

Probióticos: efecto preventivo sobre la caries dental. Revisión de la literatura

E. ORTIZ ESTEVE, F. GUINOT JIMENO, R. MAYNÉ ACIÉN, L. J. BELLET DALMAU

Departamento de Odontopediatría. Facultad de Odontología. Universitat Internacional de Catalunya. Barcelona

RESUMEN

Los alimentos probióticos producen un efecto beneficioso más allá del puramente nutricional, siendo eficaces, por diferentes mecanismos de acción, en la prevención y tratamiento de algunas enfermedades pediátricas (diarreas, infecciones respiratorias, enfermedades alérgicas, dermatitis atópica, etc.).

Los microorganismos probióticos también pueden desarrollar un papel importante a nivel odontopediátrico como, por ejemplo, la disminución en el recuento salival de Unidades Formadoras de Colonias de *S. mutans* y *Lactobacillus*. Algunos son capaces de incorporarse a la película adquirida y crecer junto a la flora autóctona de la placa supragingival, a la vez que disminuyen la colonización de microorganismos cariogénicos.

El propósito de esta revisión bibliográfica es aportar todos aquellos beneficios que se han descrito sobre el papel de los microorganismos probióticos en la prevención de la caries dental.

PALABRAS CLAVE: Bacterias probióticas. Caries dental. *Lactobacillus GG*. Riesgo de caries.

ABSTRACT

Probiotics have a beneficial effect that is more than just nutritional, because probiotics are efficient as a result of different action mechanisms, for preventing and treating certain pediatric diseases (diarrhea, respiratory infections, allergic disease, atopic dermatitis, etc.).

Probiotic microorganisms can also play an important role in pediatric dentistry, such as the reduction in salivary recount of colony-forming units of *S. mutans* and *Lactobacillus*. Some are capable of penetrating the acquired pellicle and of growing alongside autochthonous flora of the supragingival plaque, while reducing the colonization of cariogenic microorganisms.

The aim of this revision of the literature is to provide all the benefits that have been published on probiotic microorganisms for the prevention of dental caries.

KEY WORDS: Probiotic bacteria. Dental caries. *Lactobacillus GG*. Caries risk.

INTRODUCCIÓN

Eli Metchnikoff, galardonado con el premio Nobel en 1908 por sus trabajos en el Instituto Pasteur, fue el primero en señalar los efectos positivos para la salud desempeñados por ciertas bacterias, a comienzos del siglo pasado. El científico ruso percibió una gran longevidad en la población búlgara de la época, y propuso que el yogur –componente básico de la dieta de los búlgaros– era el responsable de esta alta superviven-

cia, dado que contenía bacterias capaces de convertir el azúcar de la leche (lactosa) en ácido láctico. Sospechó que este ácido láctico hacía imposible el desarrollo de bacterias dañinas en el intestino, y sugirió que el envejecimiento era consecuencia de la acción de las sustancias tóxicas producidas por la flora intestinal. Metchnikoff aisló el bacilo del yogur, al que designó *Lactobacillus bulgaricus* (1). Coetáneamente y en el mismo instituto, el pediatra francés Henry Tissier (2) encontró que los niños con diarrea presentaban en sus deposiciones un reducido número de bacterias, caracterizadas por una morfología singular en estructura de Y. Contradictoriamente, estas bacterias bifidas esta-

ban presentes de manera copiosa en las heces de los niños sanos.

Ambos científicos fueron los primeros en sugerir que algunas bacterias vivas podían administrarse para tratar ciertas enfermedades. Sin embargo, el término probiótico no fue acuñado hasta más tarde, en 1965, por Lilly y Stillwell (3), para designar al «factor o factores producidos por microorganismos que promueven el crecimiento de otros microorganismos». Parker (4), en 1974, fue el primero en emplear el término probiótico para hacer referencia a suplementos alimenticios, diseñados específicamente para promover la salud. Dicho autor definía a los probióticos como «organismos y sustancias que contribuyen al balance microbiano intestinal». Fuller (5), en 1989, puntualiza esta definición proponiendo que los probióticos son «suplementos dietéticos a base de microbios vivos que afectan beneficiosamente al huésped mejorando su balance intestinal»; de este modo, elude el término “sustancia”, que podría hacer referencia inclusive a los antibióticos (6). Una definición más reciente nos la ofrece Gorbach (7) definiendo los probióticos como «microorganismos vivos que, consumidos en cantidades apropiadas, ejercen un efecto beneficioso en la salud inherente a la nutrición general».

El hecho de creer en los efectos beneficiosos de los probióticos está basado en el conocimiento de que la microflora intestinal proporciona protección frente a diversas enfermedades. En primer lugar, se ha demostrado que los animales gnotobióticos presentan mayor susceptibilidad a enfermedades que sus homólogos con una flora intestinal completa. En segundo lugar, sabemos que el tratamiento con antibióticos, tanto en animales como en personas, aumenta la susceptibilidad a enfermedades; ejemplo representativo de ello es la colitis pseudomembranosa causada por *C. difficile*, asociada con el tratamiento antibiótico. En tercer lugar, se demostró que aplicando enemas fecales provenientes de individuos sanos en aquellos que padecían dicha colitis, la enfermedad se tornaba reversible (8-10).

La caries dental constituye una de las formas de

infección más común y costosa en el ser humano. Aunque el flúor y otros esfuerzos preventivos han dado lugar a una notable disminución de esta enfermedad, la capacidad para controlar la infección real ha sido limitada (11).

La cavidad oral es un complejo ecosistema en el que se localiza una microbiota muy rica y diversa. En estado de equilibrio, la mayoría de las bacterias son compatibles con la salud oral; sin embargo, la alteración de dicha homeostasis (por factores como la dieta, situaciones de enfermedad, medicamentos, etc.) puede suponer un aumento en la patogenicidad de ciertos microorganismos, fomentando la caries dental (11).

Çaglar y cols. (12) creen en la bacterioterapia como una alternativa prometedora para combatir las infecciones dentales, mediante el uso de bacterias inocuas que desplacen los microorganismos patógenos, promoviendo el equilibrio bacteriano.

MICROORGANISMOS PROBIÓTICOS

Los requisitos que debe reunir una cepa bacteriana para ser considerada probiótica son (7):

- Ser de origen humano.
- No ser patógena por naturaleza.
- Ser resistente a la destrucción por procedimientos tecnológicos.
- Resistencia a los ácidos del tracto digestivo (secreciones gástricas y bilis).
- Adhesión a las células epiteliales.
- Colonización del intestino, incluso por cortos periodos.
- Producción de sustancias antimicrobianas.
- Capacidad de crecimiento.
- Efectos beneficiosos para la salud.

Por lo general, las bacterias empleadas como probióticas son bacterias ácido lácticas, pertenecientes principalmente a los géneros *Lactobacillus* y *Bifidobacterium*, aunque no exclusivamente (12-15) (Tabla I).

TABLA I

BACTERIAS EMPLEADAS COMO PROBIÓTICAS

| <i>Lactobacillus</i> | <i>Bifidobacterium</i> | <i>Streptococcus</i> | <i>Enterococcus</i> | Otros |
|-------------------------|------------------------|------------------------|---------------------|---------------------------|
| <i>L. acidophilus</i> | <i>B. bifidum</i> | <i>S. thermophilus</i> | <i>E. faecium</i> | <i>S. bouhardii</i> |
| <i>L. bulgaricus</i> | <i>B. breve</i> | <i>S. salivarius</i> | <i>E. faecalis</i> | <i>P. freudenreichii</i> |
| <i>L. casei</i> | <i>B. longum</i> | <i>S. equinus</i> | | <i>E. coli</i> |
| <i>L. paracasei</i> | <i>B. adolescentis</i> | | | <i>Lactococcus lactis</i> |
| <i>L. casei Shirota</i> | <i>B. lactis</i> | | | |
| <i>L. rhamnosus GG</i> | <i>B. infantis</i> | | | |
| <i>L. johnsonii Lal</i> | <i>B. animalis</i> | | | |
| <i>L. helveticus</i> | | | | |
| <i>L. plantarum</i> | | | | |
| <i>L. salivarius</i> | | | | |
| <i>L. reuteri</i> | | | | |
| <i>L. lactis LIA</i> | | | | |
| <i>L. thermophilus</i> | | | | |
| <i>L. gasseri</i> | | | | |
| <i>L. crispatus</i> | | | | |

MECANISMOS DE ACCIÓN

El mecanismo de acción de los probióticos no está plenamente establecido, aunque en líneas generales, se acepta que son capaces de mantener su viabilidad tras haber entrado en contacto con los ácidos gástricos, alcanzando y adhiriéndose a la mucosa intestinal, desde donde ejercen sus funciones, compitiendo con los microorganismos patógenos y aumentando la inmunidad y resistencia a la infección por parte del huésped (14).

Actúan acidificando la luz intestinal, segregando sustancias que inhiben el crecimiento de microorganismos patógenos, consumiendo nutrientes específicos o uniéndose competitivamente a los receptores intestinales de forma que mantienen la flora intestinal y evitan la acción de gérmenes patógenos (16).

Según Tormo, podemos resumir los mecanismos de acción en los siguientes (17):

—Las bacterias probióticas son acidófilas, acidogénicas y acidúricas, es decir, pueden desarrollarse a pH ácido, generar ácidos (generalmente, ácido láctico) que impidan el crecimiento de gérmenes patógenos y seguir descendiendo el pH por debajo de 4, expresando su máxima eficiencia.

—Los lactobacilos y bifidobacterias promueven la maduración del intestino y su integridad. Son antagonistas de patógenos y contribuyen a la modulación de la inmunidad intestinal.

—Ejercen influencia en la transferencia de plásmidos y en el establecimiento de transjugados en el intestino.

—Poseen la capacidad de adherirse a enterocitos y colonocitos y afectan a la composición del ecosistema intestinal, incrementando el efecto barrera no dependiente del sistema inmunológico.

—Desempeñan un efecto competitivo con otras bacterias, ocupando sus lugares de nidación e inhibiendo el crecimiento de especies enteropatógenas.

—Aumentan la expresión de las mucinas ileocolónicas coadyuvando al recubrimiento del intestino de una capa de moco, eficaz en la lucha antibacteriana.

—Compiten con nutrientes de la flora intestinal patógena.

—Dificultan la translocación bacteriana.

—Pueden influir y modular las respuestas inmunitarias, en parte mediadas por el tejido linfoide asociado al intestino. Son capaces de aumentar la producción de α -interferón por parte de linfocitos y macrófagos. Estimulan las células *T helper*, productoras de citoquinas y responsables de la inmunidad celular (importancia en las alergias). Aumentan la producción de IgA, efecto beneficioso en la defensa contra infecciones.

