this product. If an alternative medium formulation is used, the ATCC warranty for viability is no longer valid.



Product Sheet

Bifidobacterium breve **(ATCC® 15700™)**

Please read this FIRST



Storage Temp.
Frozen: -80°C or colder
Freeze-Dried: 2°C to 8°C
Live Culture: See Propagation Section



Biosafety Level
1

Intended Use

This product is intended for research use only. It is not intended for any animal or human therapeutic or diagnostic use.

Citation of Strain

If use of this culture results in a scientific publication, it should be cited in that manuscript in the following manner: *Bifidobacterium breve* (ATCC® 15700™)

Disclaimers

This product is intended for laboratory research purposes only. It is not intended for use in humans. While ATCC uses reasonable efforts to include accurate and up-to-date information on this product sheet, ATCC makes no warranties or representations as to its accuracy. Citations from scientific literature and patents are provided for informational purposes only. ATCC does not warrant that such information has been confirmed to be accurate.

This product is sent with the condition that you are responsible for its safe storage, handling, and use. ATCC is not liable for any damages or injuries arising from receipt and/or use of this product. While reasonable effort is made to insure authenticity and reliability of materials on deposit, ATCC is not liable for damages arising from the misidentification or misrepresentation of such materials.

Please see the enclosed Material Transfer Agreement (MTA) for further details regarding the use of this product. The MTA is also available on our Web site at www.atcc.org

Additional information on this culture is available on the ATCC web site at www.atcc.org.
© ATCC 2019. All rights reserved. ATCC is a registered trademark of the American Type Culture Collection. [05/17]

American Type Culture Collection
PO Box 1549
Manassas, VA 20108 USA
www.atcc.org

800.638.6597 or 703.365.2700
Fax: 703.365.2750
Email: Tech@atcc.org

Or contact your local distributor

Anexo D. Certificación *Lactobacillus acidophilus*



ATCC

Product Sheet

Lactobacillus acidophilus (ATCC® 314™)

Please read this FIRST



Storage Temp.
Frozen: -80°C or colder
Freeze-Dried: 2°C to 8°C
Live Culture: See Propagation Section



Biosafety Level
1

Intended Use

This product is intended for research use only. It is not intended for any animal or human therapeutic or diagnostic use.

Citation of Strain

If use of this culture results in a scientific publication, it should be cited in that manuscript in the following manner: *Lactobacillus acidophilus* (ATCC® 314™)

American Type Culture Collection
PO Box 1549
Manassas, VA 20108 USA
www.atcc.org

800.638.6597 or 703.365.2700
Fax: 703.365.2750
Email: Tech@atcc.org

Or contact your local distributor



Description

Designation: [43]

Deposited Name: *Bacillus acidophilus* Moro



Propagation

Medium

ATCC® Medium 416: Lactobacilli MRS Agar/Broth

Growth Conditions

Temperature: 37°C

Atmosphere: 5% CO₂

Propagation Procedure

1. Open vial according to enclosed instructions.
2. From a single tube of #416 broth (5 to 6 mL), withdraw approximately 0.5 to 1.0 mL with a Pasteur or 1.0 mL pipette and use to rehydrate the entire pellet.
3. Aseptically transfer the rehydrated pellet back into the broth tube. Mix well.
4. Use several drops of this suspension to inoculate a second tube of broth, a slant and/or a plate.
5. Incubate tubes and plate at 37°C in an atmosphere of 5% CO₂ for 48 hours. Loosen screw caps of all test tubes during the incubation period.



Notes

After 48 hours, growth is evident by turbidity in the broth and the formation of small colonies on the slant and/or plate. Growth is best in broth culture or on biphasic slants. Only scant growth is observed on agar. Colonies on #416 plates appear irregular, flat, smooth, glistening and translucent.

Additional information on this culture is available on the ATCC® web site at www.atcc.org.



References

References and other information relating to this product are available online at www.atcc.org.



Biosafety Level: 1

Appropriate safety procedures should always be used with this material. Laboratory safety is discussed in the current publication of the *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* from the U.S. Department of Health and Human Services Centers for Disease Control and Prevention and National Institutes for Health.

ATCC Warranty

ATCC® products are warranted for 30 days from the date of shipment, and this warranty is valid only if the product is stored and handled according to the information included on this product information sheet. If the ATCC® product is a living cell or microorganism, ATCC lists the media formulation that has been found to be effective for this product. While other, unspecified media may also produce satisfactory results, a change in media or the absence of an additive from the ATCC recommended media may affect recovery, growth and/or function of this product. If an alternative medium formulation is used, the ATCC warranty for viability is no longer valid.

