



# Universidad Autónoma del Estado de México

**TERAPIA DE REEMPLAZO PARA LA PREVENCIÓN DE CARIES  
DENTAL**  
Investigación Documental

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

**CIRUJANO DENTISTA**

PRESENTA

P.C.D. JESÚS RICARDO LÓPEZ MENDIETA

DIRECTORA DE TESIS  
DRA. EN O. ROSALÍA CONTREARAS BULNES

REVISORAS DE TESIS  
M. EN O. LAURA EMMA RODRÍGUEZ VILCHIS  
M. EN O. JUDITH ARJONA SERRANO

TOLUCA, MÉXICO



AGOSTO 2017

**FO**

Facultad de Odontología

## Índice

Contenido	Páginas
<b>Agradecimientos</b> .....	4
<b>Dedicatoria</b> .....	6
<b>Antecedentes</b> .....	7
<b>Planteamiento del problema</b> .....	10
<b>Justificación</b> .....	11
<b>Objetivos</b> .....	12
<b>Metodología</b> .....	13
<b>Marco Teórico</b> .....	14
1. Historia.....	14
2. Generalidades.....	16
3. Propiedades y Funciones.....	19
4. Mecanismos de acción.....	22
5. Principio de la terapia de reemplazo .....	27
6. Clasificación de probióticos, prebióticos y simbióticos (Microbiota), y tipos de colonización de los probióticos .....	30
7. Estrategias .....	33
8. Características deseables de las cepas efectoras en la terapia de reemplazo .....	38
9. Bacterias probadas como efectoras posibles para la terapia de reemplazo para la prevención de caries dental. ....	39
10. Administración.....	47

**TERAPIA DE REEMPLAZO PARA LA PREVENCIÓN DE CARIES DENTAL**  
**Investigación Documental**

11. Nuevos enfoques .....	52
12. Investigación actual.....	56
13. Beneficios de la terapia de reemplazo .....	60
14. Aplicaciones Clínicas y de tratamiento de infecciones de la cavidad oral ....	63
15. Dificultades y posibles riesgos .....	65
16. Presentaciones comerciales disponibles en el mercado.....	68
<b>Conclusión</b> .....	<b>77</b>
<b>Referencias Bibliográficas</b> .....	<b>78</b>
<b>Anexos</b> .....	<b>82</b>
Glosario.....	82

## Antecedentes

Los probióticos son microorganismos vivos que confieren un beneficio a la salud cuando se administran en cantidades adecuadas.

Se menciona que el uso de bacterias probióticas también puede ayudar al control de la hiposalivación, los productos lácteos pueden ser recomendados para la lubricación de la mucosa seca, y también pueden ayudar a la remineralización de los dientes.

La masticación de alimentos que contiene probióticos activa la secreción salival que es conocida por proteger los dientes de las caries, ya que el calcio y fosforo son liberadores de flúor. Los probióticos más importantes en el ser humano vienen del yogurt y productos de leche fermentada.

Para tener un efecto beneficioso en la cavidad oral, un probiótico debe tener una tendencia a formar una biopelícula que actúa como un revestimiento de protección para los tejidos orales contra enfermedades orales.

Los mecanismos de acción de los probióticos en la cavidad oral incluyen: La modificación del pH, antagonismo de los patógenos a través de la producción de compuestos antimicrobianos, competencia por la fijación de patógenos, los sitios del receptor, estimulación de las células inmoduladoras y producción de lactasa, también tienen influencia en el sistema inmunológico a través de mecanismos moleculares.

Algunos autores reportan que los probióticos son una nueva técnica en la prevención de la caries dental, y algunas otras enfermedades como por ejemplo la enfermedad de Crohn y CUCI. Específicamente de caries dental, diversos autores hablan acerca de algunos alimentos que ayudan a su prevención como los productos lácteos, y también chicles que no contengan azúcares.

Así mismo se menciona que la terapia de reemplazo significa, sustituir una molécula pequeña de algún microorganismo ácido que produzca la caries dental, por una

molécula grande de un probiótico, recordando que son microorganismos vivos que confieren un beneficio a la salud del organismo. Los probióticos promueven la salud mediante la exclusión competitiva, o positiva de las bacterias patógenas.

Los Lactobacilos en los probióticos y en la alimentación, así como en la fermentación de los productos lácteos, influyen en las respuestas inmunitarias, la nutrición y el bienestar general.

La cavidad oral es un ecosistema complejo en el que está presente una microbiota rica y diversa. <sup>(1)</sup> La caries dental ocurren en casi el 85% de la población mexicana en general, y las enfermedades periodontales ocurren en casi el 70% de la población mexicana en general <sup>(2), (3)</sup>. El *Streptococcus mutans* es el principal agente causal de la caries dental en humanos y su capacidad de adherirse a la superficie del diente es de suma importancia para la progresión de la enfermedad. La razón de la adherencia dependiente de la sacarosa de los *Streptococcus mutans* podría seguir siendo utilizada para que las cepas efectoras aumenten su capacidad de adherencia, de manera que les permita ocupar el mismo nicho ecológico en la placa como sus contrapartes más cariogénicas. La adherencia del *Streptococcus mutans* a los dientes, es el resultado de la interacción entre el receptor y la adhesión, la segunda es una bacteria-proteína de la superficie como componente que podría combinar en el complemento y receptor de la superficie del tejido específico, en otras palabras, la adhesina, como GBL, hace que el *Streptococcus mutans* se adhiera a los dientes con fuerza <sup>(4)</sup>. Los métodos actuales de manejo de la caries incluyen la prevención tradicional (Profilaxis, fluoruros), intervención operatoria temprana / mínima intervención, monitoreo de la lesión y, por último, intervención retardada. <sup>(1)</sup>

La sacarosa se considera el carbohidrato más cariogénico debido a la fermentación de los ácidos, al actuar como sustrato para el polisacárido extracelular. Se ha observado que la composición inorgánica de la biopelícula dental disminuyó cuando esta se forma en presencia de sacarosa. <sup>(5)</sup>

El proceso de la caries dental se produce por la progresión de la adhesión, co-agregación y la colonización secundaria bacteriana. <sup>(6)</sup>

Las superficies rugosas de los órganos dentarios son áreas donde la dieta y los productos ácidos de la descomposición son probablemente retenidos, incluso más que sobre las superficies lisas de los dientes, por lo tanto, los surcos se someten generalmente a un ataque ácido más severo, y más propenso al desarrollo de la caries dental. <sup>(1)</sup>

Se ha demostrado que la capacidad de los *Streptococcus mutans* para producir polisacáridos extracelulares de carbohidratos de la dieta, mejora significativamente su carioactividad. <sup>(7)</sup>

La colonización temprana de patógenos cariogénicos, particularmente *Streptococcus mutans*, puede aumentar el riesgo a caries de la infancia. <sup>(8)</sup>

El desarrollo de la caries es usualmente un proceso prolongado que involucra ciclos de desmineralización y remineralización. Los procesos por los cuales la placa dental se acidifica han sido estudiados intensamente, la fase de alcalinización y homeostasis del pH durante los períodos de ayuno han sido pobremente entendidos. Se piensa que una serie de mecanismos contribuye a la alcalinización de la placa dental, incluyendo el equilibrio de ácidos y azúcares por la saliva, la capacidad buffer de la saliva y componentes bacterianos y la producción de álcali por bacterias de la placa, lo cual ocurre principalmente a través del metabolismo de la urea a amoníaco, por la actividad ureasa microbiana. <sup>(1)</sup>

## **Planteamiento del problema**

Actualmente la terapia de reemplazo es una alternativa en la prevención de caries dental, sin embargo, la información no se encuentra integrada en un documento de consulta.

Por lo tanto, este estudio intenta responder esta pregunta:

¿En qué consiste la terapia de reemplazo en la prevención de caries dental?

## **Justificación**

Con el presente trabajo se pretende integrar la información acerca de la terapia de reemplazo para la prevención de la caries dental, para ayudar como un documento de consulta, ya que no hay mucha información acerca de este tema.

Este trabajo de investigación va a fomentar los estudios académicos acerca de la terapia de reemplazo en el área odontológica, para que a su vez estos se encarguen de ayudar a la población mediante el fomento de su inclusión como medida preventiva complementaria contra la caries dental.

En el aspecto social, que la población conozca más acerca de la terapia de reemplazo, ya que esta ayuda a prevenir la caries dental, junto con una correcta técnica de cepillado, uso de hilo dental, enjuague dental y visitas regulares al odontólogo, fomentando su inclusión en la práctica diaria.

En lo económico se traduciría en menos gastos en el área de salud odontológica preventiva, ya que los pacientes por lo general solo van a la consulta cuando ya está muy avanzado el problema de salud bucodental.



## Objetivos

### Objetivo general:

Documentar el uso de la terapia de reemplazo en la prevención de caries dental.

### Objetivos específicos:

- 1.- Analizar artículos en revistas científicas de prestigio sobre el uso de terapia de reemplazo y su relación con la prevención de caries dental.
- 2.- Generar un documento de consulta para estudiantes y odontólogos en relación con la terapia de reemplazo para la prevención de la caries dental.

## Metodología

Tipo de estudio:

- ✓ Documental (Revisión de literatura).

Universo de estudio:

Artículos integrados en los siguientes repositorios:

1. PUBMed.
2. ELSEVIER.
3. SciELO.
4. Documentos de la biblioteca "Jesús Montiel Navas" y del CIEAO.
5. Bibliografía de reciente publicación.

Límite de espacio

- ✓ Facultad de Odontología de la UAEMéx.
- ✓ Internet.

Límite de tiempo:

- ✓ 6 meses.

Recursos:

- ✓ Conexión a Internet.
- ✓ PC.
- ✓ Fotocopias.
- ✓ Adquisición de libros

## Marco Teórico

### 1. Historia

La palabra probiótico viene del griego, que significa: pro - “*para*”; y biótico – “*la vida*”, “*para la vida*”.<sup>(9)</sup>

El concepto Probiótico data de hace más de 100 años, a principios del siglo XX con los trabajos del ganador del Premio Nobel Ruso Elie Metchnikoff quien observó que el consumo de leches fermentadas tenía un efecto positivo sobre la microbiota residente del tracto gastrointestinal con un impacto favorable en la salud humana, además afirmó que la dependencia de los microorganismos intestinales con respecto a los alimentos, hace posible adoptar medidas para modificar la flora de nuestro organismo y sustituir los microorganismos nocivos por microbios útiles.<sup>(10), (11), (12)</sup>

Los seres humanos han intentado intervenir en estas interacciones bacterianas. Esto ha llevado al desarrollo de un nuevo enfoque terapéutico para prevenir las enfermedades microbianas (como la caries dental) denominada terapia de reemplazo de bacterias enteras (actualmente denominada terapia probiótica).

Esta idea, tradicionalmente llamada terapia de reemplazo, es muy atractiva tanto desde el punto de vista práctico como teórico. El desarrollo de los antibióticos revolucionó la práctica de la medicina en la segunda mitad del siglo XX. Desde 1982, sin embargo, las muertes derivadas de enfermedades infecciosas han aumentado constantemente en paralelo con el aumento de los patógenos resistentes a los antibióticos.<sup>(1)</sup>

La ecología de la microbiota gastrointestinal, incluyendo la de la boca, es prácticamente estable una vez transcurrido el período de variación en la primera infancia. Los estudios que han abordado los efectos sobre las comunidades

bacterianas orales se han dirigido principalmente a las especies bacterianas individuales, como los *Streptococcus mutans* asociados a la caries. <sup>(13)</sup>

El uso de probióticos ha demostrado ser moderadamente eficaz en el tratamiento de la gastroenteritis viral aguda en niños sanos, en la prevención de la diarrea asociada a antibióticos en niños sanos, y en la prevención de la enterocolitis necrotizante en lactantes con muy bajo peso al nacer. <sup>(14)</sup>

Las bacterias que habitan el intestino actúan como un mecanismo de control para prevenir el sobre crecimiento de patógenos, formando una barrera natural que protege contra las infecciones. <sup>(11)</sup>

Estudios de pacientes con insuficiencia renal crónica también han demostrado que estos pacientes, quienes frecuentemente tienen concentraciones de urea salival superiores a 50 mM, tienen niveles alcalinos del pH de placa y una incidencia muy baja de caries dental, a pesar de la ingestión de una dieta predominante de carbohidratos. <sup>(1)</sup>

Otras aplicaciones Clínicas:

Tracto gastrointestinal, Alergias, Cáncer, Infección del tracto genito-urinario, Vacunas. <sup>(11)</sup>

## 2. Generalidades

En 1946 Florey señaló que el uso de bacterias benéficas para combatir las bacterias patógenas ha sido intentado por diversos laboratorios durante muchas décadas. <sup>(1)</sup>

En 1965, Lilly y Stillwell lo definieron como sustancias producidas por microorganismos que promueven el crecimiento de otros microorganismos. <sup>(7)</sup>

En 1989, R. Fuller hizo referencia a aquellos microorganismos vivos, principalmente bacterias y levaduras, que son agregados como suplemento en la dieta y que intervienen en forma benéfica en el desarrollo de la flora microbiana del intestino.

En 1998, el International Life Science Institute (ILSI), de la Unión Europea definió a los probióticos como microorganismos vivos, que cuando son ingeridos en cantidades suficientes, tienen efectos benéficos para la salud, lo que va más allá de los efectos nutricionales convencionales. Afectan benéfica a una o varias funciones del organismo, proporcionan un mejor estado de salud y bienestar y/o reducen el riesgo de enfermedad. Pueden ser funcionales para la población en general o para grupos particulares de ella. <sup>(9)</sup>

En 2001, Schrezeimer y de Vrese los define como aquellos microorganismos que en un número suficiente alteran la microflora (por implantación, o colonización), con un comportamiento benéfico en la salud del organismo. <sup>(7)</sup>

Igualmente, en 2001, la OMS menciona que son microorganismos vivos que cuando se administran en cantidades adecuadas confieren un beneficio a la salud física del organismo. <sup>(6), (15)</sup>

En los probióticos se mezclan ambas células vivas y muertas para que puedan generar respuestas biológicas benéficas. <sup>(14)</sup>

Según Crawford, para que los probióticos sean efectivos, deben incrementar el número de organismos benéficos, sin causar enfermedad en el huésped y, a la vez, reducir el número de los efectos de los organismos causantes de la enfermedad, cuanto más variada sea la composición del probiótico será más eficaz contra más

microorganismos, tendrá menos efectos adversos y cumplirá mejor con las características ideales de un probiótico (Chapman 2011). <sup>(16)</sup>

La FAO (Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y Alimentos, por sus siglas en inglés) y la OMS (Organización Mundial de la Salud) han definido a los probióticos como organismos vivos que ingeridos en cantidades adecuadas confieren un beneficio saludable en el huésped. <sup>(11)</sup>

### **Principales características de los probióticos:**

- ✓ Seguridad total.
- ✓ Inocuidad.
- ✓ Resistencia a la acidez gástrica y a las secreciones pancreáticas.
- ✓ Adhesión a las células epiteliales.
- ✓ Actividad antimicrobiana.
- ✓ Inhibición de la adhesión de microorganismos patógenos.
- ✓ Sensibilidad a los antibióticos.
- ✓ Viabilidad alimentaria.
- ✓ Cepas humanas.
- ✓ Eficacia contrastada en ensayos clínicos. <sup>(12)</sup>

El uso de probióticos en medicina se conoce también con el nombre de bioterapia. Los agentes bioterapéuticos son microorganismos que tienen un efecto terapéutico demostrado, es decir, son medicamentos o fármacos, que para ser eficaces deben tener las siguientes características:

- ✓ Ser resistentes a la gran mayoría de los antibióticos que se usan comúnmente, luego las cepas bacterianas probióticas son peligrosas cuando se usan en grandes cantidades.
- ✓ Tener efectos terapéuticos inmediatos.

- ✓ Tener efectos múltiples: inhibición de la adhesión de los patógenos, efectos de inmunomodulación, competencia con las toxinas por los receptores de estas, por supuesto, competencia por los nutrientes. <sup>(9)</sup>

Hay múltiples factores que deciden la flora intestinal normal poligenética, morfismo, sexo, hábitos particulares, la dieta, la religión, la edad, infecciones y vacunas, el perfil hormonal y el estrés entre otros. A las pocas horas de nacer, el recién nacido desarrolla su flora bacteriana normal. <sup>(14)</sup>

La mayoría de los probióticos naturales se encuentran en los productos lácteos fermentados. <sup>(6)</sup>

Se ha observado que los *Lactobacillus gasseri* en las heces y leche humana son capaces de:

1. Adherirse a las células epiteliales intestinales y mucosidad intestinal.
2. Producir bacteriocinas.
3. Reducir las enzimas mutagénicas.
4. Estimular macrófagos y linfocitos.
5. Modular los sistemas inmunes a través de los receptores de peaje.
6. Mostrar resistencia a los fluidos gástricos y de intestino delgado. <sup>(8)</sup>

### 3. Propiedades y Funciones

Se ha sugerido que los probióticos deben tener las siguientes propiedades y funciones:

- ✓ Adhesión a ordenadores de tejido epitelial.
- ✓ Resistencia a los ácidos y tolerancia de la bilis.
- ✓ Eliminación de patógenos o la reducción en la adherencia patógena.
- ✓ Producción de ácidos, peróxido de hidrogeno y bacteriocinas antagonistas del crecimiento de patógenos.
- ✓ Seguridad no patógena y no cariogénica.
- ✓ Mejora de la microflora intestinal. <sup>(7)</sup>

Algunos autores mostraron que el consumo de productos que contienen Lactobacilos como probióticos puede causar una reducción significativa en las tasas de bacterias cariogénicas y el riesgo a caries. <sup>(15)</sup>

En relación a la caries dental, las leches fermentadas disponibles en el mercado muestran un pH ácido y sacarosa en su composición. Estas características permiten la formación de biopelículas y por lo tanto facilitan la adherencia de Lactobacilos a la superficie dental y el desarrollo de caries. <sup>(5)</sup>

El uso de bacterias probióticas también puede ayudar en la hiposalivación. Los productos lácteos pueden ser recomendados para la lubricación de la mucosa seca, y también pueden ayudar al paciente a la remineralización de sus dientes. <sup>(17)</sup>

Los probióticos más utilizados son acidogénicos y tienen la capacidad de disolver las estructuras duras como el esmalte y dentina. <sup>(6)</sup>

Para ser considerada como probiótica, una bacteria tiene que sobrevivir en el medio fuertemente ácido del estómago y colonizar el intestino delgado y grueso. <sup>(9)</sup>

Los probióticos debido al hecho de que pueden competir con otras bacterias patógenas, han sido objeto de investigación en la prevención de las enfermedades



bucodentales, puerta de entrada del sistema digestivo, como la caries dental, periodontal, periimplantitis y la halitosis. Los probióticos promueven la salud mediante la exclusión competitiva o positiva de las bacterias patógenas. <sup>(18)</sup>

La ingestión de bacterias probióticas, en particular los lactobacilos, se practica comúnmente para promover un equilibrio.