EFECTOS BENEFICIOSOS DE LOS PROBIÓTICOS EN EL PACIENTE PEDIÁTRICO

La incorporación del tratamiento antibiótico a mediados del siglo XX supuso un gran avance en el manejo de las infecciones; sin embargo, la rápida y creciente aparición de resistencias ha llevado a la búsqueda de nuevos métodos para combatir las enfermedades infecciosas. Es

así como vuelve a resurgir el antiguo criterio del empleo de bacterias beneficiosas para la salud. Actualmente, dentro del concepto de antibioticoterapia, viene empleándose con frecuencia el término “bacterioterapia” para definir el efecto antibacteriano de determinadas bacterias, aunque también otros microorganismos, como hongos y levaduras, pueden presentar esta propiedad (6,13).

En la actualidad, existen numerosos estudios (18-33) bien documentados que relacionan los alimentos probióticos con una mejora en la salud pediátrica, aunque no tienen suficiente ímpetu como para hacer de los probióticos un fármaco. Algunos de los beneficios que estos alimentos aportan a los niños son:

—*Prevención de la diarrea asociada a antibióticos*

La diarrea es un efecto secundario bastante común tras el uso de antibióticos. Szajewska (18) realizó un metaanálisis revisando los estudios de mayor envergadura (19-24), sobre la administración de probióticos en la prevención de la diarrea asociada a antibióticos, en la población infantil. Pudo concluir que los probióticos reducen el riesgo de padecer este tipo de diarrea, ya que de cada siete niños que desarrollaran la enfermedad, uno menos la sufriría si recibiera probióticos. Las cepas más prometedoras en este campo son: *Lactobacillus rhamnosus Gorbach Goldin* (en adelante, LGG), *S. boulardii*, *B. lactis* y *S. thermophilus*.

—*Tratamiento de la diarrea aguda*

Con el fin de constatar la eficacia de los probióticos en el tratamiento de la diarrea aguda, Rosenfeldt y cols. (34) realizaron un estudio con 69 niños hospitalizados. En más de la mitad de los casos, el proceso era atribuido a rotavirus. Con tal fin, se administró *L. reuteri* y *L. rhamnosus* al grupo experimental durante cinco días. La duración del cuadro diarreico fue menor en este grupo, pero sólo se encontraron resultados significativos cuando la administración del probiótico había tenido lugar dentro de las primeras 60 horas desde el momento de aparición del cuadro. Es por ello que los autores concluyen que los probióticos son beneficiosos en estas situaciones, más aún cuando son suministrados en una etapa precoz de la enfermedad.

Autores de estudios similares también obtuvieron resultados favorables, habiendo hecho uso de cepas diferentes (*L. paracasei*, *L. casei*, *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*) (25-28).

—*Prevención de la diarrea*

Saavedra (29) llevó a cabo un estudio con 55 niños, de entre 5 y 24 meses de edad. Encontró que la administración de una fórmula infantil a base de *B. bifidus* y *S. thermophilus* reducía la incidencia de diarrea. El riesgo de gastroenteritis por rotavirus fue significativamente menor en aquellos que recibieron la fórmula con probióticos.

—*Enfermedades alérgicas*

Podemos encontrar diversos estudios (30-32) que prueban la ayuda de los probióticos en casos de dermatitis atópicas e intolerancia a la lactosa entre otras reacciones alérgicas. Majamaa e Isolauri (30) evaluaron

niños con eccemas atópicos y alergia a la leche de vaca, encontrando beneficios con el empleo de *LGG*.

Kalliomaki y cols. (31,32) administraron *LGG* a mujeres embarazadas que tenían al menos un pariente directo con antecedentes de eccema atópico, rinitis alérgica o asma. Se les administró al final del periodo de gestación, y posteriormente durante seis meses a sus bebés. A la edad de dos años, de los 132 niños que formaban la muestra, se había diagnosticado eccema atópico en 46, asma en 6 y rinitis alérgica en 1. La frecuencia de eccema atópico en el grupo probiótico fue justo la mitad que en el grupo control. Se infiere por tanto que *Lactobacillus GG* es eficaz en la prevención temprana de la enfermedad atópica en niños de alto riesgo. Los mismos niños que participaron en este estudio se reevaluaron a la edad de 4 años, persistiendo el efecto protector contra la dermatitis atópica.

—Enfermedades respiratorias

Hatakka y cols. (33) elaboraron un estudio de siete meses de duración en una muestra de 571 niños sanos de guarderías, de entre 1 a 6 años. Su intención era contemplar de qué modo *Lactobacillus GG* afectaba al riesgo de padecer infecciones respiratorias. Este lactobacilo no sólo disminuyó la frecuencia de aparición de las infecciones, sino que cuando aparecían eran menos severas.

PROBIÓTICOS Y CARIES DENTAL

ADHERENCIA Y COLONIZACIÓN ORAL DE LOS PROBIÓTICOS

Dado que existen numerosos estudios que han probado el papel de los probióticos en las afecciones gastrointestinales, y teniendo en cuenta que la cavidad oral representa la puerta de entrada al tracto digestivo, Meurman y cols. (6) sugieren que, al menos, algunas cepas probióticas también podrán alcanzar algún cometido en la cavidad bucal. Asimismo, también insinúan que la microflora oral podría contener microorganismos residentes con capacidad probiótica, cohabitando en la placa dental y contribuyendo en la formación y desarrollo de los diferentes biofilms orales.

Para que una bacteria probiótica ejerza un efecto anticariogénico debe, progresivamente, ser capaz de adherirse a la superficie del diente, adaptarse al biofilm y competir con los microorganismos cariogénicos, reduciendo su colonización. La determinación de los mejores probióticos para el fomento de la salud oral es una línea de investigación abierta (6). Comelli y cols. (35) elaboraron un estudio *in vitro* con el fin de determinar qué cepas probióticas podían desempeñar un papel preventivo en la patogénesis de la caries dental. Para ello dispusieron de 23 bacterias probióticas acidolácticas, pertenecientes a dos especies (*Streptococcus thermophilus* y *Lactococcus lactis*) y cinco cepas de microorganismos orales (*S. sobrinus*, *S. oralis*, *A. naeslundii*, *V. dispar* y *F. nucleatum*). Observaron cómo *S. thermophilus* y *L. lactis* eran capaces de adherirse a la hidroxiapatita y crecer en el biofilm, del mismo modo en que lo hace el cariogénico *S. sobri-*

nus. Además, *L. lactis* moduló el crecimiento de las bacterias orales, disminuyendo la colonización de cuatro especies representativas de la placa supragingival: *S. oralis*, *V. dispar*, *A. naeslundii* y *S. sobrinus*.

En 2005, Lima y cols. (36) tomaron 30 dientes bovinos a los que indujeron caries artificialmente. Posteriormente, una mitad de la muestra fue sumergida en un caldo de cultivo con *L. acidophilus*, y la otra mitad en un caldo con *L. casei* Shirota. El número de unidades formadoras de colonias (en adelante, UFC) en la dentina careada fue mayor en el caso de *L. acidophilus*, lo que le confería un potencial de adhesión superior al de *L. casei*.

Fusobacterium nucleatum, frecuente en procesos periodontales, posee la capacidad de formar puentes que facilitan la colonización de otros microorganismos mediante coagregación (37). Kang y cols. (38) testaron el papel probiótico de *Weissella cibaria* (adquirida de muestras salivales) al cuestionarse su capacidad de coagregación con *F. nucleatum* y su capacidad de anclaje a las células epiteliales. La coagregación de *W. cibaria* fue realmente importante, así como su adherencia a células epiteliales mediante una proteína de su pared celular. Los autores destacan su poder probiótico, con capacidad de establecer una flora bucal protectora frente a patógenos orales.

En un estudio previo en el que colaboraron nueve sujetos, Meurman y cols. (39) proporcionaron un yogur con *LGG* dos veces al día, durante una semana. Se recogieron muestras de saliva una, dos y tres semanas posteriores a la ingesta. *LGG* estaba presente en los nueve individuos después de una semana sin tomar el yogur, y en ocho de ellos después de dos semanas. Parece obvio que este lactobacilo es capaz de colonizar la cavidad oral. Sin embargo, Yli-Knuutila y cols. (40) no pudieron llegar a las mismas conclusiones. En su estudio contaban con 56 voluntarios que tomaron un zumo probiótico durante un periodo de 14 días. En este caso, *LGG* no fue capaz de colonizar la cavidad oral ya que tan sólo pudo apreciarse discretamente durante el periodo de intervención.

Conociendo los mecanismos cariogénicos y de formación de la placa dental que emplea *S. mutans* a través de la síntesis de glucanos, que permiten la adherencia bacteriana sobre las superficies dentales, Chung y cols. (41) se propusieron aislar y caracterizar aquellas especies de *Lactobacillus* que fueran capaces de inhibir la síntesis de estos glucanos. Desarrollaron un estudio *in vitro* para el que recogieron muestras salivales de 160 niños, de las cuales obtuvieron el estreptococo y los lactobacilos. Mediante técnicas de ADN fueron identificados 150 lactobacilos. De estos, solamente dos cepas demostraron tener un poder inhibitorio sobre la formación de glucanos. Chung, en su artículo, tan sólo nos describe una de ellas: *L. fermentum*. Este microorganismo inhibió la formación del 91% de glucanos.

PREVENCIÓN DE LA CARIES DENTAL

El papel de las bacterias probióticas en la prevención de la caries fue sugerido por primera vez en 1985 por

Ishihara y cols. (42). Estos autores aislaron, de las heces de personas sanas, cepas de *L. fermentum*, *L. salivarius*, *S. faecium* y *S. equinus*, obteniendo posteriormente de las cepas unos extractos solubles en agua, que más tarde mezclaron con saliva de individuos sanos *in vitro*. Demostraron que estas bacterias acidolácticas procedentes del intestino inhibían significativamente el crecimiento de *S. mutans* en saliva y, en menor grado, de otros estreptococos orales.

Diversos investigadores (43-47) observaron cómo diferentes especies de *Lactobacillus* eran capaces de producir sustancias antimicrobianas cuando crecían en un medio específico (Tabla II).

TABLA II

SUSTANCIAS ANTIMICROBIANAS PRODUCIDAS POR LAS BACTERIAS PROBIÓTICAS

| Bacteria | Sustancia antimicrobiana | Inhibición |
|---------------------------|--|---|
| <i>L. acidophilus</i> | Lactocidin | Principalmente Gram (-) Gram (+) |
| <i>L. acidophilus</i> N2 | Bacteriocina Alto PM Estructura de péptido Crecimiento óptimo a pH 6 Sensibles a proteasas | Especies de la familia <i>Lactobacillaceae</i> |
| <i>L. acidophilus</i> | Acidolin Bajo PM | Enteropatógenos Organismos formadores de esporas En menor medida, bacterias acidolácticas |
| <i>Lactobacillus</i> GG | Ácido graso de cadena corta Bajo PM Resistente a proteasas Resistencia al calor Actividad inhibitoria a pH entre 3 y 5 | Gram (+) Gram (-) Bacterias acidolácticas No inhibe otros lactobacilos |
| <i>Lactococcus lactis</i> | Bacteriocina | <i>S. mutans</i> <i>S. aureus</i> <i>E. faecalis</i> <i>Pneumococcus</i> <i>Propionibacterium</i> |

El lacticin 3147 es una bacteriocina de amplio espectro producida por el *Lactococcus lactis*. Resulta activo a pH neutro y ha demostrado su poder bactericida *in vitro* frente a estafilococos y estreptococos (43). Apoyándose en esta contemplación, O'Connor y cols. (48) tomaron 47 muestras de saliva procedentes de niños irlandeses, representativas de los diferentes niveles de cariogenicidad (establecidos según el número de UFC de *S. mutans*, en alto, medio o bajo). El lacticin 3147 desempeñó una gran inhibición *in vitro* de *S. mutans*.