Disclaimers

This product is intended for laboratory research purposes only. It is not intended for use in humans. While ATCC uses reasonable efforts to include accurate and up-to-date information on this product sheet, ATCC makes no warranties or representations as to its accuracy. Citations from scientific literature and patents are provided for informational purposes only. ATCC does not warrant that such information has been confirmed to be accurate.

This product is sent with the condition that you are responsible for its safe storage, handling, and use. ATCC is not liable for any damages or injuries arising from receipt and/or use of this product. While reasonable effort is made to insure authenticity and reliability of materials on deposit, ATCC is not liable for damages arising from the misidentification or misrepresentation of such materials.

Please see the enclosed Material Transfer Agreement (MTA) for further details regarding the use of this



Product Sheet

Lactobacillus acidophilus
(ATCC® 314™)

product. The MTA is also available on our Web site at www.atcc.org

Additional information on this culture is available on the ATCC web site at www.atcc.org.
© ATCC 2018. All rights reserved. ATCC is a registered trademark of the American Type Culture Collection. [08/17]

Please read this FIRST

	Storage Temp.
	Frozen: -80°C or colder
	Freeze-Dried: 2°C to 8°C
	Live Culture: See Propagation Section
	Biosafety Level 1

Intended Use

This product is intended for research use only. It is not intended for any animal or human therapeutic or diagnostic use.

Citation of Strain

If use of this culture results in a scientific publication, it should be cited in that manuscript in the following manner: *Lactobacillus acidophilus* (ATCC® 314™)

American Type Culture Collection
PO Box 1549
Manassas, VA 20108 USA
www.atcc.org

800.638.6597 or 703.365.2700
Fax: 703.365.2750
Email: Tech@atcc.org

Or contact your local distributor

Anexo E. Caldo de cultivo M.R.S. (Man rogosa sharpe)

Britania[▲]

REF B0221305 REF B0221306

M.R.S. Caldo

IVD

USO

Medio de cultivo apropiado para el enriquecimiento de lactobacilos y otras bacterias ácido lácticas a partir de muestras clínicas y alimentos (especialmente productos lácteos).

FUNDAMENTO

El Caldo M.R.S. fue desarrollado por Man, Rogosa y Sharpe, y por su formulación permite el adecuado desarrollo de lactobacilos y otras bacterias ácido lácticas.

La proteosa peptona, el extracto de carne, el extracto de levadura y la glucosa constituyen la fuente nutritiva ya que aportan nitrógeno, carbono, vitaminas y minerales. El monoleato de sorbitán, las sales de sodio, magnesio y manganeso proveen cofactores para el crecimiento bacteriano y pueden inhibir el desarrollo de algunos microorganismos. El citrato de amonio actúa como agente inhibitorio del crecimiento de bacterias Gram negativas.

CONTENIDO Y COMPOSICIÓN

Código B0221305: envase x 100 g.

Código B0221306: envase x 500 g.

FÓRMULA (en gramos por litro)

PROTEOSA PEPTONA N° 3	10.0
EXTRACTO DE CARNE	10.0
EXTRACTO DE LEVADURA	5.0
GLUCOSA	20.0
SORBITÁN MONOLEATO	1 ml
FOSFATO DIPOTÁSICO	2.0
ACETATO DE SODIO	5.0
CITRATO DE AMONIO	2.0
SULFATO DE MAGNESIO	0.2
SULFATO DE MANGANESO	0.05
pH FINAL: 6.5 ± 0.2	

INSTRUCCIONES

Suspender 55,25 g del polvo en 1 litro de agua purificada. Reposar 5 minutos. Calentar con agitación frecuente y llevar a ebullición

durante 1 ó 2 minutos para disolución total. Distribuir en recipientes apropiados y esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minutos.

CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO

Medio de cultivo deshidratado: color beige, homogéneo, no presenta libre deslizamiento.

Medio de cultivo preparado: color ámbar oscuro.

ALMACENAMIENTO

Medio de cultivo deshidratado a 2-8 °C.

Medio de cultivo preparado a 2-8 °C.

PROCEDIMIENTO

Siembra

Por inoculación directa del material a analizar.

Incubación

En aerobiosis, a 35-37 °C hasta 3 días ó a 30 °C hasta 5 días.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

El crecimiento microbiano se evidencia por la presencia de turbidez.