Sin embargo, la cepa productora de *mutacina 1140* de *S. mutans* eliminó las cepas nativas sensibles a la *mutacina* de *S. mutans*, pero no tuvo ningún efecto sobre cepas nativas de *S. oralis* que eran igualmente sensibles a la eliminación de *mutacina in vitro*. Estos resultados indican que *S. mutans* tiene un hábitat físicamente distinto que está separado del hábitat de *S. oralis* por una distancia suficiente para la dilución con la finalidad de reducir la concentración de *mutacina* por debajo de su concentración inhibitoria mínima. Si se pudiera demostrar que *BCS3-L1* tiene propiedades similares en humanos, serviría como una cepa efectora ideal con las siguientes ventajas:

- i. La posibilidad de efectos secundarios deletéreos es insignificante ya que la cepa efectora es esencialmente idéntica a un microorganismo, que se encuentra universalmente en humanos.
- ii. Se requiere una educación y un cumplimiento mínimo del paciente.
- iii. El método terapéutico sería económico y adecuado para su uso en la población en general, y sería particularmente apropiado para su uso en países en desarrollo.

Chen YYM y otros indicaron que los niveles fisiológicamente relevantes de urea (2 a 10 mM) pueden alterar drásticamente la acidificación del medio ambiente bucal incluso en la presencia de un exceso significativo de glucosa.

La pérdida de bacterias productoras de amoníaco de las poblaciones complejas sobre la superficie del diente reduciría la capacidad de la placa para neutralizar los ácidos y retardar el retorno del pH de la placa a los valores más neutros. Este concepto es coherente con dos observaciones:

**TERAPIA DE REEMPLAZO PARA LA PREVENCIÓN DE CARIES DENTAL**  
**Investigación Documental**

- 1.- El pH de reposo de la placa en individuos sanos es más alto que el pH de la saliva que baña la placa.
- 2.- La profundidad y duración de la acidificación de la placa es mayor en sujetos propensos a la caries. <sup>(1)</sup>

#### 4. Mecanismos de acción

Dentro de los mecanismos de acción de los probióticos encontramos que:

1. Producen sustancias antimicrobianas como ácido láctico y otros ácidos de cadena corta, metabolitos como peróxido de hidrógeno, diacetilo y bacteriocinas. Estos compuestos reducen el número de células viables, afectan el metabolismo bacteriano o la producción de toxinas. En la industria alimenticia las BAL (Bacterias ácido-lácticas) son utilizadas como conservadores biológicos por la producción de bacteriocinas que ejercen acción antibacteriana y contribuyen a la prevención de la descomposición de los alimentos.
2. Disminuyen el pH intestinal favoreciendo el crecimiento de organismos benéficos.
3. Aumentan la resistencia a la colonización por competir con patógenos para unirse a los sitios de adhesión en la superficie del epitelio intestinal. Algunas cepas han sido escogidas por su habilidad de adherencia a las células epiteliales como *Lactobacillus spp.*
4. Compiten por nutrientes. Las bacterias ácido lácticas pueden utilizar los nutrientes consumidos por organismos patógenos.
5. Estimulan la respuesta inmune. Evidencias recientes sugieren que la estimulación de la inmunidad innata y adquirida protege contra la enfermedad intestinal. Estos microorganismos pueden alertar al sistema inmune y favorecer el rechazo de agentes infecciosos estimulando la producción de inmunoglobulina A (IgA), activando macrófagos e incrementando interferón-gamma (IFN-gamma) y citoquinas proinflamatorias. <sup>(11)</sup>

La leche actúa como amortiguador para el ácido producido, misma que contiene calcio, lactato de calcio y otros compuestos orgánicos e inorgánicos, que son anticariogénicos y reducen la colonización de patógenos.

La leche humana contiene componentes bacterianos derivados de la madre, los cuales se cree que influyen en el desarrollo del sistema inmunológico del bebé joven. Este proceso se denomina “impronta bacteriana”, la cavidad oral es colonizada por microorganismos poco después del nacimiento y puede formar la microflora original la cual puede persistir durante la vida y prevenir el crecimiento de otras bacterias que, posteriormente, tratan de colonizar, debe competir con otros microorganismos para los sitios de colonización y nutrientes esenciales. <sup>(6)</sup>

Específicamente, la adherencia de los *Streptococcus mutans* a los dientes dependiente de sacarosa asegura que las bacterias no serán lavadas con la masticación o el flujo de la saliva. Curiosamente, la razón de la adhesión dependiente de la sacarosa podría ser utilizada para que las cepas efectoras aumenten su adherencia, y así permitirles ocupar el mismo nicho ecológico en la placa como sus demás contrapartes cariogénicas. <sup>(1)</sup>

Las bacterias ácido lácticas se alimentan de la lactosa o azúcar de la leche <sup>(9)</sup>, se ha demostrado que el consumo a largo plazo (7 meses) de la leche que contiene *Lactobacillus rhamnosus GG* reduce el riesgo a caries en los niños de 3 a 4 años de edad, ya que producen una sustancia con potencial actividad inhibitoria contra diferentes especies bacterianas incluyendo al *Streptococcus mutans* cariogénico. La dureza del esmalte puede aumentar debido al aumento de la concentración del calcio y fosfato de la placa. <sup>(19)</sup>

Los productos fermentados podrían competir con los microorganismos que son perjudiciales para la salud del huésped. Pero por otra parte la saliva puede inhibir la colonización de los probióticos (por inhibición del crecimiento, muerte, o prevención de la adherencia a los tejidos del huésped) y, por otra parte, puede promover la colonización microbiana. Otro aspecto en el establecimiento oral de probióticos es la agregación. La saliva media la capacidad de la agregación, y está relacionada con propiedades de adherencia celular. Los mecanismos de acción de los probióticos en la cavidad oral podrían ser similares a los descritos para el intestino, dichos mecanismos son en gran parte desconocidos, pero pueden implicar la modificación del pH, antagonizar los patógenos a través de la producción de

compuestos antimicrobianos, competir por la fijación de patógenos y los sitios del receptor, estimular las células inmoduladoras y producir lactasa, también se muestra que tienen influencia en el sistema inmunológico a través de varios mecanismos moleculares (Bhushan y Chachra, 2010). Para tener un efecto benéfico en la cavidad oral, un probiótico debe tener una tendencia a formar una biopelícula que actúa como un revestimiento de protección para los tejidos orales, contra enfermedades orales. La adhesión celular es un proceso complejo que implica el contacto entre la célula bacteriana y la interacción con las superficies de la siguiente manera:

Fijación en la cavidad oral:

- ✓ Competir con los patógenos para los sitios de adhesión.
- ✓ La implicación en el metabolismo de sustratos (compitiendo con microorganismos orales de sustratos disponibles).

Inmunomodulador:

- ✓ Estimular la inmunidad no específica.
- ✓ Modular la respuesta inmune humoral y celular.

Modificación de las condiciones orales:

- ✓ Modificación del potencial de reducción de oxidación.
- ✓ Modulación del pH. <sup>(7)</sup>

La forma de acción de los probióticos es promover la salud alterando el balance ecológico mediante la exclusión competitiva de bacterias patógenas. Los probióticos ejercen su acción a través de múltiples mecanismos, entre los cuales destacan:

- a) Promoción de la fagocitosis.
- b) Inhibición del crecimiento bacteriano.
- c) Modulación local de la respuesta inmune.
- d) Inhibición competitiva. <sup>(10)</sup>

Se piensa que la reducción de la adherencia es probablemente debido a las interacciones bacterianas y colonización de sitios de adhesión con la cepa probiótica ante la presencia de *Streptococos*. Además, las cepas probióticas son capaces de modificar la proporción de las especies orales dentro de la biopelícula.

Como se ha mencionado antes, los *Lactobacilos* han sido reconocidos por su actividad antimicrobiana y la capacidad para interferir con la adhesión de patógenos en las células epiteliales y por su anti-producción de biopelícula en los dispositivos de catéteres y prótesis de voz. <sup>(7)</sup>

Los *Lactobacillus rhamnosus GG (LGG)* pueden competir con los *Streptococos* por los sitios de adherencia en la cavidad bucal y producir sustancias antibacterianas contra *Streptococcus mutans*, no fermentan la sacarosa y pueden hasta cierto punto, reemplazar los *Streptococos* cariogénicos de los dientes.

Se demuestra que anticuerpos específicos presentes en la leche bovina reducen el número de *Streptococos* causantes de caries dentales en humanos y protegen, contra las caries dentales in vitro con animales (ratas) contra las caries dentales. Mascar chicles (goma de mascar) que contengan bacterias probióticas reduce los niveles de *Streptococcus mutans* en saliva de una manera importante. <sup>(9)</sup>

La ingesta de *Lactobacillus reuteri DMS 17938* y *PTA 5289* se ha asociado previamente con la reducción de los niveles orales de *Streptococcus mutans*. <sup>(13)</sup>

Los *Streptococcus mutans* podrían sintetizar muchos tipos de glucano mediante la utilización de sacarosa en la comida, y luego formar una envoltura de fluido de la mucosa que promueve que los *Streptococcus mutans* se adhieran a los dientes de la superficie. Así GBL juega un papel importante en la formación de biomembranas de la placa dental y la adhesión de *Streptococcus mutans*. La expresión de GBL se regula finalmente por el sistema de señalización entre bacteria y exterior circundante. <sup>(4)</sup>

En la vía de Arginina Desaminasa (AD) cataliza la hidrólisis de arginina a citrulina y amoníaco. Aunque *S. sanguis* es inherentemente menos tolerante al ácido que otros organismos como *S. mutans*, puede ser protegido contra la acidificación letal

por el catabolismo de arginina mediante la vía AD. La protección ocurre a través de la producción de amoníaco y se asocia con un aumento del pH ambiental. Esta protección puede ser crítica para la supervivencia de *S. sanguis* en la placa dental, en la que el valor del pH puede descender por debajo de 4.0 y en el que se producen frecuentemente ciclos de acidificación-alcalinización. Por lo tanto, con el aislamiento de genes de *S. sanguis*, debería ser posible introducir el sistema AD en las bacterias cariogénicas *S. mutans*. Estos organismos recombinantes deberían tener una ventaja selectiva debido a su capacidad para producir una molécula de ATP por molécula de arginina catabolizada. Así, la producción de amoníaco proveniente de arginina por estreptococos orales como *S. sanguis* y *S. mitis* podría desempeñar un papel directo y benéfico en el inicio y progreso de la caries dental.

Sato, et al. encontraron que el gen *gcrR* actúa como un regulador negativo de transcripción del gen *bbpc* que codifica *S. mutans* BGL. La expresión de amplificación del gen *bcrR* restringió al gen *gbpC*, teniendo como resultado una disminución de la expresión de *gbpC* y finalmente privó la capacidad de adherencia dependiente de sacarosa de *S. mutans*. Por el contrario, la eliminación del gen *gcrR* resultó en una sobreexpresión de GBL. Así, la expresión de GBL se regula finamente por el sistema de señalización entre la bacteria y el exterior circundante. Por lo tanto, GBL juega un papel muy importante en la formación de placa dental y la adherencia de *S. mutans* por sí mismo. <sup>(1)</sup>

## 5. Principio de la terapia de reemplazo

Para tener un efecto benéfico en la limitación o en la prevención de las caries dentales, un probiótico debe ser capaz de adherirse a las superficies dentales y de integrarse en las comunidades bacterianas que forman una biopelícula dental. Tal película retiene los patógenos de los tejidos orales llenando un espacio que en el futuro podría haber servido de nicho para patógenos, y también debe competir con las bacterias cariogénicas y antagonizarlas, y así prevenir su proliferación. <sup>(7)</sup>

La capacidad de una bacteria dada para colonizar un huésped está determinada por una serie de factores, tales como las necesidades metabólicas de la bacteria y las interacciones de la bacteria con la flora bacteriana preexistente. Hay muchas interacciones positivas y negativas entre las diferentes especies de bacterias que habitan el ecosistema oral. Las interacciones bacterianas pueden ser generalmente clasificadas como "positivas" o "negativas". En las interacciones positivas, una cepa bacteriana "efectora" altera el microambiente para promover la colonización de un segundo organismo "objetivo". En interacciones "negativas", la cepa efectora altera el microambiente de una manera que disminuye o impide completamente la colonización de bacterias diana. Las interacciones negativas entre bacterias competidoras durante la colonización del huésped se denomina comúnmente interferencia bacteriana.

Una consideración clave en la utilidad de las cepas de reemplazo es su capacidad para competir con cepas endógenas y el hecho de que la eliminación de actividades endógenas o la introducción de genes externos pueden comprometer la aptitud de una bacteria.

En la prevención de las caries dentales, un solo régimen de colonización que conduce a la colonización persistente por parte la cepa efectora debe proporcionar una protección de por vida. <sup>(1)</sup>

Los sujetos sin caries son colonizados por los Lactobacilos, los cuales poseen significativamente una mayor capacidad para suprimir el crecimiento de



*Streptococcus mutans* en comparación con los sujetos con caries activas. Los *Lactobacillus acidophilus* podrían inhibir el crecimiento de otras bacterias. Especies de Lactobacilos cepa GG podrían producir diferentes componentes antimicrobianos, tales como ácidos orgánicos, peróxido de hidrógeno, peróxido de carbono, diacetilo, sustancias antimicrobianas de bajo peso molecular, bacteriocinas, e inhibidores de adhesión contra Estreptococos, por lo tanto, podrían ser utilizados como un potente probiótico. <sup>(6)</sup>

La adherencia de *Streptococcus mutans* a los dientes es el resultado de la interacción entre el receptor y la adhesión, este último es un componente de la proteína de superficie de la bacteria que podría combinarse con el complemento y receptor de la superficie del tejido por la estereoquímica específica. <sup>(1)</sup>

Los estudios en relación a los probióticos en el área de la odontología hablan de que crean una capa de biofilm que actúa como una capa protectora de los tejidos orales, ocupando el espacio que invadirían las bacterias en los distintos tejidos y compitiendo en contra del crecimiento de las bacterias cariogénicas y periodontopatógenas. <sup>(20)</sup>

Todas las cepas de *Lactobacillus spp* parece ser que ejercen un papel protector para evitar el desarrollo de la caries. Este efecto se debería a su capacidad para competir con otros microorganismos cariogénicos tales como el *Streptococcus mutans* y el *Streptococcus sobrinus* e inhibir su crecimiento, cuando se consumen bacterias productoras de ácido láctico contenidas dentro de productos lácteos, la capacidad amortiguadora de éstos contrarresta la acidez, protegiendo las superficies dentales, además de inhibir la adhesión de microorganismos patógenos. Para ser capaz de tener efectos probióticos en la cavidad oral, la bacteria debe adherirse a la superficie oral de manera prolongada y persistente y formar parte de la biopelícula. <sup>(10)</sup>

La acidogenicidad de la placa dental y lactobacilos probióticos depende de la cepa e influencia del tipo de azúcar existente. <sup>(21)</sup>

El fundamento de la terapia de reemplazo contra la caries dental es que las cepas avirulentas de *Streptococcus mutans* son más propensas a ocupar el mismo nicho ecológico en la placa dental, así como sus contrapartes más cariogénicas, la producción de ácido láctico por fructosa-1-6-difosfato demostró ser un factor de virulencia importante para *Streptococcus mutans*.