Lactobacillus rhamnosus GG (*LGG*) es la bacteria probiótica más ampliamente estudiada. Sylva y cols.

(44) realizaron un estudio *in vitro* en el que aislaron la sustancia inhibitoria producida por *LGG*. Dicha sustancia posee la capacidad de inhibir un amplio espectro de bacterias gram positivas (inclusive estreptococos) y gram negativas, no mostrando ningún efecto sobre otros lactobacilos. La inhibición se produjo a pH entre 3 y 5. Dadas las características de esta sustancia, se pensó que podía tratarse de un ácido graso de cadena corta, aunque también presentaba similitudes con las microcinas. Además, es resistente a diferentes tipos de proteasas y al calor.

Basándose en la investigación de Sylva, Meurman y cols. (49) evaluaron, *in vitro*, el crecimiento de estreptococos orales en presencia de la sustancia inhibitoria producida por *LGG*. También estudiaron la fermentación de azúcares producida por el lactobacilo. La sustancia inhibitoria impidió, aunque de manera débil, el crecimiento de *S. sobrinus* sin alterar su ultraestructura celular. La inhibición se produjo a pH 5. Al igual que en el estudio de Silva, *LGG* resultó ser no fermentador de sacarosa.

Respecto al rol de las bacterias probióticas en la prevención de la caries dental en niños, tan sólo hemos encontrado un estudio clínico, llevado a cabo en Helsinki en 2001. Näse y cols. (50) contaron con una muestra de 594 niños finlandeses en cuyas guarderías se les administró durante 7 meses leche con la bacteria probiótica *LGG* y leche sin la bacteria al grupo control. La edad de los participantes fue de entre 1 y 6 años. El análisis de las muestras de saliva y placa confirmaron el antagonismo entre *LGG* y *S. mutans*, dada la disminución de UFC de *S. mutans*. Se demostró así el papel protector de la leche con *LGG* frente a la caries en niños. Además, este efecto protector se hizo más patente en el grupo de edad de 3 a 4 años y especialmente, en las superficies oclusales de los molares primarios.

De nuevo en Finlandia, Ahola y cols. (51) querían estimar los cambios en la microflora oral tras la ingesta de queso con *LGG* y *L. rhamnosus* LC 705, durante un corto periodo de tiempo (3 semanas). Disponían de 74 adultos jóvenes, de edades comprendidas entre los 18 y 35 años, a los que administraron 15 gramos de queso probiótico 5 veces al día, siempre tras las comidas. Se recogieron muestras salivales antes y después de la intervención, así como tres semanas después de la administración del queso probiótico, a partir de las cuales se realizó el recuento de *S. mutans*, lactobacilos y levaduras. También se registraron el flujo salival estimulado y la capacidad tampón de la saliva, dada su implicación en el riesgo de caries. No hubo variaciones significativas en el recuento de *S. mutans* durante la intervención ni al finalizar esta; no obstante, el cómputo de *S. mutans* y levaduras se vio disminuido en un 20 y 27% respectivamente. Sin embargo, después de las tres semanas postratamiento, el recuento de *S. mutans* y levaduras salivales había disminuido significativamente, mientras que el recuento de lactobacilos se vio incrementado.

De características similares es el estudio que Montalto y cols. (52) llevaron a cabo en 35 adultos, a los que administraron una mezcla de diversos lactobacilos, tanto en forma líquida como en cápsulas, durante un perio-

do de 45 días. Empleando las cápsulas, querían averiguar si el aumento de lactobacilos orales era causado por contacto directo o no. Los resultados mostraron un aumento significativo de estos microorganismos en el recuento salival, fuera cual fuese la forma de administración, mientras que las poblaciones de *S. mutans* no se vieron alteradas.

Talarico y cols. (53, 54) habían descubierto en 1988 una sustancia inhibitoria producida por *L. reuteri*, a la que llamaron reuterin. Su poder de inhibición fue demostrado sobre diversas especies bacterianas, ninguna en relación con el ecosistema oral. Apoyándose en ello, Nikawa y cols. (55) realizaron un estudio *in vivo*, en el que participaron 40 mujeres de 20 años de edad, sin evidencia de caries activa, gingivitis o enfermedad periodontal. Aleatoriamente, se organizaron dos grupos de 20 mujeres cada uno. El primer grupo recibió un yogurt placebo después de la comida, mientras que el yogurt del segundo grupo contenía la bacteria *L. reuteri*. La semana previa al estudio ningún grupo consumió alimentos probióticos. La administración de los yogures tuvo lugar durante dos semanas, realizándose mediciones de *S. mutans* en saliva previa y posteriormente a la administración. Sus resultados demostraron el efecto inhibitorio de *S. mutans* causado por *L. reuteri* presente en la leche de vaca fermentada. Se demostraba así el efecto anticariogénico de *L. reuteri*.

La aportación de Çağlar y cols. (56-59) en este campo es realmente importante. En 2006, realizaron un estudio (56) que tenía por objetivo evaluar el efecto de *L. reuteri* ATCC 55730 sobre el recuento salival de *S. mutans* y lactobacilos en 120 adultos jóvenes (21-24 años) tras su administración en dos formas diferentes: pastillas o pajitas recubiertas. Estas pajitas corresponden al nombre de Life Top Straw® (BioGaia AB, Stock-

holm, Sweden) y no son más que pajitas para beber que en su superficie interna cuentan con un aceite que contiene *L. reuteri*, liberado únicamente al consumir una bebida. Ambas formas de administración del lactobacilo mostraron una reducción significativa de *S. mutans* en saliva en comparación al grupo placebo.

Recientemente, en 2008, obteniendo también una disminución de *S. mutans* significativa en presencia del mismo *L. reuteri*, Çağlar y cols. (57) utilizaron como forma de administración del probiótico un nuevo producto sanitario. Consiste en un chupete, en el interior de cuya tetina insertaron la pastilla probiótica. La tetina cuenta con unos pequeños orificios de 0,5 mm de diámetro, a través de los cuales la pastilla se disuelve totalmente en la cavidad oral en unos 10-12 minutos.

La mayoría de estudios citados (50-52,55-57) apuntan hacia los lactobacilos como promotores de la prevención de caries. Sin embargo, Çağlar y cols. (58) también cuentan con investigaciones basadas en bifidobacterias (Tabla III). En un estudio llevado a cabo en 2005, optaron por una muestra de 21 adultos jóvenes a los que administraron en forma de yogur *Bifidobacterium* DN-173 010, siendo capaz de disminuir de manera significativa el recuento salival de *S. mutans*, y no significativamente el de lactobacilos. De nuevo en 2008, realizaron un estudio de características semejantes, en el que el *Bifidobacterium lactis* Bd-12 obtuvo los mismos resultados, esta vez administrado en forma de helado (59).

Reladent® ha sido el primer probiótico diseñado especialmente para promover la salud oral. Consiste en un chicle que contiene en su composición *L. reuteri prodentis* que se comercializa en farmacias suecas en cajas de 30 unidades. En la página oficial del producto (<http://www.biogaia.se>) estos chicles se aconsejan para

TABLA III

ESTUDIOS RELACIONADOS CON LA PREVENCIÓN DE LA CARIES DENTAL

| Referencia | Tipo de estudio | N / edad | Microorganismo | Tiempo | Cometido en la cavidad oral |
|-------------------------|-----------------|------------------|--|-----------|--------------------------------------|
| Näse y cols. (2001) | ECA, DC | 594 / 1-6 años | <i>L. rhamnosus</i> GG | 7 meses | Disminución SM en saliva |
| Ahola y cols. (2002) | ECA, DC | 74 / 18-35 años | <i>L. rhamnosus</i> GG y <i>L. rhamnosus</i> LC 705 | 3 semanas | Disminución SM y levaduras en saliva |
| Montalto y cols. (2004) | ECA, DC | 35 / 23-37 años | <i>Lactobacillus</i> spp. | 45 días | Incremento LB en saliva |
| Nikawa y cols. (2004) | ECA, DC | 40 / 20 años | <i>L. reuteri</i> | 4 semanas | Disminución SM en saliva |
| Çağlar y cols. (2006) | ECA, DC | 120 / 21-24 años | <i>L. reuteri</i> | 3 semanas | Disminución SM en saliva |
| Çağlar y cols. (2008) | ECA, DC | 20 / 20 años | <i>L. reuteri</i> | 10 días | Disminución SM en saliva |
| Çağlar y cols. (2005) | EAC, DB | 21 / 21-24 años | <i>Bifidobacterium</i> DN-173 010 | 2 semanas | Disminución SM en saliva |
| Çağlar y cols. (2008) | EAC, DB | 24 / 20 años | <i>Bifidobacterium lactis</i> Bd-12 | 20 días | Disminución SM en saliva |

LB: Lactobacilos. SM: *S. mutans*. ECA: ensayo controlado aleatorizado. DC: doble ciego. EAC: ensayo aleatorio cruzado.

promover la salud gingival, reforzar la inmunidad natural de la boca, disminuir las bacterias patógenas y resolver procesos de halitosis.

FORMA DE ADMINISTRACIÓN DE LOS PROBIÓTICOS

La forma de administración de los probióticos está en función del alimento o formato que los contenga. Básicamente encontramos probióticos (60):

- Añadidos a bebidas (p. ej.: zumo).
- Inoculados en bebidas lácteas (p. ej.: leche, yogur, queso).
- Liofilizados en suplementos dietéticos (p. ej.: comprimidos, chicles).

La forma más frecuente en la que se presenta un alimento probiótico es el yogur. Así mismo, el consumo diario de productos lácteos es el modo más habitual de ingerir bacterias probióticas (12).

PREVENCIÓN DE OTRAS AFECCIONES BUCODENTALES

PROBIÓTICOS Y ENFERMEDAD PERIODONTAL

La investigación acerca del rol de los probióticos a nivel oral también ha tenido lugar en el campo de la periodoncia. Krasse y cols. (61) proporcionaron *L. reuteri* durante dos semanas a sujetos que padecían gingivitis (de moderada a severa). Tras este periodo, los resultados mostrados fueron favorables para el sangrado gingival, índice de gingivitis y control de placa.

Volozhin y cols. (62) crearon un apósito periodontal compuesto por colágeno y *L. casei* que aplicaron en pacientes con periodontitis crónica generalizada, en combinación con su tratamiento de base. A través de muestras tomadas de las bolsas periodontales, se vio una gran disminución de las especies periodontopatógenas: *Actinomyces sp.*, *S. intermedius* y *Bacteroides sp.*

Sin embargo, no existen suficientes pruebas para certificar la labor de los probióticos en la terapia de la enfermedad periodontal (63).