CONTROL DE CALIDAD

MICROORGANISMOS	CRECIMIENTO
Lactobacillus fermentum	Satisfactorio
ATCC 9338	
Lactobacillus casei	Satisfactorio
ATCC 393	
Escherichia coli	Inhibido
ATCC 25922	

CONTROL DE ESTERILIDAD	RESULTADO
Medio sin inocular	Sin cambios

M.R.S. Caldo

MATERIALES NECESARIOS NO PROVISTOS

Equipos y material de laboratorio, microorganismos para control de calidad, reactivos y medios de cultivo adicionales según requerimiento.

PRECAUCIONES

- Solamente para uso diagnóstico in vitro. Uso profesional exclusivo.
- No utilizar el producto si al recibirlo su envase está abierto o dañado.
- No utilizar el producto si existen signos de contaminación o deterioro, así como tampoco si ha expirado su fecha de vencimiento.
- Utilizar guantes y ropa protectora cuando se manipula el producto.
- Considerar las muestras como potencialmente infecciosas y manipularlas apropiadamente siguiendo las normas de bioseguridad establecidas por el laboratorio.

- Las características del producto pueden alterarse si no se conserva apropiadamente.

- Descartar el producto que no ha sido utilizado y los desechos del mismo según reglamentaciones vigentes.

REFERENCIAS

- De Man, J.C., Rogosa, M. and Sharpe, M.E. (1960). A Medium for the Cultivation of Lactobacilli. J. Appl. Bacteriol., 23 (1), 130.
- MacFaddin. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore, Md.
- Corry, J.E.L., Curtis, G.D.W., Baird, R.M. 2003. Handbook of Culture Media for Food Microbiology, volume 37, Elsevier Science.

INDICACIONES AL CONSUMIDOR

Utilizar el producto hasta su fecha de vencimiento.
Conservar el producto según las indicaciones del rótulo.

SÍMBOLOS UTILIZADOS



DIAGNÓSTICO
IN VITRO



CÓDIGO N°



ELABORADOR



ESTÉRIL



N° DE
DETERMINACIONES



LOTE N°



FECHA DE
VENCIMIENTO



LÍMITE DE
TEMPERATURA



INSTRUCCIONES
DE USO

HOJA 2 DE 2

11/2015 - REV 01

Anexo F. Agar M.R.S. (Man rogosa Sharpe)

Britania[▲]

REF B0220505 REF B0220506

M.R.S. Agar

IVD

USO

Medio de cultivo apropiado para el aislamiento y recuento de lactobacilos y otras bacterias ácido lácticas a partir de muestras clínicas y alimentos (especialmente productos lácteos).

FUNDAMENTO

El Agar M.R.S. fue desarrollado por Man, Rogosa y Sharpe, y por su formulación permite el adecuado desarrollo de lactobacilos y otras bacterias ácido lácticas

La proteosa peptona, el extracto de carne, el extracto de levadura y la glucosa constituyen la fuente nutritiva ya que aportan nitrógeno, carbono, vitaminas y minerales. El monoleato de sorbitán, las sales de sodio, magnesio y manganeso proveen cofactores para el crecimiento bacteriano y pueden inhibir el desarrollo de algunos microorganismos. El citrato de amonio actúa como agente inhibitorio del crecimiento de bacterias Gram negativas. El agar es el agente solidificante.

CONTENIDO Y COMPOSICIÓN

Código B0220505: envase x 100 g.

Código B0220506: envase x 500 g.

FÓRMULA (en gramos por litro)

PROTEOSA PEPTONA N° 3	10.0
EXTRACTO DE CARNE	10.0
EXTRACTO DE LEVADURA	5.0
GLUCOSA	20.0
MONOLEATO DE SORBITÁN	1 ml
FOSFATO DIPOTÁSICO	2.0
ACETATO DE SODIO	5.0
CITRATO DE AMONIO	2.0
SULFATO DE MAGNESIO	0.2
SULFATO DE MANGANESO	0.05
AGAR	13.0
pH FINAL: 6.4 ± 0.2	

INSTRUCCIONES

Suspender 68,25 g del polvo en 1 litro de agua purificada. Reposar 5 minutos. Calentar agitando frecuentemente y llevar a ebullición durante 1 ó 2 minutos para disolución total. Distribuir en recipientes apropiados y esterilizar en autoclave a 121 °C durante 15 minutos. Enfriar y distribuir en placas de Petri estériles.

CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO

Medio de cultivo deshidratado: color beige, homogéneo, libre deslizamiento.