El fundamento de la terapia de reemplazo bacteriano contra la caries dental, es que las cepas avirulentas de *Streptococcus mutans* son más propensas a ocupar el mismo nicho ecológico en la placa como su contraparte más cariogénico. <sup>(4)</sup>

Existe la necesidad de enfoques adicionales de prevención de caries, la terapia de reemplazo es uno de estos enfoques novedosos. En este caso, las cepas relativamente avirulentas de *Streptococcus mutans* producidas por tecnología de ADN recombinante se implantan en la cavidad oral. Estos pueden interferir con la colonización de, o competir con los *Streptococcus mutans* cariogénicos. Esta técnica podría proporcionar un medio económico, a largo plazo para lograr una protección contra la caries dental, a la medida del huésped. <sup>(1)</sup>

## 6. Clasificación de probióticos, prebióticos y simbióticos (Microbiota), y tipos de colonización de los probióticos

**Probiótico:** Es un producto que contiene un número suficiente de microorganismos vivos con efecto beneficioso sobre la salud, a través de una alteración positiva de la microbiota por colonización del intestino. Para que un organismo sea definido como probiótico no debe ser patógeno ni toxicogénico, sobrevivir al medio ácido del estómago y efecto de la bilis en el duodeno, capacidad de adhesión a células epiteliales, adaptarse a la microbiota intestinal sin desplazar la microbiota nativa ya existente, producir sustancias antimicrobianas y tener capacidad para aumentar de modo positivo las funciones inmunes y las actividades metabólicas.

**Prebióticos:** Afectan beneficiosamente al huésped, estimulando el crecimiento o actividad de bacterias intestinales útiles.

**Simbióticos:** Productos que contienen prebióticos y probióticos e implica sinergia entre los dos, aumentando los beneficios en el huésped. Este término se reserva para productos donde los componentes prebióticos selectivamente favorecen a los componentes probióticos. <sup>(11)</sup>

### TIPOS DE COLONIZACIÓN DE LOS PROBIÓTICOS.

1. Colonización preferente
2. Desplazamiento competitivo

1.- En los estudios de colonización de suscripción preferente, los *Streptococcus mutans*, que eran incapaces de producir caries ya sea debido a su incapacidad para producir ácido láctico o para sintetizar polisacáridos intracelulares, se implantaron en la microflora oral de animales de laboratorio antes de la introducción de cepas potencialmente patógenas de *Streptococcus mutans*. El periodo ideal en el que se

implanten las cepas efectoras es el tiempo en la vida de un bebé cuando los *Streptococcus mutans* colonizan por primera vez los dientes.

2.- En el desplazamiento competitivo, un microorganismo no cariogénico se introduce en el organismo y es capaz de competir con el desplazamiento de los *Streptococcus mutans* cariogénicos. <sup>(1)</sup>

Se ha propuesto que las células vivas tienen una respuesta inmune predominante, para poder influenciar activamente la microbiota existente y las células muertas tienen una respuesta antiinflamatoria. <sup>(14)</sup>

### **Guías para la evaluación de los probióticos:**

En mayo de 2002 la FAO y la OMS definieron las nuevas guías y estándares de calidad para la evaluación de los probióticos, de la siguiente manera:

- ✚ 1.- Identificación de la cepa.
- ✚ 2.- Caracterización biológica.
  - ✓ Demostrar el efecto benéfico de los microorganismos a través de pruebas *in vitro*, determinando las características de adhesión, producción de bacteriocinas, ácido láctico, peróxido de hidrógeno y la habilidad para inhibir la adherencia de patógenos, consideradas importantes para conferir el efecto probiótico.
- ✚ 3.- Seguridad.
  - ✓ La FAO y la OMS recomiendan que las cepas probióticas incluyan una serie de pruebas como patrones de resistencia a los antibióticos, actividad metabólica, producción de toxinas, actividad hemolítica, infectividad en modelos animal inmunocomprometidos y efectos adversos en el consumidor.
- ✚ 4.- Eficacia.
- ✚ 5.- Especificaciones.

**TERAPIA DE REEMPLAZO PARA LA PREVENCIÓN DE CARIES DENTAL**  
**Investigación Documental**

- ✓ Definir en la etiqueta o documento las características del producto como género y especie de la cepa, concentración del microorganismo, condiciones de almacenamiento y el efecto beneficioso específico. <sup>(11)</sup>

## 7. Estrategias

1. Una de las propiedades fisiológicas, que podría proporcionar una fuerte ventaja selectiva en la colonización es la producción de bacteriocina, conocida por algún tiempo como una característica común de *Streptococcus mutans*. En una selección preliminar de cepas de *Streptococcus mutans* para la producción de bacteriocina, una cepa, *JH1001* inhibió el crecimiento de prácticamente todas las otras cepas de este organismo. La naturaleza química exacta de la sustancia inhibidora producida por *JH1001* aún no ha sido determinada. Los estudios preliminares indican que se trata de una molécula pequeña (peso molecular de aproximadamente 1000) que se sintetiza en cantidades detectables sólo durante la fase estacionaria. En otro estudio, la cepa *JH1001* fue implantada en los dientes de cinco voluntarios humanos que albergan altos niveles de *S. mutans*. Se evaluó la capacidad de la cepa *JH1001* para superinfectar y colonizar persistentemente la cavidad oral humana. Se encontró que dos años y medio más tarde, la cepa *JH1001* todavía estuvo presente en tres sujetos y en uno de ellos, *S. mutans* no nativos pudieron ser detectados.
2. También se ha evaluado la colonización de la cavidad oral humana por la mutación de *JH1001*, el cual triplica la actividad inhibidora. En este caso, en un solo régimen de infección por cinco minutos que implicaba el cepillado y el uso de hilo dental, aproximadamente 10<sup>11</sup> células sobre la superficie dentaria resultaron en una colonización persistente de los tres sujetos evaluados. En dos de estos sujetos, se registró reducción significativa (7 y 38 veces) en el número total de *S. mutans*. No se han observado cambios en los niveles de otras bacterias de la placa, tal como *S. sanguis*. Los resultados de este estudio indicaron que podría desarrollarse un régimen práctico y eficaz para la implantación de una cepa efectora para la terapia de reemplazo de caries dental en seres humanos.

3. Las mutaciones de *S. mutans* con defectos en el metabolismo intracelular de polisacáridos también han sido objeto de atención. Los estudios de Tanzer et al. han indicado la capacidad de dichas mutaciones de *S. mutans* para colonizar de manera preventiva los dientes de los animales experimentales.
4. Se ha estudiado una variante natural de *S. salivarius* llamada *TOVE-R*. Al igual que las cepas típicas de *S. salivarius*, *TOVER* es no cariogénico. Atípicamente, este coloniza preferentemente las superficies dentarias y produce placa muy similar al *S. mutans*. En la actualidad la base de la capacidad de *TOVE-R* para competir exitosamente con *S. mutans* es desconocida, pero podría estar relacionado con su capacidad para crecer más rápido in vitro en una serie de condiciones experimentales.
5. La actividad suplementaria del alcohol deshidrogenasa (ADH) puede complementar la deficiencia de LDH cuando se expresa en el mutante LDH sensible a la temperatura. <sup>(1)</sup>

Se ha reportado que la administración oral de anticuerpos contra *Streptococcus mutans* redujo la incidencia de caries. Los probióticos no modificados genéticamente pueden contribuir a la salud de individuos que sufren deficiencias enzimáticas cuando la conversión enzimática que se requiere es común al metabolismo de la bacteria. <sup>(22)</sup>

Los periodos de la acidificación de la placa y la desmineralización de los dientes normalmente son seguidos por fases de la alcalinización con un regreso a valores de pH más neutrales de la placa, lo cual promueve la remineralización en la superficie del diente. La ureolisis puede neutralizar los ácidos de la placa y puede influir positivamente en la placa evitando que el pH caiga a niveles selectivos de crecimiento de los microorganismos acidúricos y cariogénicos. <sup>(1)</sup>

La liberación de biosurfactantes por bacterias probióticas *in vivo* puede ser considerada como un arma de defensa contra otras cepas colonizadoras. <sup>(7)</sup>

La ineptitud de *Lactobacillus rhamnosus* GG de fermentar sacarosa o lactosa incrementa enormemente su potencial como alimento probiótico contra Estreptococos cariogénicos, particularmente si se combina con antígenos de IgG contra *Streptococcus mutans* o *Streptococcus sobrinus*.<sup>(9)</sup>

El mascar chicle que contiene probióticos demostró una reducción significativa de la caries temprana de la infancia después de la ingesta diaria de tabletas probióticas orales. El desarrollo de caries temprana de la infancia podría reducirse mediante la administración diaria de estas pastillas masticables probióticas como complemento al uso diario de pasta de dientes con flúor en niños de edad preescolar.<sup>(23)</sup>

La deficiencia de Lactato deshidrogenasa (LDH), se ha propuesto como un aspecto de una estrategia para construir una cepa efectora de *Streptococcus mutans* deficientes. La unión de glucan a lactina (GBL) juega un papel muy importante en la formación de biopelícula dental y la adherencia de *Streptococcus mutans* a la superficie de los dientes.

Se ha propuesto la deficiencia de LDH como aspecto de una estrategia para la construcción de una cepa efectora para la terapia de reemplazo de la caries dental. La deficiencia de LDH es letal en *Streptococcus mutans* en condiciones de cultivo.

La implantación dirigida de bacterias efectoras relativamente inofensivas conocidas por ser fuertemente competitivas con patógenos potenciales ofrece un medio rentable y de largo plazo para lograr una protección a medida del huésped contra infecciones bacterianas específicas.<sup>(4)</sup>

Se usaron métodos de recombinación de ADN para eliminar esencialmente todo el marco abierto de lectura (ORF, por sus siglas en inglés) para la deshidrogenasa del ácido láctico. Esta mutación creó un bloqueo metabólico que fue letal cuando se cambió por el alelo de tipo normal, pero se encontró que la sustitución de la ORF por LDH con la ORF para alcohol deshidrogenasa B de *Zymomonas mobilis* (anaerobio facultativo gram negativo) superó este bloqueo para dar origen a una cepa viable llamada *BCS3-L1* que produjo niveles de tipo normal de *mutacina 1140*. También, el análisis de los productos finales de la fermentación reveló que *BCS3-*



*L1* no producía ácido láctico detectable. Como se predijo en trabajos previos, la mayor parte del carbono metabolizado se convirtió en productos finales neutros, etanol y acetoina. Bajo diversas condiciones de cultivo, incluyendo el crecimiento en una variedad de azúcares y polioles, tales como sacarosa, fructosa, lactosa, manitol y sorbitol, la cepa *BCS3-L1* produjo valores finales de pH que eran de 0.4 a 1.2 unidades de pH superiores que las de la cepa madre *JH1140*. La capacidad de *BCS3-L1* para servir como una cepa efectora en la terapia de reemplazo de la caries dental fue ampliamente probada en el laboratorio y en modelos animales. La cepa demostró tener un potencial patógeno significativamente reducido. Se colonizó de forma preventiva y persistente el nicho en la superficie del diente normalmente ocupada por cepas de tipo normal de *S. mutans*. Fue genéticamente estable y no mostró ningún efecto adverso en estudios de toxicidad aguda o crónica. No se asociaron anomalías macro o microscópicas de los órganos principales con la colonización oral de ratas con la cepa *BCS3-L1* durante un período de seis meses. No ha sido purificada suficiente *mutacina 1140* para probar directamente su toxicidad. Sin embargo, se sabe que el antibiótico prototipo, la nisina, tiene una toxicidad extremadamente baja y se ha desarrollado y utilizado durante décadas como un conservador de los alimentos que generalmente se reconoce como seguro. Es concebible que la producción de mutacina por la cepa *BCS3-L1* y los productos de fermentación resultantes de la deficiencia de LDH podrían alterar la ecología de la placa y producir otro microorganismo con potencial patógeno. Los resultados indicaron que la aplicación diaria de la cepa *JH145*, una variante de origen natural LDH-deficiente de *S. rattus*, puede competir con *S. mutans* por su hábitat en la superficie dentaria, y *S. rattus JH145* tiene potencial como probiótico para uso en la prevención de la caries dental.

Posiblemente, la introducción de genes que producen amoníaco a partir de la urea en *Streptococos* orales puede crear cepas, que son más capaces de competir que la madre. En primer lugar, la urea puede difundirse a través de la membrana de modo que no se requiere energía para transportar este compuesto. Una vez separado, el amoníaco puede neutralizar el citoplasma elevando el pH intracelular y creando un requisito disminuido para que los organismos gasten ATP para extraer

los protones. Recientemente, también se ha encontrado que la bacteria oral ureolítica *A. naeslundii* puede usar eficientemente el amoníaco de la urea como una fuente de nitrógeno. La modulación del potencial generador de álcalis de la placa dental también puede tener un gran potencial porque no se dirige a agentes etiológicos particulares, y en su lugar, puede funcionar fomentando un ambiente oral ecológicamente saludable, que naturalmente controla la aparición de microorganismos patógenos.

El mantenimiento de la colonización de la cavidad oral por las cepas de *S. mutans* auxotróficas recombinantes de la invención se puede conseguir mediante la administración oral de una cantidad auxótrofa de mantenimiento de la sustancia orgánica para la cual la bacteria es auxotrófica.

En el caso de BCS3-L1, diseñada como una cepa efectora para la prevención de la caries dental, el evento adverso potencial más evidente es la adquisición de un gen de LDH de tipo nativo que restauraría la capacidad de la célula para producir ácido láctico. Tal evento ocurriría inicialmente en una célula entre los millones que están presentes en la boca. Si un revertante productor de ácido láctico tuviera una ventaja selectiva sobre la cepa efectora, el resultado final sería el crecimiento de una cepa productora de ácido láctico equivalente a la que ya está presente en la boca de los seres humanos. Por esta razón, se hicieron modificaciones adicionales a BCS3-L1 para crear AJ2M cuyo único propósito es realizar pruebas seguras en humanos.

Los experimentos deben proporcionar información valiosa respecto a la capacidad de utilizar bacterias orales manipuladas genéticamente, lo cual también puede conducir al desarrollo de cepas que podrían eventualmente resultar útiles para el control de la caries dental mediante una terapia de reemplazo. <sup>(1)</sup>

## 8. Características deseables de las cepas efectoras en la terapia de reemplazo

1. Reducir significativamente el potencial patógeno para promover la caries dental.
2. Colonizar persistentemente sitios con *Streptococcus mutans*, con la prevención de la colonización por las cepas que causan enfermedades siempre que el anfitrión entra en contacto con ellos.
3. Desplazar de manera agresiva cepas autónomas de *Streptococcus mutans* con la terapia de reemplazo.
4. Segura y evitar la susceptibilidad futura del huésped.
5. Activo contra patógenos diana y no abiertamente de microflora normal.
6. Original y capaz de sobrevivir en el hábitat seleccionado y/o ecosistema y no en otra parte.
7. No patógena (o al menos sólo débilmente oportunista) para el huésped.
8. Susceptibles a los antibióticos de bajo riesgo como la penicilina, por lo que la cepa más tarde puede ser eliminada, si se desea.
9. Fácil propagación, y preparación en una forma estable para la distribución comercial.
10. Fácil identificación entre la microflora residente.
11. No provocar toxicidad sistémica, ni sensibilización inmunológica en el huésped que conduce a la selección de microorganismos resistentes.
12. Capaces de persistir en los tejidos del huésped para lograr una producción a largo plazo. <sup>(1), (24)</sup>

Para la prevención de la caries dental, la cepa efectora ideal sería una bacteria no cariogénica, que está continuamente presente en la boca y compite con éxito con el *Streptococcus mutans*. Debería acumularse preferentemente en las superficies de los dientes, seguir creciendo rápidamente y soportar los cambios bruscos y amplios de pH. <sup>(1)</sup>

## 9. Bacterias probadas como efectoras posibles para la terapia de reemplazo para la prevención de caries dental.

### BACTERIAS PROBADAS COMO "EFECTORES" POSIBLES PARA LA TERAPIA DE REEMPLAZO

Especies efectoras inhibitorias - investigador:

- a. *S. mutans JH1000* y sus derivados *Mutacin 1140* - Hillman
- b. *L. rhamnosus GG* No definido - Nase
- c. *S. equi subsp. Zooepidemicus Zoocin A* - Simmonds
- d. *S. salivarius TOVE-R* No definido - Kurasz
- e. *E. faecalis Bacteriocin* - Gilmore. <sup>(1)</sup>

Los Lactobacilos podrían en algunos casos desempeñar un papel benéfico al inhibir el crecimiento de algunas bacterias patógenas orales, o su capacidad adhesiva, un importante factor patógeno que permite establecer el potencial benéfico de los probióticos para la salud. <sup>(5)</sup>

Entre los probióticos, cepas de *Lactobacillus rhamnosus GG* exhibieron los mayores valores de adherencia, comparables a los del colonizador temprano de los dientes, *Streptococcus sanguinis*. Sin embargo, se ha demostrado que solo unas pocas cepas de Lactobacilos participan en la caries, su progresión e invasión.

Se ha demostrado que las cepas de *Lactobacillus rhamnosus LGG* tienen un efecto inhibitor sobre el crecimiento de *Streptococcus sobrinus*, en una técnica de superposición de agar. Las cepas de *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei* y *Lactobacillus reuteri* no fermentan la sacarosa y las cepas probióticas son relativamente seguras en perspectiva con la prevención de la caries.

Se ha demostrado que los niños nacidos por vía vaginal son colonizados por bacterias cariogénicas más tarde en la vida, ya que están expuestos a las bacterias maternas y ambientales al nacimiento, en comparación con los nacidos por cesárea, lo cual puede ser el resultado de la competencia entre Lactobacilos y Estreptococos.