PROBIÓTICOS Y CANDIDIASIS ORAL

C. albicans es el agente fúngico que con mayor frecuencia infecta la cavidad oral. La incidencia de estas infecciones es mayor en personas ancianas o en inmunodeprimidos (64). Testando la capacidad de colonización de *L. acidophilus* y *L. fermentum*, Elahi y cols. (65) encontraron un apresurado declive de *C. albicans* en ratones, tras la ingesta de las cepas probióticas. El consumo continuado de estos probióticos llevó a un número indetectable de hongos en la cavidad oral, manteniéndose este efecto protector durante un largo periodo de tiempo tras el cese de la ingesta.

Tras el consumo de 50 gramos diarios de un queso probiótico (*L. rhamnosus GG* y *Propionibacterium freudenreichii*) durante 16 semanas, Hatakka y cols. (66) encontraron en los 276 participantes de su estudio alentadores resultados. *C. albicans* disminuyó en un 32% en el grupo probiótico y aumentó un 34% en el grupo control. El riesgo de hiposalivación, factor también medido, descendió en un 56%, por lo que los autores concluyen que estas bacterias probióticas pueden ser efectivas en el control de la infección por *C. albicans* y en el aumento del flujo salival (que puede verse disminuido en este tipo de infecciones).

PROBIÓTICOS Y HALITOSIS

Halitosis es el término empleado para describir el aliento desagradable. La causa principal de esta condición es la putrefacción de sustratos proteicos, principalmente, por parte de los microorganismos gram negativos. Esto genera compuestos sulfúricos volátiles, que constituyen los componentes más fétidos del mal aliento (67).

Kang y cols. (68) observaron una potente inhibición de la producción de compuestos volátiles sulfurados (en adelante, CVS) por parte de *F. nucleatum* tras la ingesta de *W. cibaria*, tanto *in vitro* como *in vivo*. Administrando un enjuague bucal en niños que contenía la bacteria probiótica, percibieron una reducción de aproximadamente el 50% de los CVS.

En un estudio realizado por Burton y cols. (69) empleado *S. salivarius* K12 como bacteria probiótica, ésta fue capaz de inhibir a *S. anginosus*, *E. saburreum*, *M. micros* y *P. intermedia*, aunque no pudo impedir el crecimiento de *P. gingivalis*, bacterias orales todas ellas implicadas en los procesos de halitosis. Estos autores explican como el mal olor vuelve a instaurarse cuando los pacientes dejan de emplear sus colutorios antimicrobianos, momento que sugiere como ideal para el consumo de probióticos a modo preventivo de la halitosis.

Aunque los resultados son alentadores, existen actualmente pocos estudios para concluir que los probióticos pueden destinarse al tratamiento de la halitosis (63).

DISCUSIÓN

El requisito que debe presentar un microorganismo probiótico para poder desempeñar algún cometido en la cavidad oral es la capacidad de adherirse y colonizar las diferentes superficies orales (63). Las especies de lactobacilos que predominan en la saliva, según el estudio de Teanpaisan y Dahlen (70), son *L. fermentum*, *L. rhamnosus*, *L. salivarius*, *L. casei*, *L. acidophilus* y *L. plantarum*. La mayoría de estas especies se emplean como probióticas en productos lácteos. No existe suficiente evidencia científica para afirmar que la cavidad oral es el hábitat permanente de ciertas bacterias probióticas, ya que las especies encontradas como predominantes en el estudio de Teanpaisan (63) podrían proceder de un consumo frecuente de productos probióticos, tratándose de una colonización temporal.

Ahola (51) no encontró diferencias en el recuento de *S. mutans* durante el periodo de administración de LGG, mientras que Näse (50) sí las obtuvo. En primer lugar, podría ser debido a que los probióticos empleados por Ahola no tenían ningún efecto sobre los parámetros estudiados. Si comparamos ambos estudios, se hacen evidentes algunas desigualdades en cuanto a la metodología: Näse tomó como muestra niños de 1 a 6 años, mientras que Ahola hizo lo propio con adultos de 18 a 35 años. Es posible que la flora oral del niño no sea suficientemente madura y se vea afectada con mayor facilidad. Las cepas descritas en ambos artículos son diferentes. Asimismo, la leche proporcionada en las guarderías sólo contenía LGG, mientras que el queso administrado a los adultos contaba con dos cepas distintas de lactobacilos, lo que pudo originar interacciones bacterianas que llevaron a resultados diferentes. Además, el estudio de Näse era de larga duración (7 meses), mientras que el de Ahola se desarrollaba durante 3 semanas. Montalto y cols. (52) obtuvieron resultados similares a los de Ahola, siendo su estudio semejante en cuanto a que también fue realizado en adultos y durante una corta etapa (45 días).

El hecho de que Ahola (51) encontrara una reducción significativamente estadística de *S. mutans* durante el periodo postratamiento, nos sugiere que estas bacterias probióticas precisan de un período largo de tiempo para colonizar la cavidad oral y ejercer un efecto beneficioso. Esto también justificaría que no se hubieran encontrado diferencias estadísticamente significativas durante el periodo de administración, ya que se trataba de un corto periodo de tiempo.

Ahola (51) observó un aumento en el recuento de lactobacilos salivales tras la ingesta del queso probiótico, circunstancia que él sugirió que pudiese responder al hecho de que el queso por sí mismo ya contiene estos microorganismos. Montalto (52) administró una mezcla de diversos lactobacilos, tanto en forma líquida como en cápsulas, con el fin de averiguar si el aumento de lactobacilos orales era causado por el contacto directo o no. Los resultados mostraron un aumento significativo de estos microorganismos en el recuento salival, fuera cual fuese la forma de administración. Los resultados de Ahola y Montalto (51,52) mostraron total discrepancia con el resto de autores citados. Tal diferencia puede ser debida a que estos últimos (51,52) emplean una única cepa de lactobacilos, y no un conjunto de ellas, pudiendo haber habido interacciones que alteraron el resultado de sus estudios.

El estudio de Lima (36) acerca de la capacidad de adhesión de *L. acidophilus* y *L. casei shirota* a la dentina careada carece de veracidad, dado que los dientes empleados son de origen bovino, presentando de antemano las limitaciones de un estudio *in vitro*. El empleo de molares primarios careados proporcionaría mayor evidencia científica en futuros estudios.

CONCLUSIONES

Los probióticos son un nuevo e interesante campo de investigación en microbiología oral, así como en la salud bucodental. La prevención y control de la enfer-

medad de caries en niños precisa desarrollar y estandarizar nuevos protocolos.

Diferentes estudios han avalado la acción positiva de los probióticos sobre la salud pediátrica general. La bacterioterapia parece ser un modo natural de mantener la salud y proteger los tejidos orales de la enfermedad. La ingesta diaria de productos probióticos en niños se presenta como una opción prometedora en la prevención de la caries. Sin embargo, se precisan más estudios en niños para conocer mejor la acción de las bacterias probióticas en la cavidad oral, así como su capacidad de colonización y formación de biofilms que permitan averiguar de qué modo afectan a la flora residente.

CORRESPONDENCIA:

Luis Jorge Bellet Dalmau
Departamento de Odontopediatría
Facultad de Odontología
Universitat Internacional de Catalunya
C/ Joseph Trueta, s/n
08190 Sant Cugat del Vallès, Barcelona
e-mail: ljbelle@csc.uic.edu

BIBLIOGRAFÍA

1. Metchnikoff E. The prolongation of life. Optimistic Studies. London: Heineman; 1907.
2. Tissier H. Traitement des infections intestinales par la methode de transformation de la flore bacterienne de l'intestin. CR Soc Biol 1906; 60: 359-61.
3. Lilly DM, Stillwell RH. Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms. Science 1965; 147: 747-8.
4. Parker R. Probiotics, the other half of antibiotic story. Anim Nutr Health 1974; 29: 4-8.
5. Fuller R. Probiotics in man and animals. J Appl Bacteriol 1989; 66(5): 365-78.
6. Meurman JH. Probiotics: do they have a role in oral medicine and dentistry? Eur J Oral Sci 2005; 113(3): 188-96.
7. Gorbach SL. Probiotics in the third millennium. Dig Liver Dis 2002; 34 (Suppl 2): S2-7.
8. Fuller R. Probiotics in human medicine. Gut 1991; 32(4): 439-42.
9. Schwan A, Sjolín S, Trottestam U, Aronsson B. Relapsing *Clostridium difficile* enterocolitis cured by rectal infusion of normal faeces. Scand J Infect Dis 1984; 16(2): 211-5.
10. Bartlett JG, Taylor NS, Chang T, Dzink J. Clinical and laboratory observations in *Clostridium difficile* colitis. Am J Clin Nutr 1980; 33(11 Suppl): 2521-6.
11. Cuenca E. Caries: fundamentos actuales de su prevención y control. En: Cuenca E, Manau C, Serra L, editores. Odontología preventiva y comunitaria. Principios, métodos y aplicaciones. 2ª ed. Barcelona: Masson; 1999. p. 15-23.
12. Çağlar E, Kargul B, Tanboga I. Bacterioterapia and probiotics' role on oral health. Oral Dis 2005; 11(3): 131-7.
13. López-Brea M, Domingo D. Antibioticoterapia con probióticos. Rev Esp Quimioterap 2007; 20(2): 170-81.
14. Morais MB, Jacob CM. The role of probiotics and prebiotics in pediatric practice. J Pediatr (Rio J) 2006; 82(5 Suppl): S189-97.
15. Yeung PS, Sanders ME, Kitts CL, Cano R, Tong PS. Species-specific identification of commercial probiotic strains. J Dairy Sci 2002; 85(5): 1039-51.
16. Ferrer B, Dalmau J. Alimentos funcionales: probióticos. Acta Pediatr Esp 2001; 59: 150-5.
17. Tormo R. Probióticos. Concepto y mecanismos de acción. An

- Pediatr Monogr 2006; 4(1): 30-41.
18. Szajewska H, Ruszczynski M, Radzikowski A. Probiotics in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children: a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Pediatr* 2006; 149(3): 367-72.
 19. Vanderhoof JA, Whitney DB, Antonson DL, Hanner TL, Lupo JV, Young RJ. Lactobacillus GG in the prevention of antibiotic-associated diarrhea in children. *J Pediatr* 1999; 135(5): 564-8.
 20. Arvola T, Laiho K, Torkkeli S, Mykkanen H, Salminen S, Mautala L, et al. Prophylactic Lactobacillus GG reduces antibiotic-associated diarrhea in children with respiratory infections: a randomized study. *Pediatrics* 1999; 104(5): e64.
 21. Kotowska M, Albrecht P, Szajewska H. Saccharomyces boulardii in the prevention of antibiotic-associated diarrhoea in children: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 21(5): 583-90.
 22. Tankanow RM, Ross MB, Ertel IJ, Dickinson DG, McCormick LS, Garfinkel JF. A double-blind, placebo-controlled study of the efficacy of Lactinex in the prophylaxis of amoxicillin-induced diarrhea. *Dicp* 1990; 24(4): 382-4.
 23. Jirapinyo P, Densupsoontorn N, Thamonsiri N, Wongarn R. Prevention of antibiotic-associated diarrhea in infants by probiotics. *J Med Assoc Thai* 2002; 85(Suppl 2): S739-42.
 24. La Rosa M, Bottaro G, Gulino N, Gambuzza F, Di Forti F, Ini G, et al. [Prevention of antibiotic-associated diarrhea with Lactobacillus sporogens and fructo-oligosaccharides in children. A multicentric double-blind vs. placebo study]. *Minerva Pediatr* 2003; 55(5): 447-52.
 25. Sarker SA, Sultana S, Fuchs GJ, Alam NH, Azim T, Brussow H, et al. Lactobacillus paracasei strain ST11 has no effect on rotavirus but ameliorates the outcome of nonrotavirus diarrhea in children from Bangladesh. *Pediatrics* 2005; 116(2): e221-8.
 26. Isolauri E. Probiotics for infectious diarrhoea. *Gut* 2003; 52(3): 436-7.
 27. Canani RB, Cirillo P, Terrin G, Cesarano L, Spagnuolo MI, De Vincenzo A, et al. Probiotics for treatment of acute diarrhoea in children: randomised clinical trial of five different preparations. *Bmj* 2007; 335(7615): 340.
 28. Agarwal KN, Bhasin SK. Feasibility studies to control acute diarrhoea in children by feeding fermented milk preparations Actimel and Indian Dahi. *Eur J Clin Nutr* 2002; 56(Suppl 4): S56-9.
 29. Saavedra JM, Bauman NA, Oung I, Perman JA, Yolken RH. Feeding of Bifidobacterium bifidum and Streptococcus thermophilus to infants in hospital for prevention of diarrhoea and shedding of rotavirus. *Lancet* 1994; 344(8929): 1046-9.
 30. Majamaa H, Isolauri E. Probiotics: a novel approach in the management of food allergy. *J Allergy Clin Immunol* 1997; 99(2): 179-85.
 31. Kalliomaki M, Salminen S, Arvilommi H, Kero P, Koskinen P, Isolauri E. Probiotics in primary prevention of atopic disease: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2001; 357(9262): 1076-9.
 32. Kalliomaki M, Salminen S, Poussa T, Arvilommi H, Isolauri E. Probiotics and prevention of atopic disease: 4-year follow-up of a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2003; 361(9372): 1869-71.
 33. Hatakka K, Savilahti E, Ponka A, Meurman JH, Poussa T, Nase L, et al. Effect of long term consumption of probiotic milk on infections in children attending day care centres: double blind, randomised trial. *Bmj* 2001; 322(7298): 1327.
 34. Rosenfeldt V, Michaelsen KF, Jakobsen M, Larsen CN, Moller PL, Pedersen P, et al. Effect of probiotic Lactobacillus strains in young children hospitalized with acute diarrhea. *Pediatr Infect Dis J* 2002; 21(5): 411-6.
 35. Comelli EM, Guggenheim B, Stingle F, Neeser JR. Selection of dairy bacterial strains as probiotics for oral health. *Eur J Oral Sci* 2002; 110(3): 218-24.
 36. Lima LM, Motisuki C, Spolidorio DM, Santos-Pinto L. *in vitro* evaluation of probiotics microorganisms adhesion to an artificial caries model. *Eur J Clin Nutr* 2005; 59(7): 884-6.
 37. Kolenbrander PE. Oral microbial communities: biofilms, interactions, and genetic systems. *Annu Rev Microbiol* 2000; 54: 413-37.
 38. Kang MS, Na HS, Oh JS. Coaggregation ability of Weissella cibaria isolates with Fusobacterium nucleatum and their adhesiveness to epithelial cells. *FEMS Microbiol Lett* 2005; 253(2): 323-9.
 39. Meurman J, Antila H, Salminen S. Recovery of Lactobacillus strain GG (ATCC 53103) from saliva of healthy volunteers after consumption of yoghurt prepared with the bacterium. *Microb Ecol Health Dis* 1994; 7(6): 295-8.
 40. Yli-Knuutila H, Snall J, Kari K, Meurman JH. Colonization of Lactobacillus rhamnosus GG in the oral cavity. *Oral Microbiol Immunol* 2006; 21(2): 129-31.
 41. Chung J, Ha ES, Park HR, Kim S. Isolation and characterization of Lactobacillus species inhibiting the formation of Streptococcus mutans biofilm. *Oral Microbiol Immunol* 2004; 19(3): 214-6.
 42. Ishihara K, Miyakawa H, Hasegawa A, Takazoe I, Kawai Y. Growth inhibition of Streptococcus mutans by cellular extracts of human intestinal lactic acid bacteria. *Infect Immun* 1985; 49(3): 692-4.
 43. Galvin M, Hill C, Ross RP. Lacticin 3147 displays activity in buffer against gram-positive bacterial pathogens which appear insensitive in standard plate assays. *Lett Appl Microbiol* 1999; 28(5): 355-8.
 44. Silva M, Jacobus NV, Deneke C, Gorbach SL. Antimicrobial substance from a human Lactobacillus strain. *Antimicrob Agents Chemother* 1987; 31(8): 1231-3.
 45. Vincent JG, Veomett RC, Riley RF. Antibacterial activity associated with Lactobacillus acidophilus. *J Bacteriol* 1959; 78: 477-84.
 46. Barefoot SF, Klaenhammer TR. Purification and characterization of the Lactobacillus acidophilus bacteriocin lactacin B. *Antimicrob Agents Chemother* 1984; 26(3): 328-34.
 47. Hamdan IY, Mikolajcik EM. Acidolin: an antibiotic produced by Lactobacillus acidophilus. *J Antibiot (Tokyo)* 1974; 27(8): 631-6.
 48. O' Connor EB, O' Riordan B, Morgan SM, Whelton H, O' Mullane DM, Ross RP, et al. A lacticin 3147 enriched food ingredient reduces Streptococcus mutans isolated from the human oral cavity in saliva. *J Appl Microbiol* 2006; 100(6): 1251-60.
 49. Meurman JH, Antila H, Korhonen A, Salminen S. Effect of Lactobacillus rhamnosus strain GG (ATCC 53103) on the growth of Streptococcus sobrinus *in vitro*. *Eur J Oral Sci* 1995; 103(4): 253-8.
 50. Nase L, Hatakka K, Savilahti E, Saxelin M, Ponka A, Poussa T, et al. Effect of long-term consumption of a probiotic bacterium, Lactobacillus rhamnosus GG, in milk on dental caries and caries risk in children. *Caries Res* 2001; 35(6): 412-20.
 51. Ahola AJ, Yli-Knuutila H, Suomalainen T, Poussa T, Ahlstrom A, Meurman JH, et al. Short-term consumption of probiotic-containing cheese and its effect on dental caries risk factors. *Arch Oral Biol* 2002; 47(11): 799-804.
 52. Montalto M, Vastola M, Marigo L, Covino M, Graziosetto R, Curigliano V, et al. Probiotic treatment increases salivary counts of lactobacilli: a double-blind, randomized, controlled study. *Digestion* 2004; 69(1): 53-6.
 53. Talarico TL, Casas IA, Chung TC, Dobrogosz WJ. Production and isolation of reuterin, a growth inhibitor produced by Lactobacillus reuteri. *Antimicrob Agents Chemother* 1988; 32(12): 1854-8.
 54. Talarico TL, Dobrogosz WJ. Chemical characterization of an antimicrobial substance produced by Lactobacillus reuteri. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; 33(5): 674-9.
 55. Nikawa H, Makihira S, Fukushima H, Nishimura H, Ozaki Y, Ishida K, et al. Lactobacillus reuteri in bovine milk fermented decreases the oral carriage of mutans streptococci. *Int J Food Microbiol* 2004; 95(2): 219-23.
 56. Çağlar E, Cildir SK, Ergeneli S, Sandalli N, Twetman S. Salivary mutans streptococci and lactobacilli levels after ingestion of the probiotic bacterium Lactobacillus reuteri ATCC 55730 by straws or tablets. *Acta Odontol Scand* 2006; 64(5): 314-8.
 57. Çağlar E, Kuscü OO, Cildir SK, Kuvvetli SS, Sandalli N. A probiotic lozenge administered medical device and its effect on salivary mutans streptococci and lactobacilli. *Int J Paediatr Dent* 2008; 18(1): 35-9.
 58. Çağlar E, Sandalli N, Twetman S, Kavaloglu S, Ergeneli S, Selvi S. Effect of yogurt with Bifidobacterium DN-173 010 on

- salivary mutans streptococci and lactobacilli in young adults. *Acta Odontol Scand* 2005; 63(6): 317-20.
59. Çağlar E, Kuscu OO, Selvi Kuvvetli S, Kavaloglu Cildir S, Sandalli N, Twetman S. Short-term effect of ice-cream containing *Bifidobacterium lactis* Bb-12 on the number of salivary mutans streptococci and lactobacilli. *Acta Odontol Scand* 2008; 66(3): 154-8.
 60. Twetman S, Steckslen-Blicks C. Probiotics and oral health effects in children. *Int J Paediatr Dent* 2008; 18(1): 3-10.
 61. Krasse P, Carlsson B, Dahl C, Paulsson A, Nilsson A, Sinkiewicz G. Decreased gum bleeding and reduced gingivitis by the probiotic *Lactobacillus reuteri*. *Swed Dent J* 2006; 30(2): 55-60.
 62. Volozhin AI, Il'in VK, Maksimovskii Iu M, Sidorenko AB, Istranov LP, Tsarev VN, et al. [Development and use of periodontal dressing of collagen and *Lactobacillus casei* 37 cell suspension in combined treatment of periodontal disease of inflammatory origin (a microbiological study)]. *Stomatologiia (Mosk)* 2004; 83(6): 6-8.
 63. Meurman JH, Stamatova I. Probiotics: contributions to oral health. *Oral Dis* 2007; 13(5): 443-51.
 64. Epstein JB, Truelove EL, Izutzu KT. Oral candidiasis: pathogenesis and host defense. *Rev Infect Dis* 1984; 6(1): 96-106.
 65. Elahi S, Pang G, Ashman R, Clancy R. Enhanced clearance of *Candida albicans* from the oral cavities of mice following oral administration of *Lactobacillus acidophilus*. *Clin Exp Immunol* 2005; 141(1): 29-36.
 66. Hatakka K, Ahola AJ, Yli-Knuutila H, Richardson M, Poussa T, Meurman JH, et al. Probiotics reduce the prevalence of oral candida in the elderly—a randomized controlled trial. *J Dent Res* 2007; 86(2): 125-30.
 67. Tonzetich J. Production and origin of oral malodor: a review of mechanisms and methods of analysis. *J Periodontol* 1977; 48(1): 13-20.
 68. Kang MS, Kim BG, Chung J, Lee HC, Oh JS. Inhibitory effect of *Weissella cibaria* isolates on the production of volatile sulphur compounds. *J Clin Periodontol* 2006; 33(3): 226-32.
 69. Burton JP, Chilcott CN, Tagg JR. The rationale and potential for the reduction of oral malodour using *Streptococcus salivarius* probiotics. *Oral Dis* 2005; 11(Suppl 1): 29-31.
 70. Teanpaisan R, Dahlen G. Use of polymerase chain reaction techniques and sodium dodecyl sulfate-polyacrylamide gel electrophoresis for differentiation of oral *Lactobacillus* species. *Oral Microbiol Immunol* 2006; 21(2): 79-83.

Original Article

Probiotics: preventive effect against dental caries. A systematic review

E. ORTIZ ESTEVE, F. GUINOT JIMENO, R. MAYNÉ ACIÉN, L. J. BELLET DALMAU

Department of Pediatric Dentistry. Faculty of Odontology. Universitat Internacional de Catalunya. Barcelona, Spain

RESUMEN

Los alimentos probióticos producen un efecto beneficioso más allá del puramente nutricional, siendo eficaces, por diferentes mecanismos de acción, en la prevención y tratamiento de algunas enfermedades pediátricas (diarreas, infecciones respiratorias, enfermedades alérgicas, dermatitis atópica, etc.).

Los microorganismos probióticos también pueden desarrollar un papel importante a nivel odontopediátrico como, por ejemplo, la disminución en el recuento salival de Unidades Formadoras de Colonias de *S. mutans* y *Lactobacillus*. Algunos son capaces de incorporarse a la película adquirida y crecer junto a la flora autóctona de la placa supragingival, a la vez que disminuyen la colonización de microorganismos cariogénicos.

El propósito de esta revisión bibliográfica es aportar todos aquellos beneficios que se han descrito sobre el papel de los microorganismos probióticos en la prevención de la caries dental.

PALABRAS CLAVE: Bacterias probióticas. Caries dental. *Lactobacillus GG*. Riesgo de caries.

ABSTRACT

Probiotics have a beneficial effect that is more than just nutritional, because probiotics are efficient as a result of different action mechanisms, for preventing and treating certain pediatric diseases (diarrhea, respiratory infections, allergic disease, atopic dermatitis, etc.).

Probiotic microorganisms can also play an important role in pediatric dentistry, such as the reduction in salivary recount of colony-forming units of *S. mutans* and *Lactobacillus*. Some are capable of penetrating the acquired pellicle and of growing alongside autochthonous flora of the supragingival plaque, while reducing the colonization of cariogenic microorganisms.

The aim of this revision of the literature is to provide all the benefits that have been published on probiotic microorganisms for the prevention of dental caries.

KEY WORDS: Probiotic bacteria. Dental caries. *Lactobacillus GG*. Caries risk.

INTRODUCTION

Eli Metchnikoff, who was awarded a Nobel Prize in 1908 for his work in the Pasteur Institute, was the first to point out the positive effects on health of certain bacteria, at the beginning of the last century. The Russian scientist observed marked longevity among the Bulgarian population at the time, and he suggested that yoghurt—a basic component of the Bulgarian diet—was responsible for this high survival rate, given that it contained a bacteria capable of converting the sugar in milk (lactose) into lactic acid. He suspected that lactic acid made it impossible for harmful bacteria to develop in the intestines, and he suggested that aging was a result of the action of toxic substances produced by intestinal flora. Metchnikoff isolated the bacillus in the yogurt, which he then called *Lactobacillus bulgaricus* (1). In the same Institute his contemporary, the French pediatrician Henry Tissier (2), found that children with diarrhea had a reduced number of bacteria in their stools, which were characterized by a unique morphology with a Y structure. Contrary to this, these bifidus bacteria were copious in the stools of healthy children.

Both scientists were the first to suggest that a few live bacteria could be administered for treating certain diseases. However, it was not until 1965 that the term probiotic was coined by Lilly and Stillwell (3), for naming the «factor or factors produced by microorganisms that encourage the growth of other microorganisms». Parker (4) was the first in 1974 to use the term probiotic to refer to food supplements designed specifically for promoting health. This author defined probiotics as «organisms and substances that contribute to intestinal microbial balance». In 1989 Fuller (5), qualified the definition proposing that probiotics were «dietary supplements with a live microbe base that affect the host positively improving intestinal balance»; in this sense, the term “substance” is eluded as this could refer by extension to antibiotics (6). A more recent definition has been put forward by Gorbach (7) who defined probiotics as «living microorganisms which if ingested in certain numbers, exert a beneficial effect on one’s health inherent in general nutrition».

The belief in the beneficial effects of probiotics is based on the knowledge that gut microflora provides protection against various diseases. Firstly, it has been demonstrated that gnotobiotic animals have a greater susceptibility to diseases than their counterparts with complete gut flora. Secondly, we know that antibiotic treatment in animals as well as in people increases their susceptibility to disease, with a representative example being pseudomembranous colitis caused by *C. difficile*, associated with antibiotic treatment. Thirdly, it has been demonstrated that by applying fecal enemas from healthy individuals in those with this colitis, the disease can be reversed (8-10).

Dental caries constitutes one of the most common and costly forms of infection in humans. Although fluoride and other preventative efforts have given rise to a significant reduction in this disease, the capacity for controlling true infections has been limited (11).

The oral cavity is a complex ecosystem in which rich and diverse microbiota is found. When balanced, most

of these bacteria are compatible with oral health; however, the disturbance of this homeostasis (due to factors such as diet, disease, medication, etc.) can represent an increase in pathogenicity of certain microorganisms, encouraging dental caries (11).

Çaglar et al. (12) believe that bacteriotherapy is a promising alternative for combating dental infections, as innocuous bacteria are used to displace pathogenic microorganisms, encouraging a bacterial balance.

PROBIOTIC MICROORGANISMS

The requirements that a bacterial strain should have in order to be considered probiotic are the following (7):

- To have a human origin.
- Not to be pathogenic in nature.
- To be resistant to destruction by technological procedures.
- Resistant to acid in the digestive tract (gastric secretions and bile).
- Adhesion to epithelial cells.
- Colonization of the intestine, even for short periods.
- Production of antimicrobial substances.
- Growth capacity.
- Beneficial effects on health.

In general, the bacteria used in probiotics are lactic acid bacteria, belonging mainly, but not exclusively, to the *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* types (12-15) (Table I).

ACTION MECHANISMS

The action mechanisms of probiotics have not been completely established, although in general terms, it is accepted that they are capable of maintaining their viability after coming into contact with gastric acid, reaching and adhering to the intestinal mucosa, where they carry out their function, competing with pathogenic microorganisms and increasing the host’s immunity and resistance to infection (14).

They act by acidifying the intestinal lumen, segregating substances that inhibit the growth of pathogenic microorganisms, consuming specific nutrients or by attaching themselves competitively to intestinal receptors in such a way that intestinal flora is maintained and the action of pathogenic germs is avoided (16).

According to Tormo, the action mechanism can be summed up as follows (17):

- Probiotic bacteria are acidophilic, acidogenic and aciduric, that is to say, they can develop an acid pH, generate acids (generally lactic acid) which stop the growth of pathogenic germs, and pH is reduced to less than 4, expressing maximum efficiency.
- Lactobacilli and bifidobacteria encourage the maturity of the intestine and its integrity. They are antagonists of pathogens contributing to the modulation of intestinal immunity.
- They exert an influence on the transfer of plasmids and in the establishment of juice transfer in the intestine.
- They are able to adhere to enterocytes and colonocytes and they affect the composition of the intestinal

TABLE I
BACTERIA USED AS PROBIOTICS

| <i>Lactobacillus</i> | <i>Bifidobacterium</i> | <i>Streptococcus</i> | <i>Enterococcus</i> | <i>Others</i> |
|-------------------------|------------------------|------------------------|---------------------|---------------------------|
| <i>L. acidophilus</i> | <i>B. bifidum</i> | <i>S. thermophilus</i> | <i>E. faecium</i> | <i>S. boulardii</i> |
| <i>L. bulgaricus</i> | <i>B. breve</i> | <i>S. salivarius</i> | <i>E. faecalis</i> | <i>P. freudenreichii</i> |
| <i>L. casei</i> | <i>B. longum</i> | <i>S. equinus</i> | | <i>E. coli</i> |
| <i>L. paracasei</i> | <i>B. adolescentis</i> | | | <i>Lactococcus lactis</i> |
| <i>L. casei Shirota</i> | <i>B. lactis</i> | | | |
| <i>L. rhamnosus GG</i> | <i>B. infantis</i> | | | |
| <i>L. johnsonii La1</i> | <i>B. animalis</i> | | | |
| <i>L. helveticus</i> | | | | |
| <i>L. plantarum</i> | | | | |
| <i>L. salivarius</i> | | | | |
| <i>L. reuteri</i> | | | | |
| <i>L. lactis LIA</i> | | | | |
| <i>L. thermophilus</i> | | | | |
| <i>L. gasseri</i> | | | | |
| <i>L. crispatus</i> | | | | |

ecosystem, increasing the barrier effect that is not dependent on the immunological system.

—They have a competitive effect on other bacteria, taking their nesting places and inhibiting the growth of enteropathogenic species.

—They increase the expression of ileocolonic mucins contributing to the lining of the intestine with a layer of mucus, which is efficient for fighting bacteria.

—They compete for nutrients with the pathogenic gut flora.

—They hamper bacterial translocation.

—They can influence and modulate an immunological response, partly by means of intestine-associated lymphoid tissue. They are able to increase the production of α -interferon by lymphocytes and macrophages. They stimulate *Helper T* cells that produce cytokines and that are responsible for cellular immunity (important in allergies). They increase the production of IgA, which has a beneficial effect on defense against infection.

THE BENEFICIAL EFFECT OF PROBIOTICS IN THE PEDIATRIC PATIENT

The incorporation of antibiotic treatment in the middle of the Twentieth Century meant a great advance in the management of infections. However, the rapid and growing appearance of resistance has led to a search for new methods for combating infectious diseases. The old criteria of using beneficial bacteria for health have thus been revived. Currently, within the concept of antibiotic therapy, the term “bacteriotherapy” is being used frequently for defining the antibacterial effect of certain bacteria, although other microorganisms, such as fungi and yeast, may have this property (6,13).

There are currently many studies (18-33) that are well substantiated linking probiotic food with an improvement in pediatric health, although they do not have enough impetus to turn probiotics into a drug. Some of the benefits of these foods for children are:

—Prevention of antibiotic-related diarrhea

Diarrhea is a fairly common side effect after antibiotic use. Szajewska (18) carried out a meta-analysis in which the more comprehensive studies were revised (19-24) on the administration of probiotics for the prevention of antibiotic-related diarrhea in the child population. They were able to conclude that probiotics reduce the risk of suffering this type of diarrhea as, of every seven children who develop the disease, one fewer would suffer after having been given probiotics. The most promising strains in this field are: *Lactobacillus rhamnosus Gorbach Goldin (LGG)*, *S. boulardii*, *B. lactis* and *S. thermophilus*.

—Treatment of acute diarrhea

With the aim of establishing the efficiency of probiotics for treating acute diarrhea, Rosenfeldt et al. (34) carried out a study on 69 children in hospital. In more than half the cases the process was due to a rotavirus. Given this, *L. reuteri* and *L. rhamnosus* was administered to the experimental group for five days. The duration of the diarrhea symptoms was less in this group, but only significant results were found when the administration of probiotics had been given within the first 60 hours from the moment the symptoms had appeared. It is for this reason that the authors concluded that probiotics are beneficial in these situations, but even more so when administered at an early stage of the condition.

Authors of similar studies obtained favorable results after using different strains (*L. paracasei*, *L. casei*, *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*) (25-28).

—Diarrhea prevention

Saavedra (29) carried out a study with 55 children aged between 5 and 24 months. He found that the administration of a child formula based on *B. bifidus* and *S. thermophilus* reduced the incidence of diarrhea. The risk of gastroenteritis due to rotavirus was significantly lower than in those who were given formula with probiotics.

—Allergical diseases

Many studies can be found (30-32) that prove how probiotics can help in cases of atopic dermatitis and lactose intolerance among allergic reactions. Majamaa and Isolauri (30) evaluated children with atopic eczema and allergies to cows milk and the benefit of using LGG was found.

Kalliomaki et al. (31,32) administered LGG to pregnant women who had at least one first-degree relative with a history of topical eczema, allergic rhinitis or asthma. They were given LGG at the end of the pregnancy, and their babies were then given it for six months. At the age of two, of the 132 children who made up the sample, atopic eczema was diagnosed in 46, asthma in 6 and allergic rhinitis in 1. The frequency of atopic eczema in the probiotic group was exactly half of that in the control group. It was deduced therefore that *Lactobacillus GG* is efficient in the early prevention of atopic disease in high risk children. The same children who participated in this study were reevaluated at 4 years, and the protective effect against atopic dermatitis persisted.

—Respiratory diseases

Hatakka et al. (33) elaborated a study that lasted six months on a sample of 571 healthy children at kindergartens between the ages of 1 and 6. Their intention was to observe how *Lactobacillus GG* affected the risk of suffering respiratory infections. This lactobacillus not only reduced the frequency with which the infections appeared, but when they appeared they were less severe.

PROBIOTICS AND DENTAL CARIES

ADHERENCE AND COLONIZATION OF PROBIOTICS

Given that there are numerous studies proving the role of probiotics in gastrointestinal disturbances, and bearing in mind that the oral cavity represents the door into the digestive tract, Meurman et al. (6) suggest that at least some probiotic strains could at least have a purpose in the oral cavity. They also imply that oral microflora could contain resident microorganisms with probiotic capacity, cohabitating in the dental plaque, contributing to the formation and development of different oral biofilms.

For probiotic bacteria to have an anti-cariogenic effect it should be able to adhere progressively to the surface of the tooth, adapt to biofilms and compete with cariogenic microorganisms, reducing colonization. Establishing the best probiotics to encourage oral health is a line of investigation that remains open (6). Comelli et al. (35) elaborated an *in vitro* study with the aim of determining what probiotic strains could carry out a preventative role in the pathogenesis of dental caries. For this they used 23 lactic acid probiotic bacteria belonging to two species (*Streptococcus thermophilus* and *Lactococcus lactis*) and five strains of oral microorganisms (*S. sobrinus*, *S. oralis*, *A. naeslundii*, *V. dispar* and *F. nucleatum*). They observed how *S. thermophilus*

and *L. lactis* were capable of adhering to hydroxiapatite and of growing in biofilm in the same way as the cariogenic *S. sobrinus*. In addition *L. lactis* modulated the growth of oral bacteria, reducing the colonization of four species representative of supragingival plaque: *S. oralis*, *V. dispar*, *A. naeslundii* and *S. sobrinus*.

In 2005, Lima et al. (36) took 30 bovine teeth into which caries were artificially induced. Then half the sample was submerged in a culture medium with *L. acidophilus*, and the other half in a culture with *L. casei shirota*. The number of unit-forming colonies (UFC) in the carious dentine was greater in the case of *L. acidophilus*, which gave it an adhesion potential that was greater than that of *L. casei*.

Fusobacterium nucleatum, common in periodontal processes, has the capacity of forming bridges that facilitate the colonization of other microorganisms by means of coaggregation (37). Kang et al. (38) tested the probiotic role of *Weissella cibaria* (acquired from salivary samples) questioning the co-aggregation capacity with *F. nucleatum* and of anchoring onto epithelial cells. The coaggregation with *W. cibaria* was truly important, as well its adherence to epithelial cells by means of a protein of its cell wall. The authors stress its probiotic power, with a capacity of establishing protective oral flora against oral pathogens.

In a previous study with nine collaborators Meurman et al. (39) administered a yoghurt with LGG twice a day for a week. Saliva samples were collected at one, two and three weeks after consumption. LGG was present in nine individuals after a week of not having any yoghurt and in eight of them after two weeks. It seems obvious that lactobacillus is capable of colonizing the oral cavity. However Yli-Knuutila et al. (40) were not able to reach the same conclusions. Their study had 56 volunteers who were given probiotic juice for a period of 14 days. In this case, LGG was not able to colonize the oral cavity and it could only be appreciated discretely during the intervention period.

Taking into account the cariogenic and plaque formation mechanisms used by *S. mutans* through glucan synthesis, Cheng et al. (41) proposed isolating and characterising those species of *Lactobacillus* that were able to inhibit the synthesis of these glucans. They developed an *in vitro* study in which samples were collected from 160 children and from which streptococci and lactobacilli were obtained. By means of DNA techniques, 150 lactobacilli were identified. Of these, only two strains showed inhibitory potential on glucan formation. In their article Chung only describes one of these: *L. fermentum*. This microorganism inhibited the formation of 91% of glucans.

PREVENTION OF DENTAL CARIES

The role of probiotic bacteria in the prevention of caries was suggested for the first time in 1985 by Ishihara et al. (42). These authors isolated, from the feces of health individuals, strains of *L. fermentum*, *L. salivarius*, *S. faecium* and *S. equinus*, later obtaining from the strains water soluble extracts that were then mixed with

the saliva of healthy individuals *in vitro*. They demonstrated that these lactic acid bacteria that had come from the intestine significantly inhibited the growth of *S. mutans* in saliva, and to a lesser degree, other oral streptococci.

Various investigators (43-47) observed how different species of *Lactobacillus* were capable of producing antimicrobial substances when grown in a specific medium (Table II).

Lacticin 3147 is a wide-spectrum bacteriocin produced by *Lactococcus lactis*. It is active in a neutral pH and it has shown *in vitro* bactericidal activity against stafilococci and straptococci (43). Based on this, O' Connor et al. (48) took 47 samples of saliva from Irish children, representative of different levels of cariogenicity (established according to the number of CFU of *S. mutans*, high, medium or low). Lacticin 3147 exhibited considerable *in vitro* inhibition of *S. mutans*.

Lactobacillus rhamnosus GG (LGG) is the probiotic bacterium that has been studied most widely. Silva et al. (44) carried out an *in vitro* study in which they isolated the inhibitory substance produced by LGG. This substance has the capacity of inhibiting a wide spectrum of gram negative and positive bacteria (even streptococci), while having no effect on other lactobacilli). The inhibition was produced at a pH between 3 and 5. Given the characteristics of this substance, it was thought that it could be a short-chain

fatty acid although it showed some similarity to microcins. In addition, it was resistant to different types of proteases and to heat.

Based on the investigation of Silva, Meurman et al. (49) evaluated *in vitro*, the growth of oral streptococci in the presence of the inhibitory substance produced by LGG. They also studied the fermentation of sugar produced by lactobacilli. The inhibitory substance impeded, although just weakly, the growth of *S. sobrinus* without altering its cellular structure. The inhibition was apparent at pH 5. As with Silva, LGG did not ferment sucrose.

With regard to the role of probiotic bacteria in the prevention of dental caries in children, we have only found one clinical report carried out in Helsinki in 2001. Näse et al. (50) studied a sample of 594 Finish children who were given at their kindergarten milk with probiotic bacteria LGG for seven months. The control group was given milk without the bacteria. The participants were aged 1 to 6 years. The analysis of the saliva and plaque samples confirmed the antagonism between LGG and *S. mutans*, given the reduction of CFUs of *S. mutans*. The protective role of milk with LGG against child caries was demonstrated. In addition, the protective effect was more obvious in the 3 to 4 age group and especially in the occlusal surfaces of primary molars.

Still in Finland, Ahola et al. (51) wanted to appraise the changes in the oral microflora after the ingestion of LGG and *L. rhamnosus* LC 705, over a short period of time (3 weeks). They had 74 young adults, aged between 18 and 35, who were given 15 grams of probiotic cheese five times a day, always after meals. Salivary samples were collected before and after the intervention, as well as at three weeks after the administration of probiotic cheese, after which a recount of *S. mutans*, lactobacillus and yeasts was carried out. The salivary secretion rates and the buffer effect of the saliva were also measured, given its implication in caries risk. There were no significant variations in the recount of *S. mutans* during the intervention nor at the end; nevertheless the counts of *S. mutans* and yeasts decreased by 20% to 27% respectively. However, three weeks post treatment, the recount of *S. mutans* and salivary yeast had diminished significantly while the recount of lactobacillus had increased.

The study by Montalto et al. (52) showed similar characteristics. Thirty-five adults were given a mixture of various lactobacilli, in liquid as well as in capsule form, over a period of 45 days. With these capsules they wanted to ascertain if the increase in oral lactobacillus was caused by direct contact or not. The results showed a significant increase of these microorganisms in the salivary count, regardless of the form of administration, while the population of *S. mutans* was not affected.

Talarico et al. (53,54) had discovered in 1988 an inhibitory substance produced by *L. reuteri* which they called reuterin. Its inhibition potential was demonstrated on various bacterial species, none in relation with the oral ecosystem. Based on this, Nikawa et al. (55) carried out an *in vivo* study in which 40 women participated who were 20

TABLE II

ANTIMICROBIAL SUBSTANCES PRODUCED BY PROBIOTIC BACTERIA

| Bacteria | Antimicrobial substance | Inhibition |
|---------------------------|--|---|
| <i>L. acidophilus</i> | Lactocidin | Principally Gram (-) Gram (+) |
| <i>L. acidophilus</i> N2 | Bacteriocina High MW Peptide structure Optimum growth at pH 6 Protease-sensitive | Species of the <i>Lactobacillaceae</i> family |
| <i>L. acidophilus</i> | Acidolin Low MW | Enteropathogens Spore-forming organisms To a lesser extent, lactic acid bacteria |
| <i>Lactobacillus GG</i> | Short chain fatty acid corta Low MW Protease-resistant Heat resistant Inhibitory activity between pH 3 and 5 | Gram (+) Gram (-) Lactic acid bacteria Other Lactobacilli not inhibited |
| <i>Lactococcus lactis</i> | Bacteriocin | <i>S. mutans</i> <i>S. aureus</i> <i>E. faecalis</i> <i>Pneumococcus</i> <i>Propionibacterium</i> |

years old, and who showed no signs of active caries, gingivitis or periodontal disease. Two groups were randomly organized with 20 women in each group. The first group was given a yoghurt placebo after the meal, while the yoghurt in the second group contained *L. reuteri* bacteria. The yoghurt was given over two weeks, and *S. mutans* in saliva was measured before and after administration. The results showed the inhibitory effect of *S. mutans* caused by *L. reuteri* present in fermented cow's milk. The anticariogenic effect of *L. reuteri* was demonstrated.

The contribution by Çağlar et al. (56-59) in this field is very important. In 2006 they carried out a study (56) with the objective of evaluating the effect of *L. reuteri* ATCC 55730 on the salivary count of *S. mutans* and lactobacilli in 120 young adults (aged 21-24) after being administered in two different forms: tablets or covered straws. The straws are called Life Top Straw® (BioGaia AB, Stockholm, Sweden) and they just drinking straws that have on their inner surface oil containing *L. reuteri*, which is freed only on sipping a drink. Both forms of administration of lactobacilli show a significant reduction of *S. mutans* in saliva compared with the placebo group.

Recently in 2008, Çağlar et al. (57) also obtained a significant reduction of *S. mutans* in the presence of *L. reuteri* and they used a new health product to administer the probiotic. It consisted of a pacifier, into which they inserted a probiotic tablet. The teat contained small orifices measuring 0.5 mm in diameter, through which the tablet dissolved totally in the oral cavity within 10-12 minutes.

Most of the studies quoted (50-52,55-57) suggest that lactobacilli encourage caries prevention. However, Çağlar et al. (58) also have studies based on bifidobacteria (Table

III). In a study carried out in 2005, they studied a sample of 21 young adults who were given *Bifidobacterium* DN-173 010 in yogurt form, which was able to reduce significantly the salivary count of *S. mutans*, but this was not significant with lactobacillus. In 2008 they again carried out a study with similar characteristics in which *Bifidobacterium lactis* Bd-12 obtained similar results, this time administered in the form of ice-cream (59).

Reladent® is the first probiotic designed especially for promoting oral health. It is a chewing gum that contains in its composition *L. reuteri* prodentis and that is sold by Swedish chemists in boxes of 30 units. In the official page of the product (<http://www.biogaia.se>) these chewing gums are recommended for promoting gingival health, for strengthening the natural immune system of the mouth, for reducing pathogenic bacteria and for resolving halitosis processes.

PROBIOTIC ADMINISTRATION PROCESS

The way of administering probiotics depends on the food or format in which it is contained. Basically probiotics can be (60):

- Added to drinks (e.g. as a juice).
- Inoculated into milk drinks (e.g. milk, yoghurt, cheese).
- Lyophilized in dietary supplements (e.g. tablets, chewing gum).

Probiotic food most commonly appears in the form of yogurt. Thus the daily consumption of milk products is the most common way of ingesting probiotic bacteria (12).

TABLE III
STUDIES RELATED TO THE PREVENTION OF DENTAL CARIES

| Reference | Type of study | N / age | Microorganism | Time | Task in the oral cavity |
|------------------------|---------------|-------------------|--|----------|-------------------------------------|
| Näse et al. (2001) | ECA, DC | 594 / 1-6 years | <i>L. rhamnosus</i> GG | 7 months | Reduction of SM in saliva |
| Ahola et al. (2002) | ECA, DC | 74 / 18-35 years | <i>L. rhamnosus</i> GG y <i>L. rhamnosus</i> LC 705 | 3 weeks | Reduction of SM and yeast in saliva |
| Montalto et al. (2004) | ECA, DC | 35 / 23-37 years | <i>Lactobacillus</i> spp. | 45 days | LB increase in saliva |
| Nikawa et al. (2004) | ECA, DC | 40 / 20 years | <i>L. reuteri</i> | 4 weeks | Reduction of SM in saliva |
| Çağlar et al. (2006) | ECA, DC | 120 / 21-24 years | <i>L. reuteri</i> | 3 weeks | Reduction of SM in saliva |
| Çağlar et al. (2008) | ECA, DC | 20 / 20 years | <i>L. reuteri</i> | 10 days | Reduction of SM in saliva |
| Çağlar et al. (2005) | EAC, DB | 21 / 21-24 years | <i>Bifidobacterium</i> DN-173 010 | 2 weeks | Reduction of SM in saliva |
| Çağlar et al. (2008) | EAC, DB | 24 / 20 years | <i>Bifidobacterium lactis</i> Bd-12 | 20 days | Reduction of SM in saliva |

LB: *Lactobacillus*; SM: *S. mutans*; RCT: randomized controlled trials; DB: Double blind; RCOT: randomized cross-over trial

PREVENTION OF OTHER ORODENTAL CONDITIONS

PROBIOTICS AND PERIODONTAL DISEASE

Investigation on the role of probiotics at an oral level has also taken place in the field of periodontics. Krasse et al. (61) gave *L. reuteri* over a two week period to people suffering from gingivitis (from moderate to severe). After this period, the results showed were favorable for gingival bleeding, levels of gingivitis and plaque control.

Volozhin et al. (62) created a periodontal dressing of collagen and *L. casei* which they applied to patients with chronic generalized periodontitis, with their basic treatment. The samples taken from periodontal pockets showed a large reduction of periodontopathogens: *Actinomyces sp.*, *S. intermedius* and *Bacteroides sp.*

However, there are not enough tests to certify the work of probiotics in periodontal disease therapy (63).

PROBIOTICS AND ORAL CANDIDIASIS

C. albicans is a fungal agent that commonly infects the oral cavity. The incidence of these infections is greater in older persons or in immunodepressed people (64). Testing the colonization capacity of *L. acidophilus* and *L. fermentum*, Elahi et al. (65) found a rapid decline of *C. albicans* in rats, after the ingestion of probiotic strains. The continuous consumption of these probiotics led to an undetectable number of fungi in the oral cavity, and the protective effect was maintained over a long period of time after the ingestion was stopped.

After the consumption of 50 grams a day of probiotic cheese (*L. rhamnosus GG* and *Propionibacterium freudenreichii*) over 16 weeks, Hatakka et al. (66) found in 276 participants of their study some promising results. *C. albicans* was reduced by 32% in the probiotic group and it increased by 34% in the control group. The risk of hyposalivation, a factor that was also measured, descended by 56%, and the authors concluded that probiotic bacteria can be effective in the control of infection by *C. albicans* and the increase in salivary flow (that can be reduced in these types of infections).

PROBIOTICS AND HALITOSIS

Halitosis is the term used to describe disagreeable breath. The principal cause of this condition is the putrefaction of protein levels, mainly due to gram negative microorganisms. This generates volatile sulfur compounds, which make up the more fetid components of bad breath (67).

Kang et al. (68) observed a potent inhibition of the production of volatile sulfur compounds (VSC) by *F. nucleatum* after the ingestion of *W. cibaria*, *in vitro* as well as *in vivo*. An oral mouth rinse was administered to children that contained probiotic bacteria, and a reduction of approximately 50% of VSCs was observed.

In a study carried out by Burton et al. (69) using *S. salivarius* K12 as probiotic bacteria, this was capable of

inhibiting *S. anginosus*, *E. saburreum*, *M. micros* and *P. intermedia*, although the growth of *P. gingivalis* could not be impeded, all of which are bacteria involved in halitosis. These authors explain how the bad smell returns when the patients stop using antimicrobial rinses, and it is at this point that they suggest that probiotics should ideally be consumed in order to prevent halitosis.

Although the results are encouraging, there are currently very few studies that conclude that probiotics can be used to treat halitosis (63).

DISCUSSION

The requirements that a probiotic microorganism needs to have in order to play a role in the oral cavity, is a capacity to adhere to and colonize different oral surfaces (63). The lactobacilli species that dominate in the saliva, according to a study by Teanpaisan and Dahlen (70), are *L. fermentum*, *L. rhamnosus*, *L. salivarius*, *L. casei*, *L. acidophilus* and *L. plantarum*. Most of these species are used as probiotics in milk products. There is not enough scientific evidence to affirm that the oral cavity is the permanent habitat of certain probiotic bacteria, as the species found to be predominant in the Teanpaisan study (63) could proceed from a frequent consumption of probiotic products, and the colonization could be temporary.

Ahola (51) did not find any differences in *S. mutans* counts during the administration period of LGG, while Näse (50) did find these. Firstly, this could be due to the probiotics used by Ahola, which did not have any effect on the parameters studied. If both studies are compared, certain inequality can be seen with regard to methodology: Näse used a sample of children aged 1 to 6 while Ahola correctly used adults aged 18 to 35. Possibly the oral flora of children is not sufficiently mature and it is affected more easily. The strains described in both articles are different. Thus, the milk given in the kindergartens only contained LGG, while the cheese administered to the adults contained two different strains of lactobacilli, which could lead to bacterial interactions leading to different results. In addition, the study by Näse was longer (7 months) while Ahola's was carried out over 3 weeks. Montalto et al. (52) obtained similar results to those of Ahola, and his study was similar in that it was also carried out in adults and over a short period (45 days).

The fact that Ahola (51) found a significant statistical reduction in *S. mutans* during the post-treatment period, suggests that these probiotic bacteria need longer to colonize the oral cavity and to have a beneficial effect. This also explains why no statistically significant differences were found during the administration period, as it was over a short period of time.

Ahola (51) observed an increase in the salivary count of lactobacilli after the ingestion of probiotic cheese, a circumstance that he suggested could respond to the fact that the cheese on its own already contained these microorganisms. Montalto (52) administered a mixture of various lactobacilli, in liquid form as well as in capsules, with the aim of ascertaining if the increase in oral

lactobacilli was caused by direct contact or not. The results showed a significant increase in these microorganisms in the salivary count, regardless of the form of administration. The results by Ahola and Montalto (51,52) showed a total discrepancy with the rest of the authors mentioned. This difference could be due to the latter (51,52) using a single lactobacilli strain, and not a combination of them, and there may have been interactions altering the results of the studies.

The study by Lima (36) on the adhesion capacity of *L. acidophilus* and *L. casei shirota* to carious dentin lacks veracity, given that the teeth used are of a bovine origin, and it starts off with the limitations of an *in vitro* study. The use of carious primary molars would provide greater scientific evidence in future studies.

CONCLUSIONS

Probiotics are a new and interesting field of investigation in oral microbiology, as well as in orodental health. Prevention and control of dental caries in children makes developing and standardizing new protocols necessary.

Different studies endorse the positive action of probiotics on the general health of children. The daily intake of probiotic products in children is a promising option in caries prevention. However, more studies in children are needed so that the action of probiotic bacteria on the oral cavity, as well as its colonization capacity and biofilm formation is better known, and this would permit investigating in which way resident flora are affected.