Medio de cultivo preparado: color ámbar oscuro.

ALMACENAMIENTO

Medio de cultivo deshidratado a 2-8 °C.

Medio de cultivo preparado a 2-8 °C.

PROCEDIMIENTO

Siembra

Por inoculación directa del material en estudio, estriando la superficie del medio de cultivo.

Incubación

En atmósfera con 5% de CO₂, a 35-37 °C durante 24-72 horas.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Observar la morfología y el color de las colonias.

CONTROL DE CALIDAD

MICROORGANISMOS	CRECIMIENTO
Lactobacillus fermentum	Satisfactorio
ATCC 9338	
Lactobacillus casei	Satisfactorio
ATCC 393	
Escherichia coli	Inhibido
ATCC 25922	

CONTROL DE ESTERILIDAD	RESULTADO
Medio sin inocular	Sin cambios

MATERIALES NECESARIOS NO PROVISTOS

Equipos y material de laboratorio, microorganismos para control de calidad, reactivos y medios de cultivo adicionales según requerimiento.

M.R.S. Agar

PRECAUCIONES

- Solamente para uso diagnóstico in vitro. Uso profesional exclusivo.
- No utilizar el producto si al recibirlo su envase está abierto o dañado.
- No utilizar el producto si existen signos de contaminación o deterioro, así como tampoco si ha expirado su fecha de vencimiento.
- Utilizar guantes y ropa protectora cuando se manipula el producto.
- Considerar las muestras como potencialmente infecciosas y manipularlas apropiadamente siguiendo las normas de bioseguridad establecidas por el laboratorio.
- Las características del producto pueden alterarse si no se conserva apropiadamente.
- Descartar el producto que no ha sido utilizado y los desechos del

mismo según reglamentaciones vigentes.

REFERENCIAS

- De Man, J.C., Rogosa, M. and Sharpe, M.E. (1960). A Medium for the Cultivation of Lactobacilli. J. Appl. Bacteriol., 23 (1), 130.
- MacFaddin. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore, Md.
- Corry, J.E.L., Curtis, G.D.W., Baird, R.M. 2003. Handbook of Culture Media for Food Microbiology, volume 37, Elsevier Science.

INDICACIONES AL CONSUMIDOR

Utilizar el producto hasta su fecha de vencimiento.
Conservar el producto según las indicaciones del rótulo.

SÍMBOLOS UTILIZADOS



DIAGNÓSTICO
IN VITRO



CÓDIGO N°



ELABORADOR



ESTÉRIL



N° DE
DETERMINACIONES



LOTE N°



FECHA DE
VENCIMIENTO



LÍMITE DE
TEMPERATURA



INSTRUCCIONES
DE USO

HOJA 2 DE 2

11/2015 - REV 01



REF B0214705 REF B0214706

Cerebro Corazón Infusión Agar

IVD

USO

Medio sólido apropiado para el cultivo de bacterias y hongos, incluyendo los de difícil desarrollo.

FUNDAMENTO

Es un medio muy rico en nutrientes, que proporciona un adecuado desarrollo microbiano. La infusión de cerebro de ternera, la infusión de corazón vacuno y la peptona, son la fuente de carbono, nitrógeno, y vitaminas. La glucosa es el hidrato de carbono fermentable, el cloruro de sodio mantiene el balance osmótico y el fosfato disódico otorga capacidad buffer. El agar es el agente solidificante.

El agar cerebro corazón mantiene los mismos principios que el caldo para el cultivo de estreptococos y otras bacterias exigentes. Puede ser suplementado con sangre ovina desfibrinada estéril o con sangre equina desfibrinada estéril, permitiendo así el desarrollo de hongos de difícil crecimiento. Con el agregado de 10% de sangre de caballo desfibrinada, fue utilizado para el crecimiento de Histoplasma capsulatum y de hongos patógenos.

Por tratarse de un medio que contiene glucosa, no es un agar sangre apropiado para la observación de reacciones de hemólisis. Con el agregado de 20 UI de Penicilina y 40 µg/ml de estreptomina, se utiliza este medio para el aislamiento selectivo de hongos patógenos.

CONTENIDO Y COMPOSICIÓN

Código B0214705: envase x 100 g.

Código B0214706: envase x 500 g.