(6)

En realidad, la leche humana contiene frecuentemente pequeñas cantidades de bacterias no patógenas como Estreptococos, Micrococos, Lactobacilos, Estafilococos, Corynebacterias y Bifidobacterias. <sup>(14)</sup>

Las bacteriocinas son proteínas que matan representantes de una misma especie que el organismo productor, o especies relacionadas. El ácido láctico es el más fuerte de los productos finales del metabolismo ácido de los microorganismos orales, y su producción es catalizada por el lactato deshidrogenasa (LDH). Hillman, crea la hipótesis de que LDH *Streptococcus mutans* ha reducido el potencial cariogénico y que podrían ser cepas efectoras útiles para la terapia de reemplazo de caries dental. Sin embargo, a altas concentraciones de azúcar, los niveles de actividad de estas enzimas son aparentemente insuficientes para compensar la ausencia de LDH. La cepa JH1140 es un derivado de *Streptococcus mutans*, que es una cepa aislada de la saliva de un sujeto humano. Produce naturalmente un antibiótico llamado mutacina 1140 que es capaz de matar a todas las demás especies de *Streptococcus mutans* probadas hasta la fecha, lo que le da una ventaja selectiva en la colonización, como se ha demostrado tanto en modelos animales como en seres humanos. Los estudios clínicos han indicado que las bacterias con efectos probióticos establecidos (Lactobacilos y Bifidobacterias) tienen alguna promesa para la prevención de caries.

Las bacterias ureolíticas recombinantes pueden acceder a una fuente de nitrógeno disponible para otras bacterias bucales. Las bacterias productoras de amoníaco no solo deben ser menos cariogénicas, sino que también podrían disminuir el potencial general cariogénico de la placa dental. El amoníaco liberado por ureolisis puede promover la remineralización del esmalte dental.

Un auxótrofo es una bacteria que requiere una fuente de una sustancia orgánica específica, además de una fuente de carbono para crecer. <sup>(1)</sup>

Las bacterias productoras de ácido láctico se conocen como GRAS, que pertenecen a una familia importante de proteínas específicas de los vegetales, que a su vez se dividen en tres: Gibberellic – Insensible a los ácidos (GAI), Represor de GAI (RGA) y SCARECRON (SCR). Las proteínas salivales tales como lisozima, lactoferrina, peroxidasa salival y secretoras IgA pueden afectar colectivamente la viabilidad o la morfología de la superficie celular de las especies probióticas. La actividad de adhesión y metabólica de ellos posteriormente se verá afectada.

Las especies de Lactobacilos y Bifidobacteria pueden ejercer efectos benéficos en la cavidad oral por la inhibición de Estreptococos cariogénicos y *Cándida*.

Entre las cepas de probióticos, *Lactobacillus rhamnosus GG* exhibió los valores máximos de adhesión, comparables a los del colonizador prematuro de dientes *Streptococcus sanguis*.

La producción de sustancias antimicrobianas:

- ✓ Ácidos orgánicos.
- ✓ Peróxido de hidrógeno.
- ✓ Peróxido de carbono.
- ✓ Diacetilo.
- ✓ Biosurfactantes.
- ✓ Bacteriocinas.

Los probióticos (Lactobacilos) podrían hidrolizar proteínas, estimular el crecimiento de Estreptococos, que son bacterias acidógenas y producen condiciones de bajo pH en el ambiente oral, en estudios recientes se afirmó que los probióticos podrían disminuir el riesgo de más alto nivel de *Streptococcus mutans* o podría aumentar el recuento de Lactobacilos salivales, mientras que los niveles de *Streptococcus mutans* no se modificaron. La reducción de la adherencia de *Streptococcus mutans* fue significativamente más fuerte en el caso de los *Lactobacillus acidophilus* y los

*Lactobacillus rhamnosus*, mientras que en el otro estudio mostró que *Lactobacillus fermentum* presentaron una reducción en la adherencia de los *Streptococcus mutans*. Los *Lactobacillus lactis* NCC2211 fueron capaces de modificar la extensión de las especies orales dentro de la biopelícula y también capaces de reducir los niveles de bacterias cariogénicas. También se ha observado que la cepa de *Lactobacillus rhamnosus* CG reduce la caries en niños de preescolar. Los Lactobacilos, como probióticos (debido a su conocido potencial probiótico y su resistencia a los ácidos y la tolerancia a la sal biliar), se cree que interfieren con patógenos por diferentes mecanismos y uno de sus mecanismos es la producción de biosurfactante. Los Lactobacilos en la prevención de caries parecen favorables cuando las cepas de los probióticos son bien seleccionadas. <sup>(7)</sup>

Las principales especies con actividad probiótica y terapéutica que se están utilizando y que mejor se conocen son los *Lactobacilos* cepa GG.

Microorganismos probióticos:

- *Lactobacillus acidophilus*.
- *Lactobacillus casei* Shirota.
- *Lactobacillus fermentum*.
- *Lactobacillus casei*.
- *Lactobacillus crispatus*.
- *Lactobacillus reuteri*.
- *Lactobacillus rhamnosus*.
- *Lactobacillus plantarum*.
- *Lactobacillus bulgaricus*.
- *Lactobacillus cellobiosus*.
- *Lactobacillus curvatus*.
- *Lactobacillus lactis cremoris*.
- ***Lactobacillus GG***.
- *Bifidobacterias*.
- *Bifidobacterium longum*.
- *Bifidobacterium adolescentis*.

- *Bifidobacteria animalis.*
- *Bifidobacteria infantis.*
- *Bifidobacteria bifidum.*
- *Streptococcus salivaris.*
- *Streptococcus faecium.*
- *Streptococcus diacetylactis.*
- *Streptococcus intermedius.*
- *Saccharomyces boulardii.*

Los probióticos bucales que han demostrado acciones alentadoras en la prevención de caries dental son: el *Streptococcus salivarius* (cepa K12), *Lactobacillus salivarius* BGH01, *Lactobacillus gasseri* BGH089, *Streptococcus sanguinis* y *Streptococcus oligofermentans*.

Especies aisladas como el *Lactobacillus salivarius* BGH01 y *Lactobacillus gasseri* BGH089 muestran acción antagónica en el crecimiento de especies como los *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus neumoniae* y *Streptococcus mutans* además de una tolerancia a un pH bajo por lo que podrían ser sometidos a nuevas investigaciones como cepas con potencial probiótico. El *Streptococcus olifermentans* tiene un efecto inhibitorio sobre el *Streptococcus mutans*, que produce al igual que el *Streptococcus sanguis* cantidades apreciables de peróxido de hidrógeno, a partir del ácido láctico secretado por el *Streptococcus mutans*, inhibiéndolo. Parece que bacterias aisladas directamente de la microbiota bucal, como el *Streptococcus salivarius*, pueden servir para colonizar la boca. <sup>(9)</sup>

Los efectos de los probióticos como la *Weissella cibaria* pueden también controlar la halitosis disminuyendo los niveles de componentes volátiles de sulfatos debido a la presumible producción de peróxido de hidrógeno. <sup>(20)</sup>

Se ha informado que los Lactobacilos en los probióticos y en la alimentación industrial y artesanal, así como en la fermentación de los productos lácteos, influyen en las respuestas inmunitarias, la nutrición y el bienestar general. El PTA 5289 (aislado de la cavidad oral humana) es otro Lactobacilo probiótico bien documentado, el *Lactobacillus reuteri* se caracteriza particularmente por sus



propiedades inmunosupresoras, como la supresión de la producción de factor de necrosis tumoral (TNF) por Liposacárido (LPS) activado de células monocitoides. Además, el *Lactobacillus reuteri* PTA 5289 puede adherirse a las células intestinales humanas y unirse a hidroxapatita cubierta con saliva *in vitro* (un modelo para el esmalte de los dientes).<sup>(13)</sup>

Los Lactobacilos colonizan la cavidad oral, la acción probiótica de varias especies de Lactobacilos y cepas se ha asociado con la reducción de enfermedades inflamatorias crónicas y la regulación del peso. Los Lactobacilos pueden causar caries dental ya que se caracterizan por ser altamente acidógenos y tolerantes al ácido y se detectan con frecuencia en lesiones cariosas profundas. Sin embargo, estudios recientes sugieren un papel benéfico adicional para Lactobacilos orales. Se encontró que las cepas de *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus rhamnosus* de sujetos sin caries inhiben el crecimiento *in vitro* en cepas de laboratorio y algunas especies cariogénicas aisladas clínicamente de las *Streptococcus mutans* y *Streptococcus sobrinus*, más eficazmente que las cepas de Lactobacilos aislados de sujetos con caries activas. Además, en los niños preescolares los *Lactobacillus acidophilus oral* se asociaron con la carencia de caries.

*Lactobacillus gasseri* fueron identificados como la especie dominante de Lactobacilos en las cavidades bucales de los niños de cuatro meses de edad. Los *Lactobacillus gasseri* pertenecen a los Lactobacilos acidófilos complejos, que incluyen *Lactobacillus acidófilos*, *Lactobacillus amylovorus*, *Lactobacillus crispatus*, *Lactobacillus gallinarum* y *Lactobacillus johnsonii*. Las cepas pertenecientes a los *Lactobacillus gasseri* han sido estudiadas para la adhesión a las células epiteliales, inhibición del crecimiento, la sustitución o la inhibición de la unión de patógenos y la inmunomodulación.

*Lactobacillus gasseri* salival demostró varios rasgos probióticos incluyendo: la unión a las células epiteliales gingivales humanas HGEp.05 y la saliva, la inhibición del crecimiento de varias especies orales y la reducción de la unión de *Streptococcus mutans* cariogénicos a la saliva. La detección de *Lactobacillus gasseri* en la saliva

de los lactantes incluye: individualidad en el bloqueo del sitio de adhesión en *Lactobacillus gasseri*, y la variación fenotípica del huésped receptor. <sup>(8)</sup>

Los probióticos más conocidos y más utilizados en la bacterioterapia son: *Lactobacillus plantarum* 299, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus Gorbach Goldin* (LGG) y *Bifidobacterium*. <sup>(10)</sup>

La fermentación de sacarosa y glucosa por *Lactobacillus reuteri* PTA 5289 dio como resultado una disminución del pH, mientras que la fermentación de fructosa provocó un menor aumento de pH, el azúcar escogido para la fermentación tiene un fuerte impacto en la producción de ácido láctico de *Lactobacillus reuteri*. <sup>(21)</sup>

Estudios clínicos han confirmado que los Lactobacilos probióticos pueden reducir el número de *Streptococcus salivarius mutans* tras la ingestión de *Lactobacillus rhamnosus* GG, especies de Lactobacilos naturales como *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum* y *Lactobacillus rhamnosus*, pueden inhibir *in vitro* el crecimiento de cepas de laboratorio de *Streptococcus mutans*, así como los *Streptococcus mutans* autólogos del sujeto. Con la excepción del *Lactobacillus acidophilus*, las cepas probióticas presentes mostraron fuertes capacidades inhibitoras tanto contra las cepas de referencia como a los aislados de *Streptococcus orales mutans*. <sup>(25)</sup>

LDH puede afectar la producción de ácido por *Streptococcus mutans* con el fin de reducir su cariogenicidad. <sup>(4)</sup>

La administración de *Lactobacillus rhamnosus* GG redujo el riesgo de caries y el desarrollo de caries inicial. <sup>(12)</sup>

El *Streptococcus mutans* no causa la enfermedad en sí, sino que más bien coloniza persistentemente los tejidos del huésped, que son susceptibles a la infección por un patógeno en particular. En virtud de su presencia, debe ser de alguna manera capaz de prevenir la infección por ese patógeno cada vez que el huésped está expuesto a ella. Una "cepa recombinante de *Streptococcus mutans*" es una cepa de *S. mutans* que no se produce de forma natural, que se ha generado usando cualquier variedad

de técnicas de ácido nucleico recombinante (es decir, técnicas que implican la manipulación de ADN o ARN).

Un ejemplo de tal cepa es *S. salivarius TOVE-R* (una variante de colonia rugosa de la cepa *TOVE-S*), que preferentemente coloniza las superficies dentarias en lugar de la lengua. La cepa *TOVE-R* mostró una capacidad de crecimiento más rápida que la de *Streptococcus mutans* y cuando se administró oralmente a las ratas, pronto se hizo prominente en la placa dental de los animales y provocó una reducción en los niveles de *Streptococcus mutans* y caries dental.

Una variedad de bacterias, incluyendo *S. sanguis*, es capaz de utilizar arginina catabólica a través del sistema de arginina desaminasa (AD).

Estudios han demostrado que la arginina y los compuestos que contienen arginina son mucho más efectivos que otros aminoácidos o péptidos para inhibir la caída del pH posterior a un consumo de azúcar y al desencadenar un aumento subsecuente del pH.

En la superficie de *S. mutans*, existe una especie de GBL (Gama butirolactona) que podría agrupar a las bacterias uniendo los enlaces  $\alpha$ -1, 6 glucosídicos. <sup>(1)</sup>

## 10. Administración

Las dosis específicas pueden variar ampliamente según diversas variables del paciente, incluyendo el tamaño, peso, edad, gravedad de la enfermedad y capacidad de respuesta a la terapia. El número de *Streptococcus mutans recombinantes* administrado al paciente variará aproximadamente de 10 a 14 bacterias. En general, las cepas de *Streptococcus mutans recombinante* solo necesitan administrarse al paciente una sola vez.

La cantidad de *Streptococcus mutans recombinante* administrada al paciente será una cantidad eficaz para la sustitución de las cepas de *Streptococcus mutans* que causan caries dental en la cavidad oral del huésped, “Una cantidad eficaz para la sustitución de las cepas de *Streptococcus mutans* causantes de caries dentales en la cavidad oral del huésped” significa una cantidad eficaz para la colonización de la cavidad oral por la cepa recombinante de *Streptococcus mutans*, y la eliminación del residente productor de ácido láctico, cepas de *Streptococcus mutans* que produce caries dental (por ejemplo, por la competencia entre las bacterias por los nutrientes y/o la producción de una bacteriocina por la cepa recombinante de los *Streptococcus mutans*).<sup>(1)</sup>

En octubre de 2001 y posteriormente en mayo de 2002 expertos pertenecientes a la FAO y la OMS se reunieron con el objeto de establecer unas recomendaciones para la evaluación de los probióticos en los alimentos. Los acuerdos más importantes a los que se llegó en las reuniones de consenso fueron las siguientes:

1. Redefinición de los probióticos como microorganismos vivos que, consumidos en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud del hospedero, omitiendo la necesidad de formar parte de la dieta.
2. Definición de género/especie/cepa: La nomenclatura de los probióticos debe seguir las indicaciones actuales de taxonomía y en ningún caso adoptar nombres antiguos ni otros que puedan llevar a confusión.
3. Pruebas *in vitro*: Deben ser corroboradas mediante estudios *in vivo* en ensayos clínicos. Las pruebas *in vitro* utilizadas actualmente son la

resistencia a la acidez gástrica, la resistencia a los ácidos biliares, la adherencia a las líneas celulares humanas, la actividad antimicrobiana frente a otros microorganismos, la habilidad para reducir la adhesión de microorganismos patógenos, la actividad hidrolásica de las sales biliares y la resistencia frente a los espermicidas (en aquellos probióticos de uso vaginal).

4. Consideraciones de Bioseguridad: Ausencia de resistencia a los antimicrobianos, la ausencia de efectos secundarios en estudios humanos y la ausencia de factores de virulencia.
5. Estudios *in vivo* (animales y humanos).
6. Recomendaciones de comercialización: Información necesaria al etiquetado del probiótico: designación de género, especie y cepa, número mínimo de microorganismos viables al final de la vida media, dosis efectiva, efectos benéficos para la salud, condiciones de almacenamiento apropiadas y teléfono de contacto de información del consumidor. <sup>(12)</sup>

Los probióticos *Lactobacillus plantarum* 299, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus Gorbach Goldin* (LGG) y *Bifidobacterium* han sido catalogados dentro del grupo de alimentos funcionales. Los alimentos funcionales son aquellos que poseen no solo características nutricionales sino también cumplen una función específica como puede ser el mejorar la salud y reducir el riesgo de contraer enfermedades. <sup>(10)</sup>

El queso ha demostrado tener efecto positivo sobre la salud dental. Comer queso mejora la remineralización, y evita la desmineralización del esmalte. La masticación del queso activa la secreción salival que es conocida para proteger los dientes de la caries durante la masticación, ya que el calcio y fósforo son liberadores de flúor. <sup>(19)</sup>

El consumo de Yogurt con *Lactobacillus reuteri* durante un periodo de 2 semanas redujo la concentración de *Streptococcus mutans* en la saliva hasta un 80%. <sup>(7)</sup>

Las cepas de *S. mutans* recombinantes de la invención pueden administrarse por vía oral de diversas maneras. Por ejemplo, las cepas recombinantes de *S. mutans* pueden administrarse en una de las siguientes formas:

1. Como un cultivo concentrado (suspensión) agregado a alguna bebida (jugo de frutas).
2. Inoculado dentro de fibras prebióticas.
3. Inoculado dentro de alimentos lácteos (leche, yogurt, queso).
4. Como suplementos dietéticos de células secas (polvos liofilizados, cápsulas, tabletas masticables, píldoras).
5. Fórmulas de liberación sostenida (por ejemplo, un implante oral que contiene la cepa de *S. mutans* recombinante) Las cepas recombinantes de *S. mutans* también pueden administrarse por aplicación directa de un liofilizado, cultivo o pasta de células a los dientes del paciente. <sup>(1), (10)</sup>

Cualquier modo de administración es adecuado mientras que la composición terapéutica se ha aplicado a la cavidad oral. Preferentemente, el *S. mutans* recombinante es administrado aplicando una suspensión de células bacterianas directamente a los dientes del paciente, por ejemplo, por cepillado y uso del hilo dental. <sup>(1)</sup>

En la salud oral la administración de leche con el probiótico *Lactobacillus rhamnosus Gorbach Goldin* en niños de 1 – 6 años de edad, reducía el riesgo de caries y el desarrollo inicial de estas lesiones en este grupo de infantes, el consumo de queso que contiene *Lactobacillus rhamnosus Gorbach Goldin* y *Lactobacillus rhamnosus LC 705* disminuyó el recuento salival de *Streptococcus mutans*. También se ha encontrado que la administración oral de probióticos, tanto en cápsulas como en forma líquida incrementa significativamente el recuento salival de Lactobacilos, mientras que la población de *Streptococcus mutans* no fue significativamente modificada. <sup>(10)</sup>

Las dosificaciones apropiadas también se pueden estimar a partir de las dosificaciones encontradas como apropiadas para la colonización de la cavidad oral humana por la cepa *S. mutans JH1000* productora de bacteriocina y sus variantes que expresan niveles variables de actividad de la bacteriocina.

Pueden administrarse dosis múltiples de las cepas de *S. mutans* recombinantes para lograr la colonización de la cavidad oral y la sustitución de las cepas residentes de *S. mutans* causantes de caries dentales del huésped.

Cuando *S. mutans* recombinante es auxotrófico para la D-alanina, la "cantidad de mantenimiento de auxotróficos bacterianos de D-alanina" es una cantidad de D-alanina suficiente para la supervivencia de la cepa auxotrófica de D-alanina en la cavidad oral del huésped. En general, una dosis única de una cantidad de mantenimiento auxotrófico bacteriano de D-alanina contiene aproximadamente 1 mg a 100 mg, preferentemente de 5 mg a 75 mg, más preferentemente de 10 mg a 50 mg, incluso más preferentemente de 20 mg a 25 mg de D - alanina. La concentración de D-alanina en la composición farmacéutica en la forma de una solución oscila entre aproximadamente 0.01 mg / ml y 167 mg / ml (siendo esta última una solución saturada de D-alanina en agua a 25 ° C), preferentemente de 0.1 mg / ml a 50 mg / ml, más preferentemente de 1 mg / ml a 25 mg / ml. Las concentraciones de D-alanina en la composición farmacéutica pueden variar de acuerdo al portador usado y el punto de saturación de la D-alanina en ese vehículo específico. D-alanina, u otro sustrato orgánico apropiado, se administra generalmente al menos una vez por semana, preferiblemente al menos una vez al día, más preferiblemente al menos dos veces al día, y puede administrarse como parte de la atención dental rutinaria del paciente, por ejemplo, como componente de una pasta de dientes, hilo dental o enjuague bucal.

El término "dosis unitaria" cuando se usa en referencia a una composición farmacéutica de la presente invención se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosis unitaria para el sujeto, conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de material activo (por ejemplo, *S. mutans* recombinante viables) calculado para producir el efecto terapéutico deseado en conjunto con el diluyente requerido; es decir, transportador o vehículo.

La sustancia orgánica necesaria para el mantenimiento del auxotrófico *S. mutans* recombinante en la cavidad oral puede formularse de diversas maneras. Por ejemplo, cuando el *S. mutans* recombinante es auxotrófico para la D-alanina, la

composición para el mantenimiento del auxótrofo de D-alanina puede formularse como un enjuague bucal, goma de mascar, hilo dental, pasta dentífrica, tableta masticable o cualquier otra fórmula adecuada para administración oral a la cavidad oral del huésped. Además de la sustancia orgánica (por ejemplo, D-alanina), la composición puede contener adicionalmente agentes saborizantes, agentes colorantes, fragancias u otros compuestos los cuales aumentan la palatabilidad de la composición y / o aumentan el confort del paciente sin comprometer la eficacia de la sustancia orgánica contenida en la composición. <sup>(1)</sup>



## 11. Nuevos enfoques

Puede deducirse que, si las bacterias no cariogénicas colonizan la cavidad oral a principios de la vida, podría resultar en un efecto benéfico a largo plazo. La colonización a una edad temprana puede prevenir la caries en niños, por lo tanto, es importante tomarlo en consideración en la odontología pediátrica. <sup>(6)</sup>

En general, la bacteremia comienza a aparecer en las heces dentro de unas pocas horas después del nacimiento. El *Enterobacter* y los *Streptococos* se desarrollan en los primeros días de vida. La cesárea puede provocar un aumento de *Clostridium* y la disminución de *Bifidobacterias*. Se ha de señalar que los recién nacidos por vía vaginal (tanto los bebés alimentados con leche materna y lactantes alimentados con fórmula) tienen un patrón similar de colonización bacteriana a las 48 horas de edad. En bebés amamantados de un mes se encontró que tenían *Bifidobacterias* con predominio de la colonización, mientras los lactantes alimentados con fórmula tienen igualdad de la colonización con *Bacteroides* y especies de *bifidobacterias*. <sup>(14)</sup>

La idea de los efectos benéficos de los probióticos se basa en el conocimiento de que la flora bacteriana puede proteger a los humanos contra la infección y la interrupción de esta flora bacteriana puede mejorar su susceptibilidad a dicha infección.

También se ha observado que los sujetos libres de caries son colonizados por *Lactobacilos* que poseen un potencial significativamente aumentado para suprimir el crecimiento de *Streptococcus mutans* en comparación con sujetos que padecen caries activa o detenida. <sup>(7)</sup>

Los científicos han descubierto que los niveles de *Streptococcus mutans* dentro de la placa dentobacteriana son inversamente proporcionales a los *Streptococcus sanguis* y que éste puede inhibir el crecimiento de *Streptococcus mutans*, ya que produce peróxido de hidrógeno. <sup>(9)</sup>

Los componentes dominantes en la leche son los lípidos, la lactosa, los oligosacáridos y las proteínas, y la principal fuente de energía en la leche son los triglicéridos y otras grasas. <sup>(8)</sup>

Los Lactobacilos son altamente acidogénicos y ácidos, pero se encuentran principalmente en las lesiones cariosas profundas y, por lo tanto, no se considera que estén implicados en el inicio de la lesión de caries. <sup>(21)</sup>

Otro estudio mostró que la administración de probióticos redujo la colonización por *Streptococcus mutans*, microorganismo relacionado con la producción de caries dental. <sup>(12)</sup>

La intención de la terapia de reemplazo moderna, como se aplica a las enfermedades causadas por los microorganismos nativos, es acelerar mucho este proceso evolutivo natural. Mediante un estudio cuidadoso del patógeno, puede ser posible identificar y modificar algunos de sus genes para crear una cepa efectora en un lapso de tiempo relativamente corto que presagia el clímax del organismo naturalmente seleccionado por la evolución. El campo de la terapia de reemplazo para prevenir la caries dental se ha centrado en aislar cepas efectoras con menor potencial acidogénico.

J.D. Hillman y otros estudiaron la capacidad de las aplicaciones diarias de *Streptococcus rattus* cepa la *JH145* para afectar el número de una cepa *S. mutans* implantada en un modelo de rata. Se aisló una mutación espontánea de L (+) - lactato deshidrogenasa, LDH-deficiente de *Streptococcus rattus*, *JH146*, mediante rastreo en un medio selectivo y se comparó con una cepa espontánea previamente aislada de LDH-deficiente, *JH145*. Se demostró que ambas cepas tenían mutaciones por delección de un solo par de bases en el gen estructural (LDH), y las frecuencias de reversión eran aproximadamente las mismas. Los animales tratados una vez al día con más de 10<sup>6</sup> CFU (unidades formadoras de colonias, por sus siglas en inglés) de *JH145* mostraron una disminución estadísticamente significativa en la proporción de *S. mutans* implantado del total de bacterias cultivables en muestras orales tomadas con isopo. La tasa de disminución de los niveles de *S. mutans* fue dosis-dependiente. No se observaron efectos adversos en la vida

cotidiana de los animales tratados, y los análisis histopatológicos, hematológicos y de química sanguínea no mostraron cambios notorios.

La urea se secreta continuamente en el intervalo de 3 a 10 mM en saliva y fluidos creviculares de individuos sanos y rápidamente es hidrolizada por las enzimas ureasa de la microflora oral. Los datos existentes apoyan indirectamente un papel importante para la ureólisis en la homeostasis del pH de la placa. Las concentraciones elevadas de urea y amoníaco en saliva están correlacionadas con reducciones marcadas en la extensión y duración de la acidificación de la placa después de la ingesta de carbohidratos.

Dentro de los nuevos enfoques, también encontramos la producción de cepas de *S. Mutans* auxotróficas y recombinantes, en el caso de que se convierta en deseable liberar al huésped del *S. mutans* recombinante que coloniza la cavidad oral, la cepa de *S. mutans* recombinante infectante es preferiblemente un auxótrofo. Los auxótrofos a menudo pueden persistir (es decir, sobrevivir sin crecimiento) durante un corto período en ausencia de la sustancia orgánica requerida, el mantenimiento de la colonización auxotrófica requiere suplementos periódicos de dicha sustancia orgánica. Por ejemplo, las bacterias auxotróficas de D-alanina requieren suplementos periódicos de D-alanina para crecer y mantener la colonización de un nicho, tal como la cavidad oral. Debido a que los mamíferos no producen normalmente D-aminoácidos y la D-alanina normalmente no es secretada por organismos de la flora normal, la D-alanina no puede ser adquirida por un auxotrófico de D-alanina del medio normal de la cavidad oral del huésped. Por lo tanto, el uso de auxótrofos en el método terapéutico de la invención proporciona la ventaja de que la colonización oral por el *S. mutans* recombinante puede ser interrumpida mediante la retención del suplemento orgánico específico, por ejemplo, el suplemento de D-alanina.

Los auxótrofos bacterianos pueden ser generados usando una variedad de técnicas bien conocidas en la literatura, tales como mutagénesis química, selección de mutantes espontáneos y / o técnicas recombinantes (por ejemplo, mutagénesis de transposón, reemplazo por recombinación con un gen defectuoso o no funcional).

Preferentemente, las cepas auxotróficas de *S. mutans* se generan por selección de mutantes espontáneos, o por métodos recombinantes (por ejemplo, introducción de un defecto en una vía sintética para un D-aminoácido). De preferencia, las cepas auxotróficas de *S. mutans* de D-alanina se generan mediante la introducción de un defecto en el gen que codifica la alanina racemasa, la enzima que convierte la L-alanina en D-alanina.

Una "cantidad de mantenimiento auxotrófico bacteriano" es una cantidad de una sustancia orgánica suficiente para mantener la viabilidad de la bacteria auxótrofa en cavidad oral.

Las composiciones farmacéuticas formuladas para la administración oral de las cepas recombinantes de *S. mutans* deben de mantenerse en la cavidad oral, debe desarrollarse dentro de las características intrínsecas de la cavidad oral y de cualquier flora bacteriana que colonice la cavidad oral.

Aunque los mutantes que presentan defectos en la síntesis de glucano han reducido la cariogenicidad en los modelos animales, es poco probable que compitan con éxito con las cepas de síntesis de glucano para los sitios de colonización de la placa.

Por lo tanto, Sun JH y otros presumían que *S. mutans*-LDH deficiente, alberga una mutación por supresión de inserción en el gen *gcrR* que puede dar como resultado una sobreexpresión de GBL y una mayor adherencia a los dientes que el *S. mutans* nativo, el cual poseerá tanto la más baja producción de ácido como un fuerte potencial de colonización. <sup>(1)</sup>

Cabe resaltar que las infecciones orales constituyen algunas de las más comunes y costosas infecciones en los seres humanos. <sup>(4)</sup>

## 12. Investigación actual

Se ha confirmado que los sujetos resistentes a caries tienen valores de pH de placa en reposo más alcalinos que los individuos susceptibles a caries y han correlacionado esto, en parte, con concentraciones aumentadas de amonio en la placa. <sup>(1)</sup>

También se ha demostrado que las bacterias probióticas pueden estimular la inmunidad local y modular la respuesta inflamatoria.

En el campo de la inmunología oral, los probióticos están siendo utilizados como vehículos locales de inmunización contra la caries dental. La reducción de la adhesión puede ser una manera eficaz en la disminución del potencial cariogénico de *Streptococcus* orales y toda evidencia ha demostrado que las bacterias probióticas, como *Lactobacilos* pueden afectar la ecología oral. <sup>(7)</sup>

La cavidad bucal tiene una microflora con una complejidad similar al resto de la microflora intestinal, aunque el uso de Probióticos intestinales es aún controversial, éxitos similares se han encontrado con el uso de probióticos bucales para prevenir la caries dental, la formación de placa y la halitosis por medio de especies como el *Streptococcus salivarius*. Existen algunos intentos de usar bacterias derivadas del intestino, como los *Lactobacilos*, como probióticos en la cavidad bucal. <sup>(9)</sup>

Actualmente existe un probiótico (ProBiora3, que se describe posteriormente en el capítulo 16) para uso odontológico que es un producto para la higiene bucal que combate la placa dental, la gingivitis y las bacterias cariogénicas mediante la combinación patentada de dos cepas de *Lactobacillus reuteri* llamada “*reutirina*”, que en suficiente cantidad causa el efecto antimicrobiano deseado para mantener la microbiota, está recomendado tanto en niños como en adultos para una higiene bucal óptima, para personas que estén atravesando momentos de mucho estrés y agitación, o para quienes tengan un riesgo elevado de problemas periodontales como embarazadas, diabéticos, fumadores o ancianos, y para personas que toman

medicamentos que aumentan la sensibilidad de las encías como los anticonceptivos orales o los antihistamínicos. <sup>(18)</sup>

Las mutaciones de LDH-deficientes de *S. mutans* produjeron aproximadamente la mitad de ácido en solución que las producidas por sus precursores cuando crecieron en un caldo de cultivo que contenía exceso de glucosa. Ratas libres de gérmenes infectadas con un mutante LDH-deficiente y alimentadas durante 14 semanas con una dieta con alto contenido de sacarosa, tuvieron una incidencia y severidad de lesiones cariosas 90% menor, en comparación con los de los animales infectados con la cepa madre. Se encontró que el mutante colonizaba los dientes de los animales en la misma extensión que la cepa madre. Por lo tanto, la diferencia en el potencial cariogénico entre la cepa madre y el mutante podría atribuirse únicamente a las diferencias en la producción de ácido.

Se pueden desarrollar probióticos modificados genéticamente con propiedades mejoradas ("probióticos de diseño"). Por ejemplo, una cepa recombinante de *Lactobacilos* que expresaba anticuerpos dirigidos a las principales adhesiones de *S. mutans* (antígeno I / II) fue capaz de reducir tanto los recuentos viables de *S. mutans* como el índice de caries en un modelo de rata.

Recientemente, la atención se ha centrado en el concepto de que el desarrollo de la placa cariogénica podría resultar no sólo de la amplia acidificación de la placa dental sino también de una disminución de la capacidad de generación de álcalis de las biopelículas orales que colonizan una lesión cariosa. También, reforzando este concepto es la demostración de que los individuos con baja capacidad ureolítica salival tienen una marcada disminución de la capacidad para producir la acidificación glicolítica. Más recientemente, cepas de *Streptococcus mutans* recombinadas portadoras de genes de ureasa plasmídica fueron usadas *in vitro* para demostrar directamente que los niveles de ureasa comúnmente encontrados en placa sana son suficientes para compensar la caída de pH utilizando fisiológicamente niveles relevantes de urea, incluso en presencia de un exceso 10 veces mayor de la concentración molar de glucosa. Es importante destacar que la capacidad ureolítica de la placa dental dentro de una lesión cariosa y la prevalencia

de bacterias generadoras de álcalis después de la acidificación sostenida de la placa dental aún permanece inexplorada.

Cuando la cepa de *S. mutans* recombinante es un auxótrofo, la colonización de la cepa debe mantenerse mediante la administración de una composición que contiene la sustancia orgánica apropiada. Por ejemplo, cuando la cepa de *S. mutans* recombinante es un auxótrofo de D-alanina, se debe administrar D-alanina para la colonización persistente de la cavidad oral.