FÓRMULA (en gramos por litro)

INFUSIÓN DE CEREBRO DE TERNERA.....	200.0
INFUSIÓN DE CORAZÓN	250.0
PEPTONA.....	10.0
CLORURO DE SODIO.....	5.0
GLUCOSA.....	2.0
FOSFATO DISÓDICO.....	2.5
AGAR	15.0
pH FINAL: 7.4 ± 0.2	

INSTRUCCIONES

Disolver 52 g del polvo en 1 litro de agua purificada. Calentar con agitación frecuente y llevar a ebullición hasta su disolución total. Distribuir en recipientes apropiados y esterilizar en autoclave durante 15 minutos a 121°C.

Distribuir en placas de Petri estériles.

En caso de preparar agar sangre, proceder de la siguiente manera: agregar 5-10 % de sangre ovina desfibrinada estéril (**Britasheep**) al medio esterilizado, fundido y enfriado a 45-50 °C. Homogeneizar y distribuir en placas de Petri estériles.

CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO

Medio de cultivo deshidratado: color beige, homogéneo, libre deslizamiento.

Medio de cultivo preparado: color ámbar claro.

Suplementado con sangre: color rojo.

ALMACENAMIENTO

Medio de cultivo deshidratado a 10-35 °C.

Medio de cultivo preparado a 2-8 °C.

PROCEDIMIENTO

Siembra

Directa, sobre la superficie del medio de cultivo por estría.

Incubación

El tiempo, la temperatura, y la atmósfera de incubación, dependerán del microorganismo que se quiera recuperar.

En general se recomienda:

Bacterias de fácil crecimiento: en aerobiosis, a 35-37 °C durante 18 a 24 horas.

Bacterias exigentes en sus requerimientos nutricionales: en atmósfera con 5 % de CO₂, a 35-37 °C durante 24-48 horas.

Hongos: en aerobiosis, a 20-25 °C hasta 7 días. Dependiendo del hongo puede requerirse mayor tiempo de incubación.

Cerebro Corazón Infusión Agar

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Observar las características de las colonias.

CONTROL DE CALIDAD

MICROORGANISMOS	CRECIMIENTO
Escherichia coli	Satisfactorio
ATCC 25922	
Staphylococcus aureus	Satisfactorio
ATCC 25923	
Candida albicans	Satisfactorio
ATCC 10231	

Cerebro Corazón Infusión Agar suplementado con 5% de sangre ovina.

MICROORGANISMOS	CRECIMIENTO
Streptococcus pyogenes	Satisfactorio
ATCC 19615	
Streptococcus pneumoniae	Satisfactorio
ATCC 6305	
Streptococcus pneumoniae	Satisfactorio
ATCC 49619	
Trichophyton mentagrophytes	Satisfactorio
ATCC 9533	

CONTROL DE ESTERILIDAD	RESULTADO
Medio sin inocular	Sin cambios

LIMITACIONES

Este medio puede ser suplementado con sangre pero no es recomendado para la visualización e interpretación de reacciones de hemólisis.

MATERIALES NECESARIOS NO PROVISTOS

Equipos y material de laboratorio, microorganismos para control de

calidad, reactivos y medios de cultivo adicionales según requerimiento.

PRECAUCIONES

- Solamente para uso diagnóstico in vitro. Uso profesional exclusivo.
- No utilizar el producto si al recibirlo su envase está abierto o dañado.
- No utilizar el producto si existen signos de contaminación o deterioro, así como tampoco si ha expirado su fecha de vencimiento.
- Utilizar guantes y ropa protectora cuando se manipula el producto.
- Considerar las muestras como potencialmente infecciosas y manipularlas apropiadamente siguiendo las normas de bioseguridad establecidas por el laboratorio.
- Las características del producto pueden alterarse si no se conserva apropiadamente.
- Descartar el producto que no ha sido utilizado y los desechos del mismo según reglamentaciones vigentes.

REFERENCIAS

- MacFaddin. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore, Md.
- Murray P.R., Baron, Pfaller, Tenover and Tenover. 1999. Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

INDICACIONES AL CONSUMIDOR

Utilizar el producto hasta su fecha de vencimiento.
Conservar el producto según las indicaciones del rótulo

INDICACIONES AL CONSUMIDOR

Utilizar el producto hasta su fecha de vencimiento.
Conservar el producto según las indicaciones del rótulo.

SÍMBOLOS UTILIZADOS



DIAGNÓSTICO
IN VITRO



CÓDIGO N°



ELABORADOR



ESTÉRIL



N° DE
DETERMINACIONES



LOTE N°



FECHA DE
VENCIMIENTO



LÍMITE DE
TEMPERATURA



INSTRUCCIONES
DE USO

HOJA 2 DE 2

11/2015 - REV 01