Es importante resaltar los siguientes aspectos:

1. La cepa BCS3-L1 forma más placa cuando se cultiva *in vitro* en presencia de sacarosa en comparación con la cepa JH1140, probablemente reflejando un efecto relacionado con el pH sobre la actividad de la glucosil transferasa. Sin embargo, no se prevé que se produzcan pequeños aumentos en la formación de glucano *in situ* que resulten en una formación significativamente mayor de placa y la enfermedad asociada a la placa (P. Ej., Gingivitis).
2. Aunque la reversión de la producción de LDH (que resulta en una cepa cariogénica fuertemente competitiva) posterior a la transformación natural de la cepa efectora se considera improbable, esto constituye una objeción potencial para la implantación de mutantes de LDH. La ingeniería adicional de la cepa BSC3-L1 (supresión de comE) se está llevando a cabo actualmente para paralizar su capacidad de transformación.
3. La toxicidad de mutacin 1140 aún no ha sido probada directamente, pero la molécula es ampliamente similar a la nisina lantibiótica, que ha sido ampliamente utilizada como conservante durante décadas. Además, no se han detectado lesiones relacionadas con el tratamiento en los órganos de ratas colonizadas con productores de mutacina 1140.
4. La potente salida de la mutacina y el perfil de fermentación diferente de la cepa BCS3-L1 podrían alterar la ecología de la placa y dar lugar a la proliferación de organismos con potencial patogénico. Sin embargo, es interesante que los estudios iniciales de colonización con cepas productoras de mutacina 1140 indicaron una

aparentemente alta actividad inhibidora específica de la mutacina *in situ*. Se reportó de la exclusión de otro *S. mutans*, con poca o ninguna otra modificación detectable de la composición total y el equilibrio de la microbiota de placa de los sujetos estudiados. Esta alta especificidad contrasta dramáticamente con el amplio espectro de actividad de la mutacina 1140 cuando es probada *in vitro*. Dichos hallazgos indican que las bacterias productoras de BLIS no eliminan necesariamente todos los cohabitantes sensibles en ecosistemas complejos, como la placa dental. Es de suponer que los distintos microhábitats que se encuentran dentro de los biofilms complejos y los diferentes estados de crecimiento fisiológico de los habitantes permiten que los miembros individuales de las poblaciones heterogéneas coexistan, a pesar de las incompatibilidades que podrían mostrar en ambientes más homogéneos como los laboratorios de cultivo. <sup>(1)</sup>



### 13. Beneficios de la terapia de reemplazo

Los microorganismos probióticos pueden desarrollar un papel importante en la salud bucal, si son capaces de incorporarse a la película adquirida y crecer junto a la microbiota autónoma de la placa bacteriana o biofilm, a la vez que disminuye la colonización de microorganismos patógenos, además de poder estimular una respuesta positiva del sistema inmunológico. <sup>(18)</sup>

Un estudio de seguimiento de la caries dental durante dos años de administración de probiótico (*LGG*) en niños preescolares (1 a 6 años de edad) mostró la reducción de los recuentos de *Streptococcus mutans*, de caries y el riesgo de caries iniciales. El efecto fue particularmente más entre los 3 y 4 años de edad. Esto podría atribuirse a la “ventana de inactividad” en los niños. <sup>(6)</sup>

El aumento de la producción de base en la placa dental no sólo reduce las caries superficiales lisas sino también en las superficies del surco dental.

Una clara ventaja de que las bacterias de la placa productoras de amoníaco tienen otros enfoques es que pueden modificar favorablemente la ecología de la placa supragingival fomentando un ambiente que inhibe la aparición de flora cariogénica en lugar de dirigirse a un agente patógeno específico o perturbar las vías metabólicas o fisiológicas normales, lo que podría comprometer la competitividad. <sup>(1)</sup>

Los estudios *in vivo* también han confirmado los efectos del consumo de bacterias probióticas en la disminución del riesgo de caries dental y *Streptococcus mutans*. <sup>(7)</sup>

El estudio del consumo del producto Probiora3, una vez al día en niños con caries temprana de la infancia, indicó que la intervención fue exitosa principalmente en la prevención de la desmineralización temprana del esmalte en lugar de las lesiones cavitarias. Ningún niño nuevo del grupo de prueba mostró lesiones de caries durante el período de estudio. La terapia probiótica puede ser un complemento valioso a las aplicaciones de fluoruro con el fin de aumentar la eficacia de la atención preventiva recomendada y establecida. <sup>(23)</sup>

La ingesta de *Lactobacillus rhamnosus* GG ingerido en productos lácteos (leche y queso) redujo los recuentos de *Streptococcus mutans salivales* en adultos y protegió a niños contra la caries dental. Otros lactobacilos han mostrado reducción de los recuentos de *Streptococcus mutans* en saliva. El consumo a corto plazo de yogurt o helado que contiene Bifidobacterium spp. Resultó en una reducción significativa de *Streptococcus mutans salivales* ( $p < 0,05$ ) pero no en lactobacilos. Otros estudios han reportado reducciones en los niveles de *Streptococcus mutans* en saliva posterior al consumo de yogures que contienen probióticos. <sup>(1), (9)</sup>

El trabajo futuro en el campo de la terapia de reemplazo de la caries dental también puede tomar ventaja de los recientes avances de la tecnología del ADN recombinante y la manipulación genética. Los genes para diversos factores de virulencia de *S. mutans*, tales como LDH, bacteriocinas, polisacáridos de la superficie celular y adherencias, podrían ser clonados mediante la modificación de los métodos existentes. Los genes clonados podrían ser modificados, si fuera necesario, y usados para construir una cepa efectora ideal mediante la transformación o posiblemente conjugación en una cepa huésped de *S. mutans*. A pesar de la aceptación pública de tal enfoque, el uso potencial de la tecnología de ADN recombinante ofrece cierto grado de especificidad y flexibilidad en la construcción de cepas efectoras que no están fácilmente disponibles con las técnicas genéticas convencionales.

Un fuerte motivador para la introducción de la terapia de reemplazo es el mayor deseo de los consumidores de utilizar métodos naturales para el mantenimiento de la salud. Los antibióticos de amplio espectro administrados por vía parenteral matan indiscriminadamente una amplia variedad de especies bacterianas asociadas con la microflora del huésped, dando lugar a la formación de un vacío ecológico y fomentando la superinfección y el desarrollo de la resistencia bacteriana. Por el contrario, Bacteriocin-Like Inhibitory-Substance (BLIS, por sus siglas en inglés) son bacterias productoras que potencialmente ofrecen una solución mucho más específica para el control de patógenos. Los productores de BLIS que residen dentro de la microflora normal son propensos a causar una menor muerte colateral de

bacterias no relacionadas, ya que proporcionan una actividad antimicrobiana de espectro estrecho en concentraciones que son probablemente inhibitorias sólo para dirigir las bacterias en su región inmediata. La modulación de la composición de la microflora mediante la introducción específica de cepas de especies que "naturalmente ocurren" y que son capaces de excluir la colonización y / o la infección por patógenos diana podría considerarse como la manipulación controlada de un proceso que de otro modo ocurre de forma desordenada en la naturaleza. La implantación dirigida de bacterias efectoras relativamente inofensivas que se sabe que son fuertemente competitivas con patógenos potenciales ofrece un medio rentable, a largo plazo, para lograr la protección hecha a la medida del huésped contra infecciones bacterianas específicas. También podría fomentar un incremento en la protección múltiple mediante la transmisión natural de la cepa efectora a contactos cercanos del huésped. Además, aunque la resistencia de los consumidores podría ser un problema en la actualidad, la ingeniería genética en última instancia, presenta un medio para obtener cepas efectoras con mejores características, si no se dispone de los aislamientos naturales equivalentes. <sup>(1)</sup>

## 14. Aplicaciones Clínicas y de tratamiento de infecciones de la cavidad oral

Cuando se han administrado *Lactobacillus reuteri* a través de su suministro en yogurt, tableta, chicle, o como una pastilla, redujeron significativamente los recuentos de *Streptococcus mutans* en saliva.

Los estudios clínicos indican que los pacientes con resistencia a caries tienen valores elevados de pH de la placa dental en reposo y que estos valores no se reducen en la misma medida que aquellos individuos susceptibles a caries que siguen de una ingesta de carbohidratos.

Por lo tanto, parece que, en contraste con otras estrategias de prevención de la caries dental, el aumento de la generación de amoníaco en la placa podría ser una forma eficaz de combatir las lesiones cariosas más comunes. <sup>(1)</sup>

Algunos estudios en humanos han reportado que la bacteria *Lactobacillus de Ibruecku Subespecie bulgaricus*, *Lactobacillus rhamnosus GG*, *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus acidophilus*, todos presentes en productos lácteos fermentados, no pueden colonizar la boca. <sup>(9)</sup>

Varios estudios han demostrado una disminución en los recuentos de *Streptococcus orales mutans* después de un consumo a corto plazo de *Lactobacillus reuteri* y *Lactobacillus rhamnosus* y algunos han demostrado un efecto sobre la prevención y el control de caries.

Los suplementos diarios de Lactobacilos probióticos no parecen aumentar la acidogenicidad de la placa dental cuando se expone a fructosa o xilitol. <sup>(21)</sup>

### **Aplicación en el tratamiento de las infecciones de la cavidad oral:**

El efecto tampón de la leche puede tener un efecto importante sobre la acidez de las bacterias productoras de la caries dental. <sup>(12)</sup>

A pesar del uso de agentes físicos y quimioterapéuticos convencionales para el manejo de la caries, la caries dental continúa siendo la enfermedad infecciosa oral más frecuente. Claramente, los enfoques adicionales de prevención de caries, que pueden aumentarse a los ya existentes (por ejemplo, fluoruros, cepillado, hilo dental, etc.), son altamente deseables.

La debida precaución sugirió que para los ensayos clínicos en humanos que justificaban las modificaciones genéticas adicionales de BCS3-L1 con el fin de permitir su rápida eliminación de los sujetos del estudio, en caso de que se manifestara un efecto adverso inesperado, y también podría proporcionar seguridad adicional de que la cepa tiene la máxima estabilidad genética posible. De este modo, se introdujeron mutaciones de delección en el gen DAL, el cual codifica la alanina racemasa necesaria para la síntesis endógena de D-alanina. Se encontró que AJ2M era completamente dependiente de D-alanina exógena, pero podía eliminar la D-alanina de otras bacterias de la placa. Como la dieta humana típicamente contiene muy poco de este compuesto, se pensó que la mutación DAL serviría como una mutación útil de "recuperación" en caso de un efecto adverso inesperado. La reducción de la carga bacteriana total mediante la aplicación diaria de clorhexidina permitió virtualmente la erradicación completa de AJ2M. La adición de delección en el gen comE proporcionó seguridad adicional ya que tenía una frecuencia de reversión muy baja, sin aparentemente, alterar otras propiedades fenotípicas importantes de la cepa efectora. Por lo tanto, AJ2M demostró ser una cepa adecuada para uso seguro en ensayos clínicos humanos. <sup>(1)</sup>

## 15. Dificultades y posibles riesgos

Los recién nacidos por cesárea, o parto prematuro, expuestos a antibióticos perinatal o postnatalmente, muestran un retraso en la colonización bacteriana probiótica comensal intestinal. <sup>(6)</sup>

Las personas inmunocomprometidas deben de tener cuidado con el uso de probióticos ya que ha habido informes de entrada en el torrente sanguíneo produciendo sepsis bacteriana. Sin embargo, su principal objetivo es la reducción de los efectos nocivos de cepas patógenas que colonizan naturalmente la cavidad oral. <sup>(7)</sup>

Los probióticos no se utilizan para tratar el cáncer y la enfermedad de Crohn. Existe preocupación en cuanto a la seguridad en el uso de probióticos en bebés y niños que son inmunodeprimidos, debilitados crónicamente, o gravemente enfermos con dispositivos médicos permanentes. <sup>(14)</sup>

Un efecto secundario desde el punto de vista cariológico de los lactobacilos sería una mayor producción de ácidos orgánicos en la placa dental. <sup>(21)</sup>

Una amplia variedad de bacterias médicamente importantes se está volviendo cada vez más resistente a los antibióticos comúnmente utilizados. El temor es que, de hecho, regresemos a la era preantibiótica a menos que se desarrollen pronto nuevos antibióticos o nuevos enfoques, como la terapia de reemplazo.

En caso de caries dental, podemos asumir con confianza que la evolución seguirá actuando sobre los agentes etiológicos principales, *Streptococcus mutans* para llevarlos a un nuevo estado clímax en el que ya no expresen un potencial patogénico. Sin embargo, para que la selección natural actúe a través de una mutación espontánea para eliminar la virulencia natural de este organismo, pueden requerirse miles de años.

La microflora normal en seres humanos sanos muestra una notable estabilidad cuantitativa y cualitativa, un reflejo de una finamente sintonizada comunidad clímax

de microorganismos interactuando dinámicamente lo cual limita la invasión por cualquier microbio extraño o el crecimiento excesivo por parte de un miembro minoritario de la población. Sin embargo, el equilibrio se ve alterado regularmente por varios eventos, de forma más dramática por la exposición a antibióticos o antisépticos de amplio espectro, pero también posiblemente después de importantes cambios nutricionales, hormonales o físicos en el microambiente. Las reducciones significativas en el número de componentes individuales de la microflora balanceada podrían dar como resultado un crecimiento excesivo (superinfección) de miembros minoritarios previamente suprimidos del medio ambiente bucal. De forma similar, la alta estabilidad intrínseca de la microbiota nativa puede presentar un obstáculo importante para modificar su composición mediante la introducción de cepas efectoras específicas. El éxito es poco probable a menos que la cepa efectora sea fuertemente competitiva. Alternativamente, la cepa efectora podría administrarse antes del establecimiento de la comunidad clímax microbiana (en el período perinatal) o en la creación de un nicho apropiado después de la interrupción de la microflora por exposición a antimicrobianos.

La retención a largo plazo de cepas efectoras productoras de antibióticos podría no ser fácilmente alcanzada. Las necesidades energéticas y nutricionales adicionales de la producción de antibióticos podrían ser suficientemente desventajosas para los organismos en algunos ecosistemas que compensarán cualquier beneficio competitivo conferido por la antibiosis. En tales circunstancias, la cepa productora de antibióticos se reemplazará gradualmente dentro de la población. La selección de patógenos resistentes a la cepa efectora sigue siendo un problema, particularmente si la interferencia microbiana está mediada en gran medida por la antibiosis. Típicamente, sin embargo, una vez que se elimina una presión selectiva antibiótica, las variantes resistentes tienden a ser desfavorecidas y se pierden hacia la población de microorganismos. Además, la cepa efectora, por inofensiva que sea podría iniciar potencialmente la enfermedad en circunstancias inusuales, como la inmunosupresión, la inmunodeficiencia, las quemaduras, las drogas, el estrés y la variación climática. Debido a que no todos los riesgos pueden predecirse, las nuevas infecciones oportunistas podrían concebiblemente ser iniciadas. Sin

embargo, parece que los riesgos de esta ocurrencia serían minimizados por la aplicación de cepas naturales aisladas comúnmente de ecosistemas equilibrados en individuos normales. <sup>(1)</sup>

Los probióticos más relacionados con la producción de sepsis son los pertenecientes al género *Lactobacillus* y *Saccharomyces*. Existe un caso de endocarditis por *Lactobacillus rhamnosus* en un paciente varón de 67 años que sufría insuficiencia mitral, tras una extracción dental, que igualmente ingería probióticos diariamente. <sup>(12)</sup>

Desafortunadamente, aun no se han realizado estudios clínicos bien controlados sobre hipótesis relacionadas con la capacidad de producción de bases por las biopelículas y la salud oral. Se dispone de una variedad de modelos de caries animal aceptados para probar los efectos de diversos carbohidratos y terapéuticos sobre la formación de caries, el modelo de rata parece ser el más apropiado y ampliamente aceptado. Sin embargo, estos modelos de caries no se adaptan fácilmente al estudio de la generación de álcali debido a la falta de un organismo de prueba adecuado y a las diferencias de la flora endógena de ratas y humanos con respecto a la actividad de la ureasa. En estudios clínicos, esencialmente todos los datos relacionados con la ureólisis para la homeostasis del pH de la placa y la salud oral están restringidos a la placa total de individuos sanos. Para resolver algunas de estas deficiencias, se construyeron cepas ureolíticas recombinantes de bacterias de la placa cariogénica (*S. mutans*) que podrían implantarse en la placa de animales de experimentación para probar la hipótesis de que el aumento de la capacidad de generación de álcalis de la placa podría reducir la incidencia de la formación de caries.

Dado el nivel de precaución relacionado con las pruebas de bacterias modificadas genéticamente, surge la pregunta, ¿estarán dispuestos los consumidores a permitir que un enjuague bucal que contenga bacterias genéticamente modificadas se administre a sus hijos para retardar el desarrollo de la caries, incluso si se muestra que la tecnología es efectiva? <sup>(1)</sup>



## 16. Presentaciones comerciales disponibles en el mercado

Los probióticos más importantes en el ser humano provienen del yogurt y productos de leche fermentada. <sup>(7)</sup>

Las presentaciones comerciales disponibles en el mercado mexicano incluyen las siguientes:

El Aqua Scandik llegó a México en el 2008 (Figura 1). El cual contiene L-Reuteri que, al ingerirlo, se adhiere a la saliva y también reduce infecciones orales. A diferencia de otros probióticos éste fabrica una sustancia similar a un antibiótico y elimina una gama de bacterias muy amplia, con la ventaja de que no destruye la microflora. Esto no quiere decir que Reuteri substituye a los antibióticos, pero reduce de manera substancial su uso.

Estudios realizados con L-Reuteri en nuestro país, en el Instituto Nacional de Medicina y Nutrición demuestran una baja de 60 por ciento en diversas enfermedades. Así mismo, el DIF Nacional recomienda su consumo.

En México, las proyecciones realizadas, apuntan a un ahorro de más de 4 por ciento en el presupuesto del Sistema Nacional de Salud, lo que representaría una cifra de más de \$9,600,000,000.00 de pesos, sobretodo dirigidas a la salud gastro intestinal.

L-Reuteri se comercializa en más de 40 países en el mundo. En México su nombre comercial es BIO-SCANDIK una bebida disponible al público en las franquicias de origen escandinavo Aqua Scandik cuyas tiendas se especializan en la venta de aguas, bebidas y equipos de purificación del vital líquido. <sup>(26)</sup>



Fig. 1. Presentación comercial de Aqua Scandik

BioGaia (Figuras 2 y 3) es un probiótico o microorganismo vivo que protege al ser humano de algunas enfermedades intestinales en etapas preventivas y en tratamientos curativos. Mejora la movilidad intestinal y no tiene efecto de intoxicación, su costo aproximado es de \$185.00 pesos las gotas (Figura 2), y de \$200.00 pesos los comprimidos masticables (Figura 3), se puede encontrar en el mercado mexicano, en Toluca se encuentra en Farmacias del Ahorro, Farmacias Guadalajara y Farmacias San Pablo. Se administra vía Oral, y la dosis recomendada por el fabricante es de 5 gotas al día (Figura 2), o de 1 comprimido al día (Figura 3).

El *Lactobacillus reuteri* mejora notablemente la salud digestiva del infante en la etapa de lactancia y a lo largo de su vida.

La importancia de la microflora gastrointestinal se debe a que entre el 70 y el 80 por ciento de nuestro sistema inmunológico se encuentra en dicho tracto. La microflora es un ambiente muy complejo que alberga de 400 a 500 especies de bacterias y que pesa aproximadamente 2 kilogramos (10 veces más que la cantidad de nuestras células). (27)



(27)

Fig. 2. Presentación comercial de BioGaia en gotas



(27)

Fig.3. Presentación comercial de BioGaia en comprimidos masticables

Boca y garganta frescas y saludables con 3.000 millones de *Streptococcus salivarius K12*, *Streptococcus salivarius M-18* y *Bacillus coagulans*. Oral Flora de Solaray (Figura 4) es una presentación de comprimidos fáciles de masticar, con agradable sabor a frutas del bosque y sin azúcar. Cada chicle contiene tres cepas:

*Lactobacillus salivarius K12*, *Lactobacillus salivarius M-18* y *Bacillus coagulans*, específicamente seleccionados para apoyar el equilibrio saludable de la flora oral. Oral Flora de Solaray (Figura 4) proporciona una fórmula única de Lactobacilos y Estreptococos específicamente seleccionados para apoyar el equilibrio de la flora saludable en la boca, la garganta, el oído y la nariz, para una buena salud bucal y un aliento fresco.

El mal aliento puede ser causado por unos niveles desequilibrados de bacterias en la boca y garganta, una flora inadecuada puede favorecer las caries y la placa dental. Oral Flora es un comprimido diseñado para chuparse, con sabor a frutos (zarzamora, fresa y frambuesa), que se disuelve rápidamente en la boca, suministrando 2.000 millones de *Streptococcus salivarius* (bacterias amistosas que se encuentran en la boca) en combinación con 1.000 millones de *Bacillus coagulans* (que apoyan la salud general). Oral Flora está formulado para proporcionar apoyo nutritivo para una flora saludable de la boca y la garganta. Los *Streptococcus salivarius K12* y *M18* son bacterias “amistosas” que están presentes de manera natural en la boca, destinadas a ayudar a devolver la boca y la garganta a un estado de equilibrio para una garganta sana y un aliento fresco.

- ✓ Oral Flora ataca las bacterias perjudiciales presentes en la boca y la garganta.
- ✓ Formulación específicamente desarrollada para la salud de la garganta y el cuidado bucodental.
- ✓ La formulación de Oral Flora proporciona protección frente a las “bacterias malas” en todos los frentes, incluyendo caries, halitosis, placa dentobacteriana, erosión ácida, enfermedades de las encías y otros desafíos para el cuidado bucal.
- ✓ Apoya un aliento fresco de forma natural.
- ✓ Seguro y eficaz para niños y adultos.

 **Principio activo:**

- ✓ *Lactobacillus salivarius K12*, *Lactobacillus salivarius M18* y *Bacillus coagulans*

#### **Administración:**

- ✓ Vía Oral

#### **Frecuencia:**

- ✓ Tomar 1 capsula vegetal al día, se recomienda que la ingesta sea en ayunas.

#### **Modo de uso:**

- ✓ Mastique un comprimido de Oral Flora como si se tratara de una goma de mascar. Mastíquela tanto como se desee, luego deseche la goma.

#### **Presentación:**

- ✓ Comprimidos, masticables

#### **Composición:**

- ✓ Por un comprimido:
  - *Bacillus coagulans* (aportando 1.000 millones de microorganismos vivos) 67 mg
  - *Streptococcus salivarius K-12* (aportando 1.000 millones de microorganismos vivos) 10 mg
  - *Streptococcus salivarius M-18* (aportando 1.000 millones de microorganismos vivos) 10 mg
  - Otros ingredientes: Goma de base (soja), sabores naturales (zarzamora, fresa y frambuesa) con otros naturales (soja), estearato de magnesio, xilitol, sorbitol, dióxido de silicio, estevia (*Stevia rebaudiana*) (extracto de hoja), ácido málico y ácido cítrico.

✚ **Precio en México:**

✓ 475.31 pesos

✚ **Punto de venta:**

✓ Carethy.mx, de venta en internet <sup>(28)</sup>



Fig.4. Presentación comercial de Oral Flora de SOLARAY tabletas masticables

Tecnología SMaRT (por sus siglas en inglés, nombre comercial de *Streptococcus mutans*: terapia de reemplazo asociada)

Es una tecnología patentada descubierta por Jeffrey Hillman, director científico de Oragenics. SMaRT La terapia de reemplazo es un tratamiento tópico indoloro único, que tiene el potencial de ofrecer protección contra la caries dental a lo largo de toda la vida. Iniciando esta compañía se le había denegado el permiso para probar esta

terapia de reemplazo en ensayos humanos fase I debido a los temores en la transmisión horizontal de la bacteria genéticamente modificada. Hace 12 años se concedió permiso para llevar a cabo un ensayo seguro de Fase I usando una cepa auxotrófica, en este estudio los participantes usaban dentaduras postizas para determinar el nivel de transmisión de la bacteria. La compañía inició su primer ensayo de Fase I con la cepa de reemplazo SMART AJ2M en los Estados Unidos en abril de 2005. La Administración de Alimentos y Fármacos (FDA, por sus siglas en inglés) de los Estados Unidos ha dado un paso adelante para llevar a cabo un segundo ensayo seguro en humanos (fase 1B) con esta terapia. El ensayo se llevará a cabo en conformidad con el protocolo aprobado por la FDA y diseñado para evaluar la seguridad y tolerancia de la terapia de reemplazo SMaRT (TM, por sus siglas en inglés) en sujetos masculinos sanos adultos por un período de seis semanas, con un seguimiento a largo plazo de evaluación a los seis meses. Con esta tecnología, se espera que un único tratamiento de 5 minutos proporcione protección a lo largo de toda la vida contra la caries dental. Como resultado, se prevé que SMaRT tenga un impacto significativo en la incidencia de caries dental en la población humana. Sin embargo, es demasiado pronto para determinar el potencial de este método de tratamiento en la prevención de nuevas lesiones cariosas y el arresto de lesiones existentes sin ningún efecto adverso significativo.

#### Acerca de Oragenics

Oragenics, Inc. (Figura 5) es una compañía biofarmacéutica con una red de tecnologías patentadas. La empresa cuenta con una serie de productos en descubrimiento, desarrollos preclínicos y clínicos con concentración en dos principales áreas terapéuticas, enfermedades infecciosas y oncología. Su red principal incluye productos para uso en el tratamiento de enfermedades infecciosas dentales y periodontales, infecciones bacterianas sistémicas y pérdida de peso. Oragenics seguirá impulsando la concesión de licencias y la comercialización de sus productos líderes, la terapia de reemplazo SMaRTTM, el antibiótico MU1140 (TM) y el probiótico Probiora3TM (Figura 6) concentrando sus recursos en estos

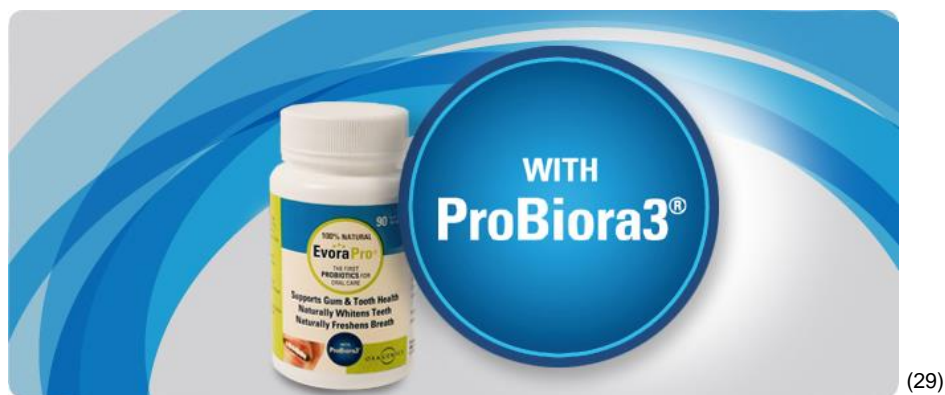
programas de desarrollo y en el inicio de ensayos clínicos. La mezcla de cultivo patentada de Oragenics ProBiora3™, es un potente ingrediente que utiliza bacterias benéficas residentes naturales para eliminar las bacterias dañinas problemáticas al mismo tiempo que mejora las encías y dientes saludables con bajas dosis continuas de peróxido de hidrógeno producidas naturalmente por la mezcla ProBiora3™ de bacterias benéficas que sirven para blanquear los dientes. (1)

ProBiora3™ (Figuras 7 y 8) es una mezcla patentada de tres cepas de origen natural de bacterias beneficiosas, incluyendo *Streptococcus oralis* KJ3, *Streptococcus uberis* KJ2, y *Streptococcus rattus* JH145, que son las que promueven un aliento fresco, dientes más blancos y apoyan la salud bucal en general. ProBiora3™ solo está a la venta por Internet en su página [www.evoraplus.com](http://www.evoraplus.com) (29)



(1)

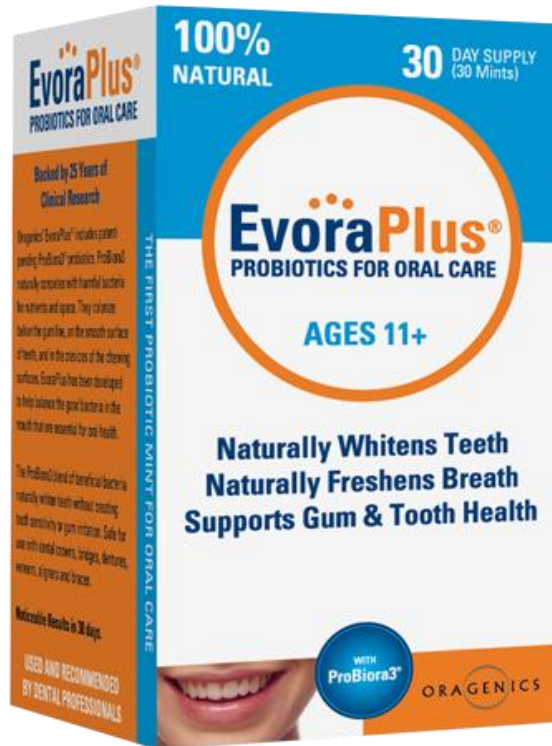
Fig. 5. Imagen de la marca de Oragenics



(29)

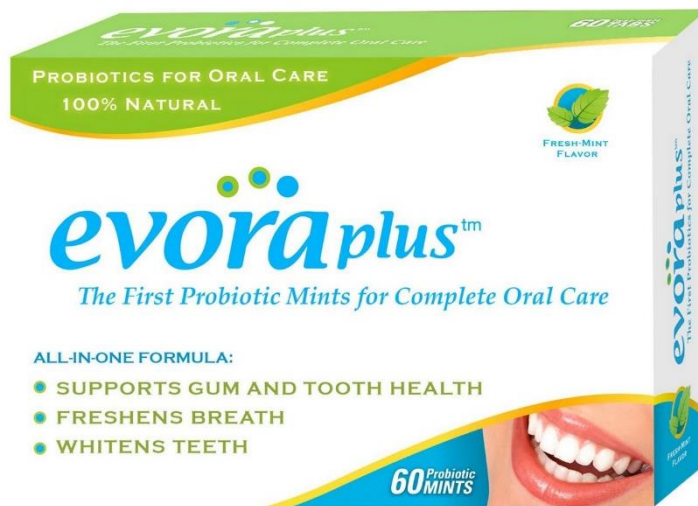
Fig. 6. Presentación comercial de ProBiora3





(29)

Fig. 7. Presentación comercial de EvoraPlus



(29)

Fig. 8. Presentación comercial de EvoraPlus

## Conclusión

En general, la terapia de reemplazo emplea una cepa efectora cuidadosamente construida que proporciona una serie de ventajas sobre las estrategias convencionales de prevención y las vacunas orales. Para la prevención de la caries dental, un único régimen de colonización que conduzca a la colonización persistente de una cepa efectora debe proporcionar protección a lo largo de toda la vida. En el caso de que la cepa efectora no persista indefinidamente en algunos sujetos, la reaplicación puede hacerse cuando surge la necesidad sin ninguna preocupación adicional significativa. Una de las mayores ventajas de la terapia de reemplazo es que no hay cuidados adicionales en prevención de caries dental y enfermedad periodontal por parte del paciente, aunque las medidas de higiene bucal para prevenir las enfermedades periodontales seguirán siendo necesarias. Si finalmente es exitoso, el uso de la ingeniería genética para adaptar una cepa efectora para la terapia de reemplazo para la caries dental, se estimularán los esfuerzos para prevenir otras enfermedades infecciosas también. <sup>(1)</sup>

## Referencias Bibliográficas

1. Gupta S, Marwah N. "Use a Thorn to Draw Thorn" Replacement Therapy for Prevention of Dental Caries. *Int J Clin Pediatr Dent*. 2010; 3(3): p. 125-137.
2. Reyes JM. México, entre países con más problemas dentales. [Online].; 2017 [cited 2017 Agosto. Available from: <http://www.salud180.com/salud-dia-dia/mexico-entre-paises-con-mas-problemas-dentales>.
3. Fernández Presas AM. IEN MÉXICO, LA ENFERMEDAD PERIODONTAL TIENE UNA PREVALENCIA DE 70 POR CIENTO. [Online].; 2016 [cited 2017 Agosto. Available from: [http://www.dgcs.unam.mx/boletin/bdboletin/2016\\_476.html](http://www.dgcs.unam.mx/boletin/bdboletin/2016_476.html).
4. Sun JH, Xu QU, Fan MW. A new strategy for the replacement therapy of dental caries. *Medical Hypotheses*. 2009; 73(6): p. 1063-1064.
5. Simonetti Lodi C, Mauricio Manarelli M, Takebayashi Sasaki K, Calixto Fraiz F, Botazzo Delbem AC, Rodrigues Martinhon CC. Evaluation of fermented milk containing probiotic on dental enamel and biofilm: In situ study. *Archives of Oral Biology*. 2009; 55(1): p. 29-33.
6. Jindal G, Pandey RK, Singh RK, Pandey N. Can early exposure to probiotics in children prevent dental caries? A current perspective. *J Oral Biol Craniofac Res*. 2012; 2(2): p. 110-115.
7. Tahmourespour A. Probiotics and the Reduction of Dental Caries Risk. *Contemporary Approach to Dental Caries*. 2012; 14: p. 271-289.
8. Romani Vestman N, Timby N, Lif Holgerson P, Kressier CA, Claesson R, Domellof M, et al. Characterization and in vitro properties of oral lactobacilli in breastfed infants. *BMC Microbiology*. 2013; 13(193): p. 1-12.

9. Duque de Estrada Riverón J, Hidalgo-Gato Fuentes I, Díaz Martell Y. Microorganismos probióticos en la prevención de caries dentales: cefradina, cefalexina, cefadroxilo, cefprozilo y ceftobiprole. *MediSur*. 2010; 8(5): p. 65-70.
10. Pérez Luyo A. Probióticos: Una nueva alternativa en la prevención de la caries dental? *Revista Estomatológica Herediana*. 2009; 18(1): p. 65-69.
11. de Rovetto MD, Castro LÁ. Probióticos: utilidad clínica. *Colombia Médica*. 2006; 37(4): p. 308-314.
12. López-Brea M, Domingo D. Antibiocoterapia con probióticos. *Revista Española de Quimioterapia*. 2007; 20(2): p. 170-181.
13. Romani Vestman N, Chen T, Lif Holgerson P, Ohman C, Johansson I. Oral Microbiota Shift after 12-Week Supplementation with *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 and PTA 5289; A Randomized Control Trial. *PLoS One*. 2015; 10(5): p. 1-18.
14. Waikar Y. Review of probiotics in children. *Pediatric Infectious Disease*. 2013; 5(1): p. 9-12.
15. Samot J, Lebreton J, Badet C. Adherence capacities of oral lactobacilli for potential probiotic purposes. *Anaerobe*. 2011; 17(2): p. 69-72.
16. Gutiérrez Ramírez LA, Montoya OI, Vélez Zea JM. Probióticos: una alternativa de producción limpia y de remplazo a los antibióticos promotores de crecimiento en la alimentación animal. *Producción + Limpia*. 2013; 8(1): p. 135-146.
17. Meurman JH, Gronroos L. Oral and dental health care of oral cancer patients: hyposalivation, caries and infections. *Oral Oncology*. 2010; 46(6): p. 464-467.
18. Zalba Elizari JI, Flichy-Fernández AJ. Empleo de Probióticos en odontología. *Nutrición Hospitalaria*. 2013; 28(1): p. 49-50.

19. Ahola AJ, Yli-Knuuttila H, Soumalainen T, Poussa T, Ahlstrom A, Meurman JH, et al. Short-term consumption of probiotic-containing cheese and its effect on dental caries risk factors. *Archives of Oral Biology*. 2002; 47(11): p. 799-804.
20. Vieira D. Efectos de los probióticos en la cavidad bucal. [Online].; 2014 [cited 2017 Febrero 2. Available from: <https://www.propdental.es/blog/odontologia/efectos-de-los-probioticos-en-la-cavidad-buc>.
21. Keller MK, Twetman S. Acid production in dental plaque after exposure to probiotic bacteria. *BMC Oral Health*. 2012; 12(44): p. 12-44.
22. Steidler L. Genetically engineered probiotics. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*. 2003; 17(5): p. 861-876.
23. Hedayati-Hajikand T, Lundberg U, Edh C, Twetman S. Effect of probiotic chewing tablets on early childhood caries – a randomized controlled trial. *BMC Oral Health*. 2015; 15(112).
24. Tagg JR, Dierksen KP. Bacterial replacement therapy: adapting 'germ warfare' to infection prevention. *Trends in Biotechnology* Cell Press. 2003; 21(5): p. 217-223.
25. Hasslof P, Headberg M, Twetman S, Stecksén-Blicks C. Growth inhibition of oral mutants streptococci and candida by commercial probiotic lactobacilli - an in vitro study. *BMC Oral Health*. 2010; 10(18): p. 10-18.
26. Aqua scandik. [http://www.negocius.com.mx/probiotico-l-reuteri-a-la-venta-en-mexico\\_wv265.html](http://www.negocius.com.mx/probiotico-l-reuteri-a-la-venta-en-mexico_wv265.html). [Online].; 2009 [cited 2017 Febrero 10. Available from: [http://www.negocius.com.mx/probiotico-l-reuteri-a-la-venta-en-mexico\\_wv265.html](http://www.negocius.com.mx/probiotico-l-reuteri-a-la-venta-en-mexico_wv265.html).
27. PMFarma. Lanzan ala mercado mexicano probiótico que mejora la salud digestiva del bebe. [Online].; 2008 [cited 2017 Febrero 10. Available from:

<http://www.pmfarma.com.mx/noticias/2975-lanzan-ala-mercado-mexicano-probiotico-que-mejora-la-salud-digestiva-del-bebe-.html>.

28. SOLARAY. Solaray Oral Flora 30 chicles. [Online].; 2017 [cited 2017 Febrero 10]. Available from: <http://www.suplments.com/solaray-oral-flora-30-chicles/>.
29. ProBiora Health. Probiotics Restoring the Natural Balance of Beneficial Bacteria. [Online].; 2016 [cited 2017 Mayo 24]. Available from: <http://probiorahealth.com/technology/>.
30. Sato Y, Okamoto K, Kizaki H. gbpC and pac gene mutations detected in Streptococcus mutans strain GS-5. Oral Microbiol Immunol. 2002; 17(4): p. 263-266.

## Anexos

### Glosario

**AJ2M.** Es una mutación que puede eliminar a D-alanina de otras bacterias de la placa, pero es completamente dependiente de D-alanina exógena.

**Alanina racemasa.** Es la enzima que convierte la L-alanina en D-alanina.

**Álcali.** Los álcalis son un conjunto de **sustancias producidas a partir de los metales alcalinos** (por ejemplo: Hidróxido de sodio o sosa cáustica, hidróxido de potasio, y el amoníaco).

**Aminoácido.** Un aminoácido es una molécula orgánica con un grupo amino (-NH<sub>2</sub>) y un grupo carboxilo (-COOH). Los aminoácidos más frecuentes y de mayor interés son aquellos que forman parte de las proteínas. Dos aminoácidos se combinan en una reacción de condensación entre el grupo amino de uno y el carboxilo del otro, liberándose una molécula de agua y formando un enlace amida que se denomina enlace peptídico; estos dos "residuos" de aminoácido forman un dipéptido. Si se une un tercer aminoácido se forma un tripéptido y así, sucesivamente, hasta formar un polipéptido. Esta reacción tiene lugar de manera natural dentro de las células, en los ribosomas.

Todos los aminoácidos componentes de las proteínas son L-alfa-aminoácidos. Esto significa que el grupo amino está unido al carbono contiguo al grupo carboxilo (carbono alfa) o, dicho de otro modo, que tanto el carboxilo como el amino están unidos al mismo carbono; además, a este carbono alfa se unen un hidrógeno y una

cadena (habitualmente denominada cadena lateral o radical R) de estructura variable, que determina la identidad y las propiedades de cada uno de los diferentes aminoácidos. Existen cientos de radicales por lo que se conocen cientos de aminoácidos diferentes, pero sólo 22 (los dos últimos fueron descubiertos en los años 1986 -selenocisteína- y 2002 -pirrolisina-) forman parte de las proteínas y tienen codones específicos en el código genético.

La unión de varios aminoácidos da lugar a cadenas llamadas péptidos o polipéptidos, que se denominan proteínas cuando la cadena polipeptídica supera una cierta longitud (entre 50 y 100 residuos aminoácidos, dependiendo de los autores) o la masa molecular total supera las 5000 uma y, especialmente, cuando tienen una estructura tridimensional estable definida.

**Antibiosis.** La antibiosis es una interacción biológica que consiste en la imposibilidad de vivir unos organismos en las inmediaciones de otros, debido a que éstos segregan una sustancia, llamada antibiótico, que provoca la muerte de aquellos.

**Arginina catabólica.** La arginina (arg o R) es uno de los 20 aminoácidos que se encuentran formando parte de las proteínas. La arginina es un aminoácido condicionalmente esencial (se necesita en la dieta solo bajo ciertas condiciones), y puede estimular la función inmunológica al aumentar el número de leucocitos. La arginina está involucrada en la síntesis de creatina, poliaminas y en el ADN.

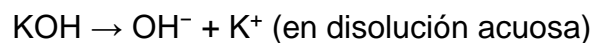
**Autólogo.** El término autólogo se refiere a los elementos que constituyen el cuerpo tales como las células o los tejidos, que son propios de un individuo. Este concepto es especialmente importante en el mundo del trasplante: en el caso de un trasplante autólogo, se extrae una parte de un individuo para un injertarla en otra



parte de su cuerpo. El cuerpo reconoce el injerto como algo propio, que forma parte de su cuerpo, y su reacción no será negativa. Sin embargo, en caso de que el injerto sea de otra persona, hablamos de alógrafo y el sistema inmune del receptor puede desarrollar anticuerpos contra el injerto que reconoce como extraño. Esto puede provocar el rechazo del injerto y es por esta razón que después de un injerto alógrafo o aloinjerto se utilizan tratamientos inmunosupresores que están diseñados para reducir esta reacción de rechazo.

**Auxótrofo.** Un "auxótrofo" es una bacteria que requiere una fuente de una sustancia o sustancias orgánicas específicas, además de una fuente de carbono para crecer.

**Bases.** Una base o álcali (del árabe: "ceniza") es cualquier sustancia que presente propiedades alcalinas. Es cualquier sustancia que en disolución acuosa aporta iones  $\text{OH}^-$  al medio. Un ejemplo claro es el hidróxido potásico, de fórmula KOH:



**Cepa madre.** Son **microorganismos del tipo fenotípico** que representan una proporción derivada de un organismo mayor, como una muestra de estudio. Las cepas contienen **información biológica** que es de interés científico. Son obtenidas por lo general a través del procedimiento de la clonación. Una cepa es aquel elemento inicial que contiene la **información ideal**, completa y precisa de un objeto u organismo. Lo que en una cepa está contenido, es la matriz de la que se desprenderá el resto de los datos o productos que conformarán la cosa en estudio.

**Comunidad Clímax.** Una comunidad clímax es aquella comunidad que puede desarrollarse estable y sosteniblemente bajo las condiciones climáticas y edáficas que prevalecen en un estado avanzado de sucesión ecológica. El clímax de una comunidad se da cuando ésta llega al estado de desarrollo estable en que hay poco crecimiento biomásico y donde los organismos están más especializados, mejor adaptados y más organizados; es decir, la comunidad está madura y hace un uso óptimo del espacio y la energía, estableciéndose un equilibrio dinámico entre los organismos y el medio ambiente. Normalmente presenta una amplia variedad de especies y nichos ecológicos. Asimismo, una comunidad madura presenta mayor tolerancia a los cambios producidos por los fenómenos naturales. En cambio, una comunidad joven, recién instalada es más susceptible a los cambios y fácilmente puede ser alterada en su composición.

**Delección.** Es un tipo especial de anomalía estructural cromosómica que consiste en la pérdida de un fragmento de ADN de un cromosoma. Esta pérdida origina un desequilibrio, por lo que las delecciones están incluidas dentro de las reordenaciones estructurales desequilibradas. El portador de una delección es monosómico respecto a la información genética del segmento correspondiente del homólogo normal, por eso en ocasiones las delecciones son denominadas monosomías parciales.

El origen de las delecciones puede ser una sencilla rotura cromosómica y pérdida del segmento acéntrico. En ciertos casos, las delecciones son el resultado de un entrecruzamiento desigual entre cromosomas homólogos o cromátidas hermanas mal alineadas. También se pueden producir en la descendencia por segregación anormal de una translocación o una inversión equilibradas de los progenitores.

**D-alanina.** Alanina (Ala o A) es uno de los aminoácidos que forman las proteínas de los seres vivos. Es codificada por los codones GCU, GCC, GCA y

GCG. Es el aminoácido más pequeño después de la glicina y se clasifica como hidrófobo.

La alanina es un aminoácido no esencial para el ser humano, pero es de gran importancia. Existe en dos distintos enantiómeros - L-alanina y D-alanina. La L-alanina es uno de los 20 aminoácidos más ampliamente usados en biosíntesis de proteína, detrás de la leucina, encontrándose en un 7,8 % de las estructuras primarias, en una muestra de 1.150 proteínas. La D-alanina está en las paredes celulares bacteriales y en algunos péptidos antibióticos. Se encuentra tanto en el interior como en el exterior de las proteínas globulares. El producto de esta enzima puede ser incorporado al peptidoglicano pentapéptido en lugar del D-alanil-D-alanina dipéptido usual.

**D-aminoácidos.** Están presentes en algunos antibióticos producidos por hongos. Por ejemplo, la D-Alanina abunda como componente estructural de importancia en las paredes celulares de las bacterias Gram positivas.

**GBL (gama butirolactona).** Es un líquido aceitoso, incoloro y soluble en agua, y se utiliza como reactivo químico.

**Gen comE.** Es un gen que proporciona protección adicional a AJ2M sin alterar otras propiedades fenotípicas importantes de la cepa efectora.

**Gen gbpC.** El gen gbpC de *Streptococcus mutans* que codifica la proteína C de unión al glucano que ancla en la pared celular está implicado en la agregación dependiente de dextrano (alfa-1,6 glucano) (ddag) de este organismo. A diferencia de las células de otras cepas de *S. mutans*, las células GS-5 de la cepa no exhibieron agregación dependiente de dextrano (alfa-1,6 glucano) bajo ninguna condición. Por lo tanto, la hipótesis de que el gen gbpC puede ser mutado en la

cepa GS-5. El análisis de secuenciación del gen gbpC GS-5 de 1752 nucleótidos reveló una mutación puntual que cambió el codón 65 a un codón de terminación TAA. La cepa GS-5 se informó previamente también que tiene una mutación en el gen pac que codifica el antígeno proteico principal anclado en la pared celular. La cepa GS-5 mantenida en laboratorio se considera que tiene menor cariogenicidad que el aislado original. La cariogenicidad disminuida desarrollada durante el cultivo de laboratorio de la cepa GS-5 puede haber sido causada por mutaciones en un entorno que carece de presiones selectivas apropiadas. <sup>(30)</sup>

**Lantibiótico prototipo.** Secreción de bacteriocinas (lantibióticos). Algunas bacterias secretan sustancias que funcionan como antibióticos contra otras especies de bacterias. Uno de los elementos más interesantes de estos bichos es que tienen la capacidad de luchar unos con otros con armas sofisticadas como sustancias que tienen actividad antimicrobiana contra otras especies, así como se aisló la penicilina del hongo *Penicillium*. La limitación de estas sustancias es su rango corto de acción, pero es uno de los medios que en un futuro no lejano nos ayudaría a combatir ciertas infecciones utilizando otras bacterias.

**Mutagénesis.** En genética se denomina mutagénesis a la producción de mutaciones sobre ADN, clonado o no.

**Nisina lantibiótica.** Los lantibióticos se caracterizan por ser péptidos termoresistentes de entre 19 a 39 aminoácidos. Contienen residuos de lantionina o metil-lantionina formados por modificaciones postraduccionales, tales como la deshidratación de residuos de serina y treonina a 2,3-dehidroalanina y 2,3-dehidrobutirina, que se unen de forma covalentemente con la cisteína para dar origen a la lantionina y metillantionina, respectivamente. Estas interacciones dan origen a la configuración característica de los anillos estructurales de los lantibióticos.

Dentro de esta clase de bacteriocinas se encuentra la Nisina, Mutacina, Salivaricina, Estreptococina, Planataricina y Bovicina, entre otras.

**Patógenos Diana. La célula diana**, también conocida como **célula blanco**, es un término usado popularmente dentro de la rama de la endocrinología para referirse a cualquier célula que tenga un receptor que reaccione con una hormona, sin importar si esta unión genera o no una respuesta fisiológica.

**Presión selectiva antibiótica.** Se dice que los antibióticos ejercen “presión selectiva” sobre las bacterias porque serán las cepas que adquieran resistencia las que podrán sobrevivir y reproducirse, de modo que aumentará el porcentaje de estos microorganismos, a la par que desaparecen las cepas sensibles. Las bacterias presentan algunas características biológicas que les facilitan la adquisición de resistencia a antibióticos. En primer lugar, tienen una alta velocidad de duplicación: muchas de las bacterias patógenas en humanos pueden doblar su población en apenas 30 minutos en medios de cultivo adecuados. Sin embargo, su sistema de reparación de ADN no está tan desarrollado como en eucariotas superiores y, como consecuencia, presentan una alta tasa de mutaciones espontáneas. Si, debido al azar, una de esas mutaciones les permite sobrevivir en presencia de un antibiótico, la misma presión selectiva de éste (mata a todas las sensibles) va a favorecer la aparición de una población bacteriana resistente.

**Regulador negativo de transcripción.** Es cuando el represor se une al operador para inhibir la transcripción.

**Recombinante:** El ADN recombinante, o ADN recombinado, es una molécula de ADN artificial formada de manera deliberada *in vitro* por la unión de secuencias

de ADN provenientes de dos organismos distintos que normalmente no se encuentran juntos. Al introducirse este ADN recombinante en un organismo, se produce una modificación genética que permite la adición de una nueva secuencia de ADN al organismo, conllevando a la modificación de rasgos existentes o la expresión de nuevos rasgos. La producción de una proteína no presente en un organismo determinado y producidas a partir de ADN recombinante, se llaman *proteínas recombinantes*.

El ADN recombinante es resultado del uso de diversas técnicas que los biólogos moleculares utilizan para manipular las moléculas de ADN y difiere de la recombinación genética que ocurre sin intervención dentro de la célula. El proceso consiste en tomar una molécula de ADN de un organismo, sea virus, planta o una bacteria y en el laboratorio manipularla y ponerla de nuevo dentro de otro organismo. Esto se puede hacer para estudiar la expresión de un gen, para producir proteínas en el tratamiento de una enfermedad genética, vacunas o con fines económicos y científicos.

**Revertante.** Son mutantes en los que una anterior mutación fue cancelada por otra mutación (al menos en su efecto). Especialmente organismos cuyos antepasados perdieron a través de la mutación la capacidad de sintetizar una sustancia vital, pero se recuperaron por otra mutación, esta capacidad se denomina revertientes.

Esto se conoce como mutación inversa o reversión. Tales mutaciones ocurren espontáneamente con una frecuencia determinada y bajo ciertas condiciones ambientales (la presencia de mutagénico) y pueden aumentar drásticamente esta frecuencia.

**Sistema de arginina desaminasa.** En los estreptococos orales es directamente la arginina la que se emplea en la generación de  $\text{NH}_4^+$ , interviniendo una arginina desaminasa enzima ausente den el *Streptococcus mutans*.

**Streptococcus mutans salivales.** Es uno de los microorganismos cariogénicos asociados a la caries dental. De acuerdo con la hipótesis de la placa ecológica, la caries dental es la consecuencia de cambios en el balance natural de la microflora de la placa dental causados por la alteración de las condiciones ambientales locales (homeostasis microbiana oral).

**Streptococcus mitis:** Es una especie mesófila alfa hemolítica de *Streptococcus* que habita en la boca humana. Es un coco gram positivo, anaerobio facultativo y catalasa negativo. Puede provocar endocarditis.

**Transposón.** Un transposón o elemento genético transponible es una secuencia de ADN que puede moverse de manera autosuficiente a diferentes partes del genoma de una célula, un fenómeno conocido como transposición. En este proceso, se pueden causar mutaciones y cambio en la cantidad de ADN del genoma. Anteriormente fueron conocidos como "genes saltarines" y son ejemplos de elementos genéticos móviles.

El transposón modifica el ADN de sus inmediaciones, ya sea arrastrando un gen codificador de un cromosoma a otro, rompiéndolo por la mitad o haciendo que desaparezca del todo. En algunas especies, la mayor parte del mal llamado ADN basura (hasta un 50% del total del genoma) corresponde a transposones. Estos elementos móviles han acompañado a los organismos vivos durante su evolución contribuyendo decisivamente a los cambios genéticos.

A diferencia de los provirus, los transposones se integran en el ADN celular en lugares bien determinados. Barbara McClintock propuso su existencia en el maíz, sin embargo, su presencia no se demostró hasta mucho más tarde en bacterias. Por ello recibió el Premio Nobel en 1983.

**Ureasa.** Es una enzima que cataliza la hidrólisis de urea a dióxido de carbono y amoníaco. La reacción ocurre de la siguiente manera:

