
PROBIÓTICOS Y SU RELACIÓN CON EL CONTROL DE CARIES. REVISIÓN DE TEMA

PROBIOTICS AND THEIR RELATIONSHIP WITH CARIES CONTROL. A TOPIC REVIEW

MARÍA DEL PILAR ANGARITA DÍAZ¹

RESUMEN. El desarrollo de estudios relacionados con el microbioma oral humano, así como las ciencias y técnicas aplicadas para investigarlo, han permitido replantear el entendimiento de la caries como una infección endógena causada por un consorcio de microorganismos. Además de identificar la gran diversidad de microorganismos implicados en los procesos cariosos, también se han realizado estudios similares en cavidad oral sana, y análisis de las interacciones entre los microorganismos y el hospedador. Los resultados están abriendo paso a la viabilidad de implementar estrategias biotecnológicas que buscan interrumpir el inicio y la progresión de la enfermedad, y en este sentido los probióticos son una herramienta prometedora. Los probióticos son microorganismos benéficos que al entrar en contacto con la cavidad oral modifican la interacción microbiana a favor de una homeostasis. Utilizando diferentes bases de datos (PubMed, ScienceDirect y Google Académico) se realizó la revisión de literatura sobre los probióticos como una estrategia para el control de la caries, mediante el fundamento de su función en cavidad oral, así como algunos de los estudios realizados hasta el momento y la descripción de las características de las cepas bacterianas más estudiadas y las aisladas recientemente. El artículo concluye con la sustentación de las características ideales que deberían tener las cepas bacterianas para que sean eficientes como probióticos de cavidad oral.

Palabras clave: probióticos, caries dental, microbiota, homeostasis

Angarita-Díaz MP. Probióticos y su relación con el control de caries. Revisión de tema. Rev Fac Odontol Univ Antioq 2016; 28(1): 179-202. DOI: <http://dx.doi.org/10.17533/udea.rfo.v28n1a10>

ABSTRACT. The development of studies related to the human oral microbiome, as well as the applied sciences and techniques to investigate it, have helped reconsidering our understanding of tooth decay as an endogenous infection caused by a conglomerate of microorganisms. In addition to identifying the great diversity of microorganisms involved in carious processes, similar studies in healthy oral cavity have also been conducted, as well as analysis of the interactions between microorganisms and the host. The results are paving the way to implementing biotechnology strategies to interrupt the onset and progression of the disease, and in this sense probiotics are a promising tool. Probiotics are beneficial microorganisms that once in contact with the oral cavity modify the microbial interaction favoring homeostasis. A literature review was conducted using various databases (PubMed, ScienceDirect, and Google Scholar), focusing on probiotics as a strategy for caries control, based on their function in the oral cavity; this includes some of the studies conducted so far as well as the description of features of the bacterial strains most commonly studied and the ones recently isolated. The article concludes by explaining the ideal features that bacterial strains should have to be efficient as probiotics in the oral cavity.

Key words: probiotics, dental caries, microbiota, homeostasis

Angarita-Díaz MP. Probiotics and their relationship with caries control. A topic review. Rev Fac Odontol Univ Antioq 2016; 28 (1): 179-202. DOI: <http://dx.doi.org/10.17533/udea.rfo.v28n1a10>

1 PhD en Biotecnología. Profesora de microbiología bucal. Investigadora de GIOMET. Facultad de Odontología, Universidad Cooperativa de Colombia, Villavicencio. Correo electrónico: maria.angaritad@campusucc.edu.co

1 PhD in Biotechnology. Professor of Oral Microbiology. GIOMET Researcher. School of Dentistry, Universidad Cooperativa de Colombia, Villavicencio. E-mail: maria.angaritad@campusucc.edu.co

INTRODUCCIÓN

Han transcurrido 36 años desde que por primera vez la Organización Mundial de la Salud (OMS) instauró metas mundiales para la salud oral y aún queda mucho trabajo por hacer. Ya en 1989, la misma organización recomendó la promoción de la salud bucal como parte integral de la salud pública.¹ Por tanto, muchos países establecieron estrategias para disminuir las enfermedades bucodentales. Aunque, según reportes mundiales,² los esfuerzos en las medidas de salud pública han dado sus frutos en el control de las enfermedades orales, la caries dental sigue siendo considerada una de las enfermedades crónicas más prevalentes.³ La caries dental llega a afectar funciones básicas como la alimentación y la nutrición e influyen en la vida psicosocial de las personas.⁴ Además, puede generar la pérdida dental y enfermedades graves como la endocarditis bacteriana.⁵

En Colombia, el más reciente Estudio Nacional de Salud Bucal ENSAB IV (2014) mostró una disminución en la prevalencia de la caries con respecto al reporte anterior, especialmente en la población de 12 años (pasó de 57% a 37%) y en la población de 20 a 34 años (de 75% a 53%). A pesar de estos resultados, la caries sigue siendo la enfermedad de mayor frecuencia en la población desde las edades más tempranas, dado que el 33,3% de los niños de 1, 3 y 5 años ya presentan antecedentes de esta enfermedad, con una prevalencia de 5,9%, 43,7% y 52,2% respectivamente. Esto indica la necesidad de estrategias que complementen las ya existentes, para lograr la erradicación o un mayor control de esta enfermedad.⁶

La caries dental es una enfermedad producida por el rompimiento del equilibrio del pH, lo cual trae como consecuencia principal el establecimiento de una biopelícula compuesta principalmente por una microflora cariogénica. La interacción entre esta microflora y los factores del huésped condicionará la inhibición o el aceleramiento de esta enfermedad.⁷⁻⁹

El desequilibrio o la disbiosis de la microflora bucal hacen de esta enfermedad una infección endógena, y no transmisible, como se consideraba antes.^{10, 11} En años

INTRODUCTION

It has been 36 years since the World Health Organization (WHO) first set forth global goals for oral health and there is still much work to be done. In 1989, the same organization recommended promoting oral health as a public health issue.¹ Consequently, many countries set up strategies to reduce oral diseases. Although according to global reports² public health efforts have been effective in controlling oral diseases, dental caries remains one of the most prevalent chronic diseases.³ Dental caries may affect basic functions like food intake and nutrition, and can influence the psycho-social life of patients.⁴ It can also produce tooth loss and serious diseases such as bacterial endocarditis.⁵

In Colombia, the most recent Estudio Nacional de Salud Bucal ENSAB IV (2014) showed a decrease in caries prevalence compared to the previous report, especially in the population aged 12 years (going from 57% to 37%) and in the population aged 20 to 34 years (from 75% to 53%). Despite these results, caries remains the most frequent disease in the earlier years, since 33.3% of children aged 1, 3 and 5 years already have experience of this disease, with a prevalence of 5.9%, 43.7% and 52.2% respectively. This shows the need for strategies to complement the existing ones, to achieve the eradication or a greater control of this disease.⁶

Dental caries is a disease caused by a shift in pH balance, resulting in the formation of a biofilm composed mainly of cariogenic microflora. The interaction between this microflora and host factors conditions the deceleration or acceleration of the disease.⁷⁻⁹

Imbalance or dysbiosis of the oral microflora make this disease an endogenous infection, which is not transmissible, as previously believed.^{10, 11} In recent

recientes, varios grupos de investigación han centrado sus esfuerzos en el estudio de la microbiota oral,¹²⁻¹⁴ identificando los microorganismos implicados en los procesos cariogénicos, los microorganismos de cavidad oral sana, los procesos metabólicos de estos y las interacciones entre los microorganismos y el hospedador. A partir de estos conocimientos se han intentado desarrollar herramientas biotecnológicas, entre las que se encuentran los probióticos,^{15, 16} cuya finalidad es el control selectivo de los agentes etiológicos de la caries y el mantenimiento de la homeostasis oral. La definición de los probióticos aceptada por la OMS y la FAO es que son “microorganismos vivos, principalmente bacterias, que son seguros para el consumo humano, y cuando son ingeridos en suficiente cantidad, tienen efectos benéficos en la salud humana”.¹⁷

El objetivo de esta revisión es presentar los probióticos como una estrategia para el control de la caries dentro del contexto de la microbiología y el mantenimiento de la homeostasis oral, teniendo como soporte estudios realizados con diferentes cepas bacterianas que cumplen con esta característica.

MICROBIOLOGÍA DE LA CAVIDAD ORAL

Se ha estimado que en la cavidad oral hay más de mil especies diferentes de bacterias como colonizadoras potenciales.¹⁸⁻²² Solamente 280 especies han sido aisladas e identificadas, pero mediante técnicas moleculares basadas en el clonaje del gen 16S RNA, se ha llegado a identificar aproximadamente 600 especies o filotipos.¹⁹ La mayoría de estas bacterias cumplen un papel comensal, manteniendo la homeostasis del ecosistema, y otras participan en el desarrollo de patologías.²³⁻²⁵

De acuerdo a las condiciones de la cavidad oral, varían los tipos y la proporción de las bacterias.^{12-14, 26} Estas diferencias son evidentes, entre cavidad oral sana o con algún tipo de patología, como caries,²⁷⁻²⁹ periodontitis³⁰ o cáncer.^{31,32}

years, several research groups have focused their efforts on the study of oral microbiota,¹²⁻¹⁴ identifying microorganisms involved in cariogenic processes, microorganisms of the healthy oral cavity, their metabolic processes, and the interactions between microorganisms and host. Some biotechnology tools have been tried based on all this research, including probiotics,^{15, 16} intended for a selective control of the etiological agents of caries and the maintenance of oral homeostasis. The WHO/FAO have accepted the definition of probiotics as “live microorganisms, mainly bacteria, that are safe for human consumption, and when administered in adequate amounts confer a health benefit on the host”.¹⁷

The objective of this topic review is to present probiotics as a strategy for caries control within the context of microbiology and the maintenance of oral homeostasis, as supported by studies conducted on different bacterial strains that comply with this characteristic.

MICROBIOLOGY OF THE ORAL CAVITY

It has been estimated that there are over a thousand different species of bacteria in the oral cavity as potential colonizers.¹⁸⁻²² Only 280 species have been isolated and identified, but using molecular techniques based on the cloning of gene 16S RNA, about 600 species or phylotypes have been identified.¹⁹ Most of these bacteria are commensals, maintaining the homeostasis of the ecosystem, while others are involved in the development of pathologies.²³⁻²⁵

The types and proportions of bacteria vary according to the conditions of the oral cavity.^{12-14, 26} These differences are evident between a healthy oral cavity and one with some kind of pathology, such as caries,²⁷⁻²⁹ periodontitis,³⁰ or cancer.^{31,32}

La cavidad oral sana está caracterizada por una microflora dominada por el *phylum Firmicutes* (género *Streptococcus*, familia *Veillonellaceae*, género *Granulicatella*), *Proteobacteria* (género *Neisseria*, *Haemophilus*), *Actinobacteria* (género *Corynebacterium*, *Rothia*, *Actinomyces*), *Bacteroidetes* (género *Prevotella*, *Capnocytophaga*, *Porphyromona*) y *Fusobacteria* (género *Fusobacterium*).³³ En un estudio realizado a partir de placa dental de niños libres de caries, los autores identificaron una sobreabundancia de *Streptococcus parasanguinis*, *Abiotrophia defectiva*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis* y *Streptococcus sanguinis*.³⁴ Otras comunidades bacterianas asociadas a condiciones libres de caries son *Cordibacterium*, *Rothia*, *Kingella*, *Aggregatibacter* o *Mannheimia*, que, a pesar de ser abundantes, algunas son poco conocidas por ser parte de grupos que no pueden ser cultivados en el laboratorio.³⁵ Los hallazgos de una comunidad microbiana relacionada con un estatus no cariogénico apoyan la idea de usar bacterias asociadas al estado saludable como probióticos, para prevenir las enfermedades orales.²⁸

Respecto a los microorganismos de cavidad oral con caries, durante los años sesenta y setenta fueron identificadas unas bacterias encontradas en alta proporción en lesiones cariosas.³⁶ Durante este periodo, se estableció la importancia de *Streptococcus mutans* y organismos relacionados (*S. sobrinus*, *S. cricetus*, *S. rattus*, *S. downii* y *S. macacae*) en la etiología de la caries dental.²⁷ Otro grupo de bacterias encontradas en gran proporción en lesiones cariosas son los lactobacilos acidogénicos y acidotolerantes, que, al igual que el *S. mutans* convierten los carbohidratos fermentables en ácido láctico, generando así la desmineralización de los dientes.³⁷

Hoy en día, con los avances en técnicas moleculares, como la PCR, la pirosecuenciación y la secuenciación del ARNr 16S, así como con el establecimiento de bases de datos genómicas como Human Oral Microbiome Database (HOMD)³⁸ y OSU CORE database,³⁹ se sabe que son más los microorganismos implicados en el desarrollo de la caries dental.¹⁰ Entre las bacterias identificadas, se encuentran *Selenomonas*, *Neisseria*, una variedad

The healthy oral cavity is characterized by a microflora dominated by *phylum Firmicutes* (genus *Streptococcus*, family *Veillonellaceae*, genus *Granulicatella*), *Proteobacteria* (genus *Neisseria*, *Haemophilus*), *Actinobacteria* (genus *Corynebacterium*, *Rothia*, *Actinomyces*), *Bacteroidetes* (genus *Prevotella*, *Capnocytophaga*, *Porphyromona*) and *Fusobacteria* (genus *Fusobacterium*).³³ In a study based on dental plaque from caries-free children, the authors identified an overabundance of *Streptococcus parasanguinis*, *Abiotrophia defectiva*, *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis*, and *Streptococcus sanguinis*.³⁴ Other bacterial communities associated with caries-free conditions are *Cordibacterium*, *Rothia*, *Kingella*, *Aggregatibacter* or *Mannheimia*, some of which, despite being abundant, are not fully known as they belong to groups that cannot be grown in laboratory.³⁵ The findings of a microbial community related with non-cariogenic status support the idea of using bacteria associated to the healthy status as probiotics to prevent oral diseases.²⁸

Regarding microorganisms in oral cavity with caries, some bacteria found in high proportions in carious lesions were identified during the 1960's and 1970's.³⁶ During this period, the importance of *Streptococcus mutans* and related organisms (*S. sobrinus*, *S. cricetus*, *S. rattus*, *S. downii*, and *S. macacae*) was established in the etiology of dental caries.²⁷ Another group of bacteria found in high proportions in carious lesions are the acidogenic and acid tolerant lactobacilli which, like *S. mutans*, transform fermentable carbohydrates into lactic acid, producing tooth demineralization.³⁷

Today, with the advances in molecular techniques, such as PCR, pyrosequencing and the sequencing of 16S rRNA, as well as with the establishment of genomic databases like the Human Oral Microbiome Database (HOMD)³⁸ and OSU CORE Database,³⁹ more microorganisms are known to be involved in the development of dental caries.¹⁰ The identified bacteria include *Selenomonas*, *Neisseria*, a variety

de especies de *Streptococcus*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*, *Scardoviawiggisiae*, *Veillonella parvula*, *Veillonella atypica*, *Megasphaera micronuciformis*, *Fusobacterium periodontium*, *Achromobacterxylooxidans* y *Actinomycesgerenseriae*.²⁷⁻²⁹

El gran avance que se ha logrado en la caracterización de los microorganismos presentes en la cavidad oral no ha sido suficiente para el desarrollo de estrategias que controlen las principales patologías. Esto se debe a la complejidad del ecosistema y a que es fundamental el entendimiento de las interacciones entre estos microorganismos y el hospedador.³³ El desarrollo de las ciencias “ómicas” (metatranscriptómica, proteómica o metabolómica) ha permitido una mayor comprensión de estas interacciones. De hecho, se ha llegado a concluir que la detección de perfiles metabólicos asociados con la enfermedad da más información que la composición de microorganismos.¹⁰ Así que, como dicen Simón-Soro y colaboradores, la investigación debe enfocarse en interceptar las funciones relacionadas con el inicio y la progresión de la enfermedad, como estrategias que regulen el pH, la disrupción de moléculas de adhesión entre microorganismos o de los microorganismos y el hospedador, o el uso de estrategias antimicrobianas como los probióticos, que modifican la interacción microbiana y por tanto los efectos cariogénicos.¹⁰

ESTUDIOS CON PROBIÓTICOS EN CAVIDAD ORAL

Los probióticos son ampliamente estudiados y usados para problemas gastrointestinales, como diarrea por el consumo de antibióticos, infección por *Helicobacter pylori*, manejo de la intolerancia a la lactosa, síndrome de colon irritable y colitis, así como para enfermedades alérgicas y urogenitales, entre otras.⁴⁰⁻⁴² También es común su uso en productos de consumo diario con el fin de mejorar el funcionamiento del tracto digestivo y potencializar el sistema inmunológico.⁴³ Respecto a los probióticos para la salud oral, su uso es menos

of species of *Streptococcus*, *Bifidobacterium*, *Propionibacterium*, *Scardoviawiggisiae*, *Veillonella parvula*, *Veillonella atypica*, *Megasphaera micronuciformis*, *Fusobacterium periodontium*, *Achromobacterxylooxidans*, and *Actinomycesgerenseriae*.²⁷⁻²⁹

The great progress achieved in characterizing microorganisms in the oral cavity has not been sufficient to develop strategies to control the main pathologies. This is due to the complexity of the ecosystem and because understanding the interactions between these microorganisms and the host is critical.³³ The development of “omics” sciences (metatranscriptomics, proteomics, or metabolomics) has enabled a better understanding of these interactions. In fact, it has been concluded that the detection of metabolic profiles associated with the disease provides more information than the composition of microorganisms.¹⁰ As Simon-Soro et al put it, research must focus on intercepting the functions related with the onset and progression of the disease, such as the strategies to regulate pH, the disruption of molecules of adhesion among microorganisms or between microorganisms and the host, or the use of antimicrobial strategies like probiotics, which modify the microbial interaction and therefore the cariogenic effects.¹⁰

STUDIES WITH PROBIOTICS IN THE ORAL CAVITY

Probiotics are widely studied and used for gastrointestinal problems, such as diarrhea by consumption of antibiotics, infection by *Helicobacter pylori*, management of intolerance to lactose, irritable colon syndrome, and colitis, as well as for urogenital and allergic diseases, to name just a few.⁴⁰⁻⁴² Their use is also common in daily products in order to improve the functioning of the digestive tract and to boost the immune system.⁴³ Regarding probiotics for oral health, they are less

frecuente a pesar de los resultados obtenidos en varios estudios^{19, 44, 46, 47} y al desarrollo de productos comerciales con este componente.⁴⁸ Además, son varios los mecanismos de acción que ejercen los probióticos para el control de patógenos orales (Figura 1).

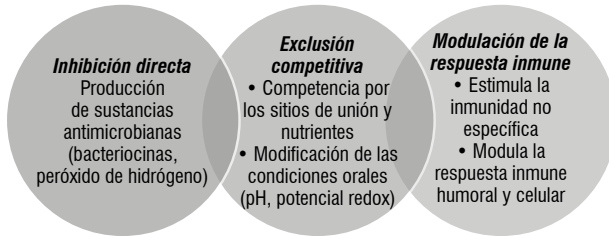


Figura 1. Posibles mecanismos de acción de los probióticos frente a los patógenos en cavidad oral

Fuente: elaboración propia basada en la literatura^{49, 50}

Son diversas las cepas bacterianas estudiadas como probióticos, solas o en combinación, así como las dosis utilizadas en los estudios, los periodos de intervención, las poblaciones, los diseños experimentales (Tabla 1) y las vías de administración (Figura 2). Entre los resultados observados con mayor frecuencia se encuentra la disminución del recuento de *S. mutans* en saliva o placa, pero son pocos los estudios en los que se realiza el examen clínico dental para valorar el tratamiento (Tabla 1). Esto lo confirma un metaanálisis realizado por Laleman y colaboradores en 2013, en el que afirman que la evidencia científica que demuestra el control de la caries es insuficiente.¹⁵ Sin embargo, los resultados de los estudios que determinan el efecto de los probióticos en el índice de lesiones cariosas⁴⁴⁻⁴⁷ o de placa dental^{51, 52} son prometedores (Tabla 1).

frequently used despite the findings of several studies^{19, 44, 46, 47} and the development of commercial products with this component.⁴⁸ Also, probiotics have several mechanisms of action to control oral pathogens (Figure 1).

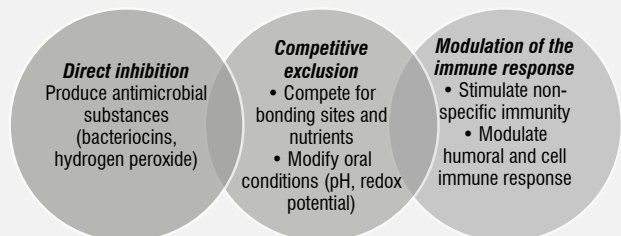


Figure 1. Possible mechanisms of action of probiotics against pathogens in the oral cavity

Source: by the author based on the literature^{49, 50}

Several bacterial strains have been studied as probiotics, either isolated or in combination, as well as the doses used in studies, intervention periods, populations, experimental designs (Table 1), and routes of administration (Figure 2). The results often include a decrease in *S. mutans* count in saliva or plaque, but few studies conduct dental clinical examinations to assess treatment (Table 1). This is confirmed by a meta-analysis conducted by Laleman et al in 2013, claiming that the scientific evidence demonstrating caries control is insufficient.¹⁵ However, the results of studies describing the effect of probiotics in the index of carious lesions⁴⁴⁻⁴⁷ or dental plaque^{51, 52} are promising (Table 1).

Tabla 1. Estudios realizados con bacterias probióticas para la reducción de *Streptococcus mutans* y control de caries

Autor Año	Población estudiada (total)	Cepa bacteriana, vía de administración y dosis	Medida	Resultado en el grupo experimental con el probiótico
Näse et al, 2001 ⁴⁴	594 niños (1 a 6 años)	GE: <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG en leche por 7 meses (5-10 x 10 ⁵ UFC/mL) GC: placebo	-SM en placa y saliva -Riesgo de caries	-Reducción SM -Reducción riesgo de caries en niños de 3 a 4 años
Ahola et al, 2002 ⁵³	74 individuos (18 a 35 años)	GE: <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG 1,9 x 10 ⁷ UFC/g y <i>Lactobacillus rhamnosus</i> LC 705 1.2 x 10 ⁷ UFC/g en queso por 3 semanas (3 veces al día) GC: placebo	-Recuento <i>S. mutans</i> , <i>Candida albicans</i> en saliva. -Índice COP -Índice periodontal de la comunidad (IPC)	-Disminución en el recuento de <i>S. mutans</i> y <i>Candida albicans</i> , pero la diferencia entre ambos grupos no es significativa -Diferencias significativas durante el periodo de postratamiento -La prueba estadística indicó que la intervención con probióticos reduce el riesgo de tener altas concentraciones de <i>S. mutans</i> y <i>Candida</i>
Montalto et al, 2004 ⁵⁴	35 voluntarios sanos (23 a 37 años)	GE: <i>Lactobacillus sporogenes</i> , <i>L. bifidum</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>L. thermophilus</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. rhamnosus</i> . 1,88 x 10 ⁹ células/día en forma líquida o en cápsulas. GC: placebo	<i>S. mutans</i> y Lb en saliva.	-Incremento en el recuento de Lb -No diferencias significativas en el recuento de <i>S. mutans</i> , durante el tratamiento
Nikawa et al, 2004 ⁵⁵	40 mujeres (20 años)	GE: Leche fermentada con <i>Lactobacillus reuteri</i> SD2112 durante dos semanas (1 vez al día). GC: leche fermentada con otros lactobacilos.	- <i>S. mutans</i> en saliva	-Reducción de <i>S. mutans</i> en saliva con la leche fermentada con probióticos
Caglar et al, 2005 ⁵⁶	21 personas	GE: <i>Bifidobacterium</i> DN-173 010 en yogurt una vez al día. GC: placebo	SM y Lb en saliva	-Reducción significativa de SM -Tendencia similar con Lb pero no significativa
Caglar et al, 2006 ⁵⁷	120 adultos jóvenes (21 a 24 años)	GE: <i>Lactobacillus reuteri</i> ATCC 55730 10 ⁸ UFC/g en tabletas para disolver en la boca o preparado con agua por 3 semanas. GC: placebo	SM y Lb en saliva	Reducción en el recuento de <i>S. mutans</i> , pero no de Lb
Caglar et al, 2007 ⁵⁸	80 adultos jóvenes (21 a 24 años)	GE: <i>Lactobacillus reuteri</i> ATCC 55730, <i>L. reuteri</i> ATCC PTA 5289. 1 x 10 ⁸ UFC en chicles con y sin xilitol por 3 semanas. GC: placebo	SM y Lb en saliva	Reducción significativa de SM respecto al inicio con el probiótico y con xilitol -No diferencia en Lb
Caglar et al, 2008 ⁵⁹	20 mujeres (20 años)	GE: <i>Lactobacillus reuteri</i> ATCC 55730/ <i>L. reuteri</i> ATCC PTA5289 1 x 10 ⁸ en pastillas para disolver en la boca CFU una vez al día durante 10 días. GC: placebo	SM y Lb en saliva	Reducción significativa en los niveles de SM
Caglar et al, 2008 ⁶⁰	24 individuos (la media es de 20 años)	GE: <i>Bifidobacterium lactis</i> Bb12 10 ⁸ una vez al día en helados. GC: placebo	-SM y Lb en saliva	-Reducción significativa en los niveles de SM -No diferencia en Lb
Stecke-sén-Blicks et al, 2009 ⁶¹	248 niños (1 a 5 años)	GE: <i>Lactobacillus rhamnosus</i> LB21 10 ⁷ UFC/ml en leche con flúor por 21 meses GC: placebo	-SM y Lb en placa -Salud oral: índice de caries -Salud en general	-No efecto en el número de SM y Lb -Reducción de caries
Cogulu et al, 2010 ⁶²	104 adultos (entre 20 a 27 años)	GE: Kefir con las cepas probióticas <i>Lactococcus lactis</i> spp. <i>lactis</i> , <i>Lactococcus lactis</i> spp. <i>cremoris</i> , <i>Lactococcus lactis</i> spp. <i>diacetylactis</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> spp. <i>cremoris</i> , <i>Lactobacillus kefir</i> , <i>Kluyveromyces marxianus</i> , y <i>Saccharomyces unisporus</i> . 100 o 200 ml por día durante 3 semanas. GC: leche	-Tasa flujo salival -Capacidad buffer -Recuento de SM y Lb en saliva	Reducción estadísticamente significativa en SM y Lb con 200 ml de Kefir al día.
Lexner et al, 2010 ⁶³	18 adolescentes con caries activa	GE: <i>Lactobacillus rhamnosus</i> LB21 10 ⁷ CFU/ml en leche, durante 2 semanas. GC: Placebo	-Recuento de SM y Lb en saliva y placa -Otros microorganismos	No se observaron cambios en los microorganismos evaluados

Autor Año	Población estudiada (total)	Cepa bacteriana, vía de administración y dosis	Medida	Resultado en el grupo experimental con el probiótico
Aminadabi et al, 2011 ⁶⁴	105 niños (6 a 12 años)	GE: <i>Lactobacillus rhamnosus</i> LGG en yogurt por 3 semanas (2 x 10 ⁸ UFC/mL), con y sin previo tratamiento con clorhexidina GC: enjuague solo con clorhexidina por dos semanas.	<i>S. mutans</i> y LGG en saliva	-Reducción significativa de <i>S. mutans</i> en el grupo con tratamiento previo con clorhexidina y luego ingesta de probiótico. -Incremento de LGG en saliva
Petersson et al, 2011 ⁵²	160 adultos (58 a 84 años) con lesiones cariosas primarias	GE: <i>Lactobacillus rhamnosus</i> LB21 10 ⁷ UFC/ml con (B) y sin flúor (C) en 200 ml de leche, y leche solo con flúor (D) una vez al día durante 15 meses. GC: placebo (A)	-Índice de lesiones cariosas -Recuento SM y Lb en saliva y placa	-Remineralización en los tratamientos con probióticos y/o flúor -Reversión en los índices de las lesiones cariosas -No diferencias significativas en el recuento de SM y Lb
Jindal et al, 2011 ⁶⁵	150 niños (7 a 14 años)	GE: <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Bifidobacterium sp.</i> en polvo diluido en agua (B). <i>Bacillus coagulans</i> en polvo diluido en agua. (C) GC: placebo (A)	SM en saliva	-Reducción significativa de SM en saliva en los grupos con probióticos
Mortazavi y Akhlaghi, 2012 ⁶⁶	60 adultos (18 a 37 años)	GE: <i>Lactobacillus casei</i> 1 X 10 ⁶ UFC/g en queso, 2 veces al día por 2 semanas. GC: placebo	SM y Lb en saliva	-Reducción significativa en el recuento de SM solo cuando la población evaluada con el probiótico tenía altos niveles de esta bacteria (> 10 ⁵ UFC/ml). -No hubo diferencia en el recuento de Lb
Taipale et al, 2012 ⁶⁷	106 niños (desde la edad de 1 a 2 meses)	GE: <i>Bifidobacterium animalis subsp lactis</i> BB-12 en tabletas por 23 meses (10 ¹⁰ UFC/mL), otro grupo xilitol (X) y otro sorbitol (S) (dos veces al día) GC: placebo	-Evaluados a los 8 meses y 2 años -Cuantificación SM y <i>B. animalis</i> de mucosa y diente	-La temprana administración del probiótico no generó una colonización permanente de la bacteria ni afectó significativamente la colonización de SM
Burton et al, 2013 ⁵¹	100 niños con caries activas	GE: <i>Streptococcus salivarius</i> cepa M18 durante 3 meses. GC: placebo	-Cambios en la placa dental -Salud gingival -Niveles de <i>S. salivarius</i> , <i>S. mutans</i> , <i>Lactobacillus</i> , <i>Streptococcus</i> β-hemoíticos, <i>Candida</i> .	-El índice de placa fue significativamente más bajo en niños tratados con el probiótico, especialmente en los que tenían altos índices -No diferencias entre el recuento de microorganismos entre los dos grupos.
Campus et al, 2014 ⁶⁸	191 niños (6 a 8 años) con 2 a 3 lesiones cariosas y una concentración de SM ≥ 10 ⁵ CFU/ml	Grupo E: <i>Lactobacillus brevis</i> CD2 (2 x 10 ⁹ UFC/g) por 6 semanas. Grupo C: placebo.	-pH de la placa dental -Índice de sangrado al sondaje -SM en saliva	-Reducción en la acidogenicidad de la placa -Reducción significativa de SM -Reducción en el sangrado
Haslöf et al, 2013 ⁶⁹	179 niños (4 a 13 meses)	Grupo E: <i>Lactobacillus paracasei</i> F19 (LF19) en cereales durante 9 años. Grupo C: placebo	-SM y Lb en saliva -Índice COP -Colonización de LF19	-No diferencias significativas en los índices COP, ni en el número de SM y Lb -Sin evidencias en la colonización de LF19
Vistoso, 2013 ⁴⁶	205 niños (123 con probióticos y 82 con el control)	Grupo E: <i>Lactobacillus rhamnosus</i> LRH08 10 ⁷ UFC/g de 2 a 3 años durante 10 meses. Grupo C: Placebo	-Examen clínico -Incremento de caries, índice ceod -Recuento de Lb y SM en saliva	-Disminución significativa de la incidencia de nuevas lesiones de caries -Disminución de individuos con nuevas lesiones -Disminución en el recuento de SM
Toivainen et al, 2014 ⁵²	60 adultos jóvenes saludables (24 a 25 años)	Grupo E: <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG y <i>Bifidobacterium animalis subsp. lactis</i> BB-12 en pastillas por 4 semanas. Grupo C: placebo	-SM y Lb en saliva -Formación de placa -Desarrollo de gingivitis -Microbiota oral	-No hay efecto en el número de SM y Lb -Disminución de la formación de placa -Menos gingivitis
Nishihara et al, 2014 ⁷⁰	64 adultos jóvenes (edad promedio 24,8)	GE: 1. <i>Lactobacillus salivarius</i> WB21 6 x 10 ⁸ UFC con xilitol en tabletas 2. <i>Lactobacillus salivarius</i> T12711 2,8 x 10 ⁸ CFU con xilitol en tabletas 3. Ovalgen (Anticuerpo contra la glucosiltransferasa de <i>S. mutans</i>), o xilitol en tabletas durante 2 semanas. GC: tabletas de xilitol	-Factores de riesgo de caries -Concentración de SM y Lb -Cantidad de flujo salival -pH de la saliva -Capacidad buffer de la saliva	-Disminución de SM en los individuos sometidos a los probióticos y a Ovalgen respecto al grupo control -Flujo y pH salival sin diferencias significativas -Capacidad buffer se incrementó significativamente en grupos 2 y 3
Hedayati-Hajikand et al, 2015 ⁴⁷	138 niños (de 2 a 3 años)	G.E: <i>Streptococcus uberis</i> KJ2TM, <i>S. oralis</i> KJ3TM y <i>S. rattus</i> JH 145TM (1 x 10 ⁸ UFC totales en el producto ProBiora3), una pastilla diaria durante 1 año. G.C.: placebo	-Índice de caries -Reducción riesgo de caries	Reducción en el desarrollo de caries mediante la administración de esta combinación de probióticos.

SM: estreptococos del grupo *mutans* Lb: *Lactobacillus* UFC: Unidades Formadoras de Colonias GE: Grupo experimental GC: Grupo control.

Fuente: elaboración propia basada en la literatura^{15, 16, 64-71}

Table 1. Studies carried out with probiotic bacteria to reduce *Streptococcus mutans* and control caries

Author Year	Study population (total)	Bacterial strain, administration route and dose	Measurement	Result in the experimental group with the probiotic
Näse et al, 2001 ⁴⁴	594 children (1 to 6 years)	EG: <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG in milk for 7 months (5-10 x 10 ⁵ CFU/mL) CG: placebo	-SM in plaque and saliva -Risk of caries	-Reduction in SM -Reduced in risk of caries in children aged 3 to 4 years
Ahola et al, 2002 ⁵³	74 individuals (18-35 years)	EG: <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG 1.9 x 10 ⁷ CFU/g and <i>Lactobacillus rhamnosus</i> LC 705 1.2 x 10 ⁷ CFU/g in cheese for 3 weeks (3 times a day) CG: placebo	-Count of <i>S. mutans</i> , <i>Candida albicans</i> in saliva. -DMF Index -Community Periodontal Index (CPI)	-Decreased count of <i>S. mutans</i> and <i>Candida albicans</i> , but the difference between the two groups is not significant -Significant differences during post-treatment period -The statistical test showed that intervention with probiotics reduces the risk of having high concentrations of <i>S. mutans</i> and <i>Candida</i>
Montalto et al, 2004 ⁵⁴	35 healthy volunteers (23 to 37 years)	EG: <i>Lactobacillus sporogenes</i> , <i>L. bifidum</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>L. thermophilus</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. rhamnosus</i> . 1.88 x 10 ⁹ cells / day liquid or in capsules. CG: placebo	<i>S. mutans</i> and Lb in saliva.	-Increase in Lb count -No significant differences in <i>S. mutans</i> count during treatment
Nikawa et al, 2004 ⁵⁵	40 women (20 years)	EG: Fermented milk with <i>Lactobacillus reuteri</i> SD2112 for two weeks (once a day). CG: Fermented milk with other lactobacilli.	<i>S. mutans</i> in saliva	Reduced <i>S. mutans</i> in saliva with milk fermented with probiotic
Caglar et al, 2005 ⁵⁶	21 people	EG: <i>Bifidobacterium</i> DN-173 010 in yogurt once a day. CG: placebo	SM and Lb in saliva	-Significant reduction of SM -Similar tendency with Lb, but non-significant
Caglar et al, 2006 ⁵⁷	120 young adults (21 to 24 years)	EG: <i>Lactobacillus reuteri</i> ATCC 55730 10 ⁹ CFU/g in tablets to dissolve in the mouth or prepared with water for 3 weeks. CG: placebo	SM and Lb in saliva	Reduction in <i>S. mutans</i> count, but not in Lb
Caglar et al, 2007 ⁵⁸	80 young adults (21-24 years old)	EG: <i>Lactobacillus reuteri</i> ATCC 55730, <i>L. reuteri</i> ATCC PTA 5289. 1 x 10 ⁸ CFU in chewing gum with and without xylitol for 3 weeks. CG.: placebo	SM and Lb in saliva	-Significant reduction of SM in comparison to baseline with the probiotic and xylitol -No difference in Lb
Caglar et al, 2008 ⁵⁹	20 women (20 years)	EG: <i>Lactobacillus reuteri</i> ATCC 55730 // <i>L. reuteri</i> ATCC PTA5289 1 x 10 ⁸ in tablets to dissolve in the mouth CFU once a day for 10 days. CG: placebo	SM and Lb in saliva	Significant reduction in SM levels
Caglar et al, 2008 ⁶⁰	24 individuals (20 years in average)	EG: <i>Bifidobacterium lactis</i> Bb12 10 ⁸ once a day in ice cream. CG: placebo	SM and Lb in saliva	-Significant reduction in SM levels -No difference in Lb
Steckesen-Blicks et al, 2009 ⁶¹	248 children (1 to 5 years)	EG: <i>Lactobacillus rhamnosus</i> LB21 10 ⁷ CFU / ml in milk with fluorine for 21 months CG: placebo	-SM and Lb in plaque -Oral Health: Caries Index -Overall Health	-No effect on the number of SM and Lb -Reduction of caries
Cogulu et al, 2010 ⁶²	104 adults (20 to 27 years)	EG: Kefir with the probiotic strains <i>Lactococcus lactis</i> spp. <i>lactis</i> , <i>Lactococcus lactis</i> spp. <i>cremoris</i> , <i>Lactococcus lactis</i> spp. <i>diacetylactis</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> spp. <i>cremoris</i> , <i>Lactobacillus kefir</i> , <i>Kluyveromyces marxianus</i> , and <i>Saccharomyces unisporus</i> . 100 or 200 ml per day for 3 weeks. CG: milk	-Salivary flow rate -Buffer capacity -Count of SM and Lb in saliva	Statistically significant reduction in SM and Lb with 200 ml Kefir per day.
Lexner et al, 2010 ⁶³	18 adolescents with active caries	EG: <i>Lactobacillus rhamnosus</i> LB21 10 ⁷ CFU/ml in milk for 2 weeks. GC: Placebo	-Count of SM and Lb in saliva and plaque -Other microorganisms	No changes were observed in the microorganisms evaluated
Aminadabi et al, 2011 ⁶⁴	105 children (6 to 12 years)	EG: <i>Lactobacillus rhamnosus</i> LGG in yogurt for 3 weeks (2 x 10 ⁸ CFU / mL), with and without prior treatment with chlorhexidine CG: Rinse only with chlorhexidine for two weeks.	<i>S. mutans</i> and LGG in saliva	-Significant reduction of <i>S. mutans</i> in the group with prior treatment with chlorhexidine followed by probiotic intake. -Increase of LGG in saliva

Author Year	Study population (total)	Bacterial strain, administration route and dose	Measurement	Result in the experimental group with the probiotic
Petersson et al, 2011 ⁵²	160 adults (58 to 84 years) with primary carious lesions	EG: <i>Lactobacillus rhamnosus</i> LB21 10 ⁷ CFU / ml with (B) and without (C) fluoride in 200 ml of milk, and milk only with fluorine (D) once a day during 15 months. CG: placebo (A)	-Index of carious lesions -Count of SM and Lb in saliva and plaque	-Remineralization in treatments with probiotic and/or fluorine -Reversal in carious lesions indexes -No significant differences in SM and Lb counts
Jindal et al, 2011 ⁶⁵	150 children (7 to 14 years)	EG: <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Bifidobacterium sp.</i> in powder diluted in water (B). <i>Bacillus coagulans</i> in powder diluted in water. (C) CG: placebo (A)	SM in saliva	-Significant reduction of SM in saliva in the probiotics groups
Mortazavi and Akhlaghi, 2012 ⁶⁶	60 adults (18 to 37 years)	EG: <i>Lactobacillus casei</i> 1 X 10 ⁸ CFU/g in cheese, 2 times a day for 2 weeks. CG: placebo	SM and Lb in saliva	-Significant reduction in SM count only when the population evaluated with the probiotic had high levels of this bacterium (> 10 ⁵ CFU/ml). -There was no difference in Lb count
Taipale et al, 2012 ⁶⁷	106 children (from the age of 1 to 2 months)	EG: <i>Bifidobacterium animalis subsp. lactis</i> BB-12 tablets for 23 months (10 ¹⁰ CFU/mL), another group with xylitol (X) and another with sorbitol (S) (twice a day) CG: placebo	-Assessed after 8 months and 2 years -Quantification of SM and B. animalis in mucosa and tooth	-Early administration of the probiotic did not result in permanent colonization of bacteria and did not significantly affect colonization by SM either
Burton et al, 2013 ⁵¹	100 children with active caries	EG: <i>Streptococcus salivarius</i> M18 strain during 3 months. CG: placebo	-Changes in dental plaque -Gingival health -Levels of S. salivarius, S. mutans, lactobacillus, Streptococcus β-hemolytic, Candida.	-Plaque index was significantly lower in children treated with the probiotic, especially in those who had high rates -No differences in microorganism count between the two groups.
Campus et al, 2014 ⁶⁸	191 children (6 to 8 years) with 2 to 3 carious lesions and a concentration of SM ≥ 10 ⁵ CFU / ml	EG: <i>Lactobacillus brevis</i> CD2 (2 x 10 ⁹ CFU / g) for 6 weeks. CG: placebo.	-pH of dental plaque -Index of bleeding at probing -SM in saliva	-Reduction in acidogenicity of plaque -Significant reduction in SM -Reduction in bleeding
Haslöf et al, 2013 ⁶⁹	179 children (4 to 13 months)	EG: <i>Lactobacillus paracasei</i> F19 (LF19) in cereals for 9 years. CG: placebo	-SM and Lb in saliva -DMF Index -Colonization of LF19	-No significant differences in DMF Indexes nor in the number of SM and Lb -No evidence of colonization by LF19
Vistoso, 2013 ⁴⁶	205 children (123 with probiotics and 82 with control)	EG: <i>Lactobacillus rhamnosus</i> LRH08 10 ⁷ CFU/g 2-3 years during 10 months. CG: Placebo	-Clinical examination -Increase of caries, DMFs index -Count of Lb and SM in saliva	-Significant reduction in the incidence of new caries lesions -Decrease of individuals with new lesions -Decrease in SM count
Toiviainen et al, 2014 ⁵²	60 young healthy adults (24 to 25 years)	EG: <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG and <i>Bifidobacterium animalis subsp. lactis</i> BB-12 in tablets for 4 weeks. CG: placebo	-SM and Lb in saliva -Formation of plaque -Development of gingivitis -Oral microbiota	-There is no effect on the number of SM and Lb -Decrease in plaque formation -Less gingivitis
Nishihara et al, 2014 ⁷⁰	64 young adults (average age 24.8)	EG: 1. <i>Lactobacillus salivarius</i> WB21 6 x 10 ⁸ CFU with xylitol in tablets 2 <i>Lactobacillus salivarius</i> TI2711 2.8 x 10 ⁸ CFU with xylitol in tablets 3 Ovalgen (antibody against S. mutans glucosyltransferase), or xylitol in tablets for 2 weeks. CG: tablets of xylitol	-Risk factors for caries -Concentration of SM and Lb -Amount of salivary flow -pH of saliva -Buffer capacity of saliva	-Decreased SM in individuals subjected to probiotics and Ovalgen in comparison to the control group -No significant differences in salivary flow and pH -Buffer capacity significantly increased in groups 2 and 3
Hedayati-Hajikand et al, 2015 ⁴⁷	138 children (2 to 3 years)	EG: <i>Streptococcus uberis</i> KJ2™, S. oralis KJ3™ and S. rattus JH 145TM (1 x 10 ⁹ CFU total in product ProBiora3), a daily pill for 1 year. CG.: placebo	-Caries index -Reduced risk of caries	Reduction in the development of caries by administering this combination of probiotics.

SM: streptococcus of the *mutans* group Lb: *Lactobacillus* CFU: Colony-Forming Units EG: experimental group CG: control group.

Source: By the author based on the literature^{15, 16, 64-71}

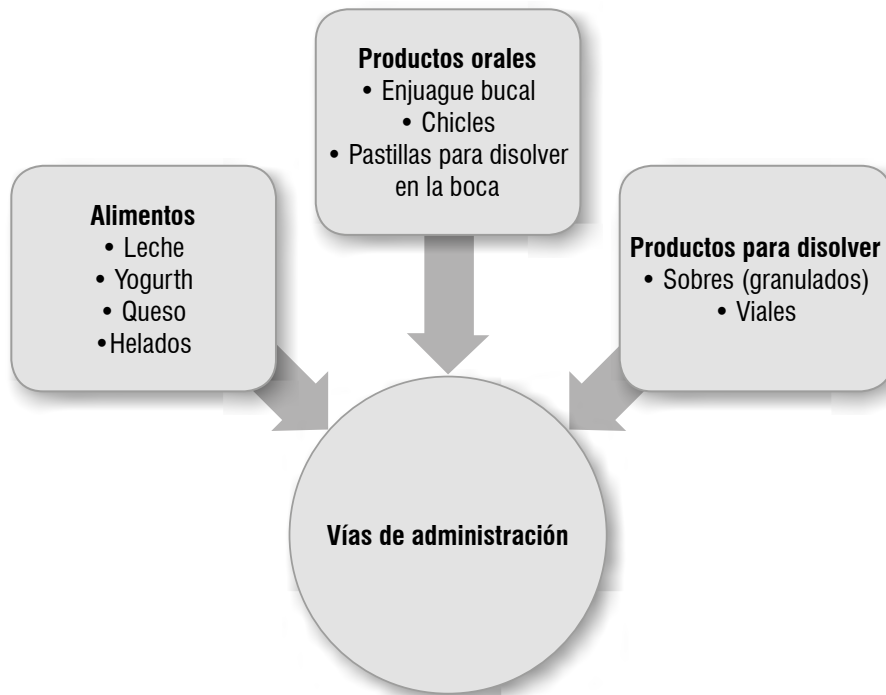


Figura 2. Vías de administración de los probióticos para cavidad oral

Fuente: elaboración propia basada en la literatura^{44, 47, 53, 57, 58, 65, 67}

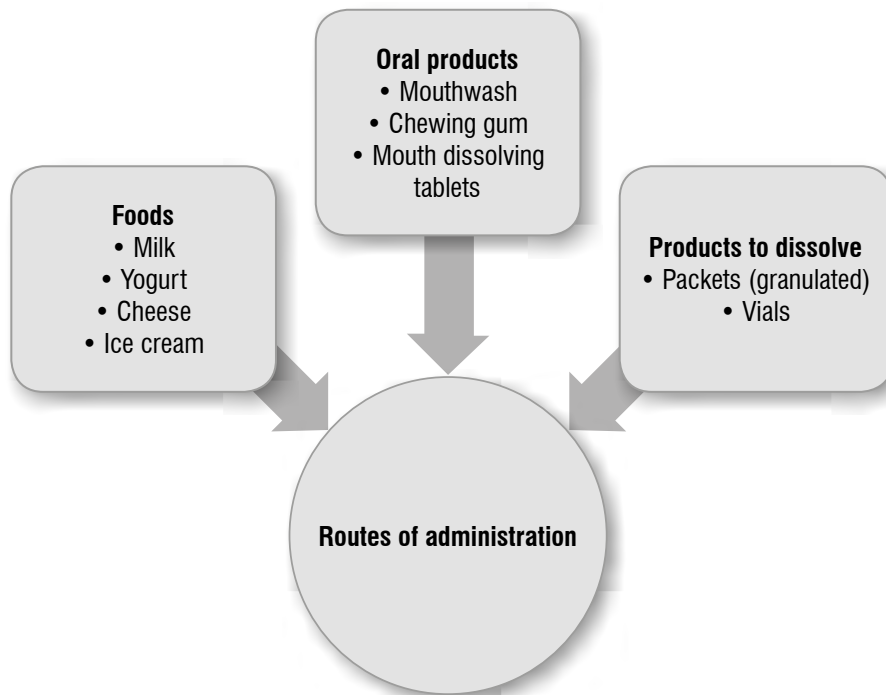


Figure 2. Routes of administration of probiotics for the oral cavity

Source: by the author based on the literature^{44, 47, 53, 57, 58, 65, 67}

Hasta el momento, los probióticos más evaluados para cavidad oral son cepas microbianas aisladas, principalmente del tracto digestivo, como las que pertenecen al género *Lactobacillus* (*L. rhamnosus*, *L. reuteri*, *L. casei*, *L. brevis*, *L. paracasei*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*) y *Bifidobacterium* (*B. bifidum*, *B. longum*, *B. lactis*, *B. animalis*, *B. infantis*)^{37, 49} (Tabla 1). Estas bacterias han demostrado su seguridad durante muchos años, haciendo posible los estudios clínicos y el desarrollo de productos comerciales, con el valor agregado de que algunas han sido identificadas en individuos sanos (COP = 0) (*L. rhamnosus*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. paracasei*),⁷² lo que indica su papel en el balance microecológico. Como inconveniente para su utilización, algunos estudios han demostrado la pobre capacidad de colonización en la cavidad oral,^{73, 74} especialmente en tejido duro,⁷² además de propiedades acidogénicas de algunas cepas y presencia en regiones cariosas,⁷⁵ lo que implicaría un efecto contrario al esperado con los probióticos.

Una de las bacterias probióticas más estudiadas en la cavidad oral fue aislada por Gorbach y Godin en 1983 a partir de tracto digestivo de un adulto sano.⁷⁶ Fue nombrada *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC53103), y se caracteriza por inhibir, por medio de bacteriocinas, una gran variedad de bacterias patógenicas humanas,⁷⁷ entre las que están *S. mutans*, *S. sobrinus*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* y *Prevotella intermedia*.^{78, 79} Además, esta bacteria se establece en el microcosmos de la saliva, y no tiene efecto cariogénico.⁷⁹ Con esta bacteria se ha realizado uno de los estudios clínicos más completos en niños (de 1 a 6 años), donde se obtuvo la reducción de la incidencia de caries en la edad de 3 a 4 años.⁴⁴

Lactobacillus reuteri es otra de las bacterias más estudiadas y residente habitual del tracto gastrointestinal humano. Se caracteriza por producir bacteriocinas que inhiben bacterias Gram positivas como *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocitogenes* y bacterias Gram negativas como *E. coli*, *Yersinia enterocolitica* y *Pseudomonas fluorescens*.⁵⁵

The probiotics most commonly evaluated so far in the oral cavity are isolated microbial strains, mainly of the digestive tract, like the ones belonging to the genus *Lactobacillus* (*L. rhamnosus*, *L. reuteri*, *L. casei*, *L. brevis*, *L. paracasei*, *L. acidophilus*, *L. plantarum*) and *Bifidobacterium* (*B. bifidum*, *B. longum*, *B. lactis*, *B. animalis*, *B. infantis*)^{37, 49} (Table 1). These bacteria have proven their safety for many years, allowing clinical studies and the development of commercial products, with the added value that some have been identified in healthy individuals (DMF = 0) (*L. rhamnosus*, *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. paracasei*),⁷² suggesting their role in micro-ecologic balance. As a drawback to their use, some studies have shown their poor colonization capacity in the oral cavity,^{73, 74} especially in hard tissues,⁷² in addition to acidogenic properties of some strains and their presence in carious regions,⁷⁵ suggesting the opposite effect to that expected with probiotics.

One of the most commonly studied probiotic bacteria in the oral cavity was isolated by Gorbach and Godin in 1983 from digestive tract of a healthy adult.⁷⁶ It was named *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC53103) and is characterized by inhibiting, by means of bacteriocins, a wide variety of human pathogenic bacteria,⁷⁷ including *S. mutans*, *S. sobrinus*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis* and *Prevotella intermedia*.^{78, 79} In addition, this bacterium colonizes the microcosm of saliva, and has no cariogenic effect.⁷⁹ This bacterium was used to conduct one of the most complete clinical studies in children (aged 1 to 6 years), reducing the incidence of caries in the age of 3 to 4 years.⁴⁴

Lactobacillus reuteri is another bacterium that has been commonly studied, and is usually found in the human gastrointestinal tract. It produces bacteriocins that inhibit Gram-positive bacteria as *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes* and Gram-negative bacteria such as *E. coli*, *Yersinia enterocolitica* and *Pseudomonas fluorescens*.⁵⁵

En cavidad oral, se ha demostrado que inhibe a *S. mutans* en saliva, y en condiciones in vitro a *Tannerella forsythia* y *S. gordonii*.⁸⁰ Las cepas estudiadas con mayor frecuencia en cavidad oral son *L. reuteri* ATCC 55730, aislada en 1990 de leche materna de una madre peruana, y *L. reuteri* ATCC 5289, aislada de la cavidad oral de una mujer japonesa.⁸¹ Estas bacterias presentaron características apropiadas para la colonización y el mantenimiento del pH en cavidad oral. En 2012, Jalasvuori y colaboradores demostraron en condiciones in vitro que las cepas mantenían un pH sobre 7 durante 4 horas de incubación en presencia de glucosa y suficiente cantidad de arginina, lo que demuestra el carácter arginolítico de estas bacterias.⁸¹ La cepa ATCC 5289 es la más eficiente para mantener el pH alcalino, y tiene mayor potencial para colonizar, por su capacidad de adhesión y formación de biopelícula.^{81, 82}

Especies del género *Streptococcus*, como son *S. salivarius*, *S. sanguinis* y *S. oligofermentans*, son propias de la cavidad oral y han sido estudiadas como posibles probióticos. *S. salivarius* es uno de los colonizadores más tempranos de la superficie del epitelio en la boca y la nasofaringe de humanos, y su hábitat primario es el dorso de la lengua saludable; la cepa K12 fue aislada de saliva de un niño sano, y se caracteriza por producir bacteriocinas que inhiben el crecimiento de bacterias Gram negativas asociadas a periodontitis y halitosis⁸³ y bacterias Gram positivas como *S. mutans*. Además, tiene la propiedad de producir amonio a partir de arginina y urea, mediante la expresión del gen de la ureasa en condiciones de pH ácido y exceso de carbohidratos.⁸⁴

El papel de *S. oligofermentans* como probiótico fue descubierto durante un estudio clínico en el que se observó una relación inversa en la cantidad de esta bacteria con respecto a *S. mutans* en placa dental.⁸⁵ Mediante un estudio en condiciones in vitro se confirmó el efecto inhibitorio de esta bacteria, debido a la producción de peróxido de hidrógeno a partir de ácido láctico, lo cual indica una capacidad inhibitoria frente a bacterias productoras de ácido láctico.⁸⁶

In the oral cavity, it has been shown to inhibit *S. mutans* in saliva, and *Tannerella forsythia* and *S. gordonii* in vitro.⁸⁰ The strains most frequently studied in the oral cavity are *L. reuteri* ATCC 55730, isolated in 1990 from a Peruvian mother's breast milk, and *L. reuteri* ATCC 5289, isolated from the oral cavity of a Japanese woman.⁸¹ These bacteria showed suitable characteristics for colonization and maintenance of pH in the oral cavity. In 2012, Jalasvuori et al showed that in vitro the strains kept a pH over 7 during 4 hours of incubation in presence of glucose and sufficient amount of arginine, showing the arginolytic nature of these bacteria.⁸¹ Strain ATCC 5289 is the most efficient to keep an alkaline pH, and has a greater colonizing potential due to its capacity of adhesion and formation of biofilm.^{81, 82}

Species of the genus *Streptococcus*, such as *S. salivarius*, *S. sanguinis* and *S. oligofermentans*, are specific to the oral cavity and have been studied as possible probiotics. *S. salivarius* is one of the earliest colonizers of the epithelium surface in the human mouth and nasopharynx, and its primary habitat is the dorsum of the healthy tongue; the K12 strain was isolated from a healthy child's saliva, and is characterized by producing bacteriocins which inhibit the growth of Gram-negative bacteria associated with periodontitis and halitosis⁸³ and Gram-positive bacteria like *S. mutans*. In addition, it has the property of producing ammonium from arginine and urea, through the expression of the gene of urease in conditions of acidic pH and excess carbohydrates.⁸⁴

The role of *S. oligofermentans* as a probiotic was discovered during a clinical trial noting an inverse relationship in the amount of this bacteria with respect to *S. mutans* in dental plaque.⁸⁵ An in vitro study confirmed the inhibitory effect of this bacterium, due to the production of hydrogen peroxide from lactic acid, suggesting its inhibitory capacity in the presence of bacteria producers of lactic acid.⁸⁶

S. sanguinis, al igual que *S. mutans*, es uno de los colonizadores primarios de placa dental, pero con una relación inversa en cantidad, lo que sugirió un antagonismo entre estas dos bacterias.⁸⁷ Un estudio posterior demostró que este antagonismo se debía a la producción de peróxido de hidrógeno por *S. sanguinis*, por un lado, y a la producción de bacteriocinas por *S. mutans*, por otro.⁸⁸ El poder de inhibición de una bacteria sobre la otra está determinado por los factores ecológicos del hospedador y por los mecanismos de supervivencia de las bacterias en la cavidad oral, debido a la regulación de los compuestos inhibitorios por las condiciones ambientales y la yuxtaposición de las dos especies.⁸⁹

EN BÚSQUEDA DE LAS BACTERIAS IDEALES COMO PROBIÓTICOS

Varios grupos de investigación⁹⁰⁻⁹⁴ han realizado estudios con la finalidad de aislar, identificar y evaluar cepas bacterianas que cumplan con las características de probióticos en cavidad oral (tabla 2). Entre los estudios desarrollados está el de Strahinic y colaboradores, en el cual, mediante la búsqueda de cepas de *Lactobacillus* sp. con características probióticas en cavidad oral humana, identificaron *L. salivarius* BGH01 y *L. gasseri* BGH089.⁹⁰ Estas cepas exhibieron antagonismo frente a bacterias patogénicas humanas (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Micrococcus flavus*, *Salmonella enteritidis*), entre las que se encuentra *S. mutans*. Un estudio posterior demostró que *L. salivarius* BGH01 produce más de una bacteriocina, entre las que LS1 y LS2 ya han sido aisladas y evaluadas.⁹⁵

S. sanguinis, just like *S. mutans*, is one of the primary colonizers of dental plaque, but with an inverse relationship in quantity, suggesting an antagonism between these two bacteria.⁸⁷ A subsequent study showed that this antagonism was due to the production of hydrogen peroxide by *S. sanguinis* on the one hand, and the production of bacteriocins by *S. mutans*, on the other.⁸⁸ The inhibitory capacity of a bacterium on the another is determined by the ecological factors of the host and by the survival mechanisms of the bacteria in the oral cavity, due to the regulation of inhibitory compounds by the environmental conditions and the juxtaposition of the two species.⁸⁹

IN SEARCH OF THE IDEAL BACTERIA AS PROBIOTICS

Various research groups⁹⁰⁻⁹⁴ have conducted studies aiming to isolate, identify, and assess bacterial strains complying with the characteristics of probiotics in the oral cavity (table 2). One of such studies is that by Strahinic et al, who searched for strains of *Lactobacillus* sp. with probiotic characteristics in human oral cavity, identifying *L. salivarius* BGH01 and *L. gasseri* BGH089.⁹⁰ These strains showed antagonism against human pathogenic bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Micrococcus flavus*, *Salmonella enteritidis*), including *S. mutans*. A subsequent study showed that *L. salivarius* BGH01 produces more than one bacteriocin; of these, LS1 and LS2 have already been isolated and evaluated.⁹⁵

Tabla 2. Características de los probióticos para cavidad oral

Propiedades	Características	Utilidad
Seguras para el consumo humano	<ul style="list-style-type: none"> Que no tengan efectos adversos en humanos, como patogenicidad, virulencia, toxicidad e infectividad.^{17, 96, 97, 98} Que no presenten actividades metabólicas dañinas (aminas biógenas, ácido D-láctico).⁹⁶ Que no sean hemolíticas.¹⁷ 	La utilización de cepas seguras que hayan superado las pruebas de laboratorio, en animales y en ensayos clínicos en humanos reduce el riesgo de efectos adversos.
Ubicación en cavidad oral	<ul style="list-style-type: none"> Que sean capaces de sobrevivir, adaptarse y establecerse en cavidad oral. En cavidad oral, así como en tracto digestivo, la alteración de las comunidades microbianas es complicada, así que se requiere una ingesta continua del probiótico.^{73, 99, 100} Sin embargo, se ha demostrado, en cavidad oral de niños de 10 años, una colonización más estable debido a que la microbiota está más sujeta a los cambios.⁵⁰ Algunos autores consideran que la colonización de un sitio en cavidad oral, así sea en saliva o en tejidos blandos, puede proveer protección indirecta en otros sitios por mecanismos diferentes a los sistémicos. Por ejemplo, la reducción de la colonización de patógenos en la lengua y/o saliva reduce los reservorios para la colonización de la placa, como es el caso de <i>Lactococcus lactis</i> NCC2211 o de <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG.¹⁰¹ Se considera que lo ideal es el establecimiento en el sitio donde se da la patología, es decir, para el caso de la caries, el microorganismo debería tener las características que le permitan adherirse a tejido duro y así impedir la colonización por microorganismos cariogénicos.²⁰ 	La adhesión de los probióticos a las superficies de la cavidad oral es de gran importancia para evitar la exclusión rápida en el medio. El establecimiento en la mucosa oral y en la biopelícula de tejidos duros media la influencia de la adhesión de otros microorganismos. ²⁰
Producción de sustancias antimicrobianas	<ul style="list-style-type: none"> Algunas especies bacterianas producen bacteriocinas,^{44, 92} y otras peróxido de hidrógeno,⁹⁶ lo cual contribuye a la inhibición de patógenos. La producción de estas sustancias inhibitorias es un criterio importante en la selección de una cepa probiótica porque se cree que provee una ventaja para sobrevivir en nichos ecológicos y prevenir el crecimiento de patógenos.¹⁰² 	Se considera que el papel benéfico de los probióticos está principalmente basado en su efecto antagonista frente a los patógenos, como es mediante la producción de sustancias antimicrobianas constituyendo un mecanismo de defensa en el hospedador. ^{102, 103}
No cariogénicas	<ul style="list-style-type: none"> La utilización de bacterias acidogénicas generaría el efecto contrario al deseado con los probióticos.¹⁰¹ 	Usar bacterias inocuas al hospedador reduce los efectos adversos por su utilización
Capacidad tecnológica de producción	<ul style="list-style-type: none"> Microorganismos que sean fáciles de cultivar y que no pierdan su viabilidad durante la producción y almacenamiento, así como es importante establecerlos en la vía más adecuada para su administración.^{104, 105} 	Poder producir a gran escala el probiótico y que no pierda viabilidad durante el almacenamiento permite su utilidad a nivel poblacional.
Ausencia de resistencia adquirida a antibióticos	<ul style="list-style-type: none"> Algunas bacterias probióticas están relacionadas con bacterias oportunistas, por lo que puede existir la posibilidad de transferencia de genes de resistencia. Lo ideal es que las cepas que vayan a ser usadas para este fin no tengan ningún tipo de resistencia a antibióticos.¹⁰⁴ Es necesario también determinar la susceptibilidad a antibióticos, para el control en caso de una bacteremia asociada a esta bacteria. 	La utilización de cepas sin ninguna resistencia a antibióticos disminuye el riesgo de la transferencia de la resistencia a otras bacterias.
Otras características	<ul style="list-style-type: none"> Un valor agregado a la cepa probiótica es la capacidad de producir metabolitos que establezcan las condiciones de la cavidad oral, como es la producción de amonio mediante el metabolismo de la arginina.^{81, 84, 92} Es importante que no se produzcan compuestos volátiles sulfúricos, para evitar la halitosis.⁹⁴ 	Si la cepa tiene otra característica que contribuya a disminuir la enfermedad, hace que el efecto como probiótico sea más fuerte.

Table 2. Characteristics of probiotics for the oral cavity

Properties	Characteristics	Benefits
Safe for human consumption	Free of adverse effects in humans, such as pathogenicity, virulence, toxicity, and infectivity. ^{17, 96, 97, 98} Free of harmful metabolic activities (biogenic amines, D-lactic acid). ⁹⁶ Non-hemolytic. ¹⁷	The use of safe strains that have passed the tests in laboratories, animals, and clinical trials in humans reduces the risk of adverse effects.
Location in the oral cavity	Able to survive, adapt, and colonize the oral cavity. As in the digestive tract, alterations in the microbial communities in the oral cavity is complicated, requiring a continuous intake of probiotic. ^{73, 99, 100} However, it has been shown that in the oral cavity of 10-year-olds, colonization is more stable since microbiota is more easily subjected to changes. ⁵⁰ Some authors claim that the colonization of a site in the oral cavity, whether in saliva or in soft tissue, can provide indirect protection in others sites by mechanisms other than the systemic ones. For example, the reduction in colonization of pathogens in tongue and/or saliva reduces the reservoirs for colonization in plaque, as it is the case of <i>Lactococcus lactis</i> NCC2211 or <i>Lactobacillus rhamnosus</i> GG. ¹⁰¹ Colonizing the site where the pathology occurs is considered an ideal situation. In the case of tooth decay, the microorganism should have characteristics that enable it to adhere to hard tissue and thus prevent colonization by cariogenic microorganisms. ²⁰	The adhesion of probiotics to surfaces in the oral cavity is very important to avoid the quick release in the oral environment. The establishment in the oral mucosa and the biofilm of hard tissues blocks the influence of adhesion of other microorganisms. ²⁰
Production of antimicrobial substances	Some bacterial species produce bacteriocins, ^{44, 92} while others produce hydrogen peroxide, ⁸⁶ contributing to the inhibition of pathogens. The production of these inhibitory substances is an important criterion in the selection of a probiotic strain because it is believed to provide an advantage to survive in ecological niches and prevent the growth of pathogens. ¹⁰²	The beneficial role of probiotics is based primarily on their antagonistic effect against pathogens, as it is through the production of antimicrobial substances constituting a defense mechanism in the host. ^{102, 103}
Non-cariogenic	The use of acidogenic bacteria would generate the opposite effect to what is desired with probiotics. ¹⁰¹	Using harmless bacteria on the host reduces the adverse effects.
Technological capacity for production	Microorganisms that are easily cultured and do not lose their viability during production and storage, just as it is important to set them in the most suitable route of administration. ^{104, 105}	The large-scale production of probiotics without losing viability during storage allows using them in the population.
Absence of acquired antibiotic resistance	Some probiotic bacteria are related to opportunistic bacteria, suggesting the possibility of transferring resistant genes. Ideally, the strains to be used to this end should be free of any type of resistance to antibiotics. ¹⁰⁴ It is also necessary to verify susceptibility to antibiotics, for control in the event of bacteremia associated to this bacterium.	The use of strains with no resistance to antibiotics reduces the risk of transferring resistance to other bacteria.
Other characteristics	An added value to the probiotic strain is its capacity to produce metabolites that stabilize the conditions of the oral cavity, such as the production of ammonium by the metabolism of arginine. ^{81, 84, 92} It is important not to produce sulfuric volatile compounds, to avoid halitosis. ⁹⁴	If the strain has another characteristic that can help reduce the disease, it makes its probiotic effect stronger.

Otro estudio, centrado en la búsqueda de bacterias ácido-lácticas de saliva de niños sanos, identificó 11 cepas de bacterias que cumplieron con los criterios establecidos por los investigadores, como la capacidad de adherencia a tejidos orales y la agregación para la formación de la biopelícula, el antagonismo frente a patógenos, la identificación genética bacteriana, la no producción de ácidos y compuestos volátiles de mal olor y la no resistencia a antibióticos.⁹¹

Camelo-Castillo y colaboradores identificaron, en placa dental de individuos que nunca han sufrido caries dental, dos cepas de una bacteria a la que denominaron *Streptococcus dentisani*. Esta bacteria pertenece al grupo mitis, pero se agrupó dentro de una nueva ramificación filogenética. Mediante el análisis de características metabólicas y genómicas, confirmaron que pertenecían a una nueva especie del género *Streptococcus*. Como características de probiótico, *S. dentisani* presenta actividad antimicrobiana frente a *S. mutans* en condiciones in vitro, y produce amonio mediante el metabolismo de la arginina, permitiendo un control del pH de la cavidad oral y evitando así el asentamiento de cepas relacionadas con el desarrollo de caries.⁹²

Para identificar bacterias con características probióticas, Wu y colaboradores analizaron cepas bacterianas de *Lactobacillus salivarius* con actividad antagónica frente a *S. mutans*. De 64 cepas estudiadas, encontraron dos, K35 y K43, que inhibían significativamente la formación de biopelícula de *S. mutans*. Posteriores estudios in vitro confirmaron que tenían una fuerte actividad bactericida frente a *S. mutans*.⁹³

En 2015, Terai y colaboradores seleccionaron, a partir de placa dental y lengua de individuos sanos, bacterias del género *Lactobacillus* y *Streptococcus* en función de la no producción de Compuestos Sulfúricos Volátiles (CSV) o glucanos insolubles en agua, que tuvieran alta actividad antibacteriana frente a las bacterias causantes de caries y periodontitis y alta actividad de adherencia a las células epiteliales orales y a la hidroxiapatita in vitro. Los autores seleccionaron *L. crispatus* YIT 12319, *L. fermentum* YIT12320, *L. gasseri* YIT 12321 y *S. mitis* YIT 12322

Another study, focused on finding lactic acid bacteria in saliva from healthy children, identified 11 bacteria strains that met the criteria defined by the researchers, such as ability of adherence to oral tissues and aggregation to form biofilm, antagonism against pathogens, bacterial genetic identification, absence of acids and malodorous volatile compounds, and absence of resistance to antibiotics.⁹¹

Camelo-Castillo et al identified two strains of bacteria that they named *Streptococcus dentisani* in the dental plaque of individuals who have never had dental caries. This bacterium belongs to the mitis group, but was grouped with a new phylogenetic branch. Through the analysis of genomic and metabolic characteristics, they confirmed it belongs to a new species of the genus *Streptococcus*. As probiotic characteristics, *S. dentisani* has antimicrobial activity against *S. mutans* in in vitro conditions, and produces ammonium by arginine metabolism, controlling the pH of the oral cavity and thus preventing the colonization of strains related to the development of caries.⁹²

To identify bacteria with probiotic characteristics, Wu et al analyzed bacterial strains of *Lactobacillus salivarius* with antagonistic activity against *S. mutans*. They studied 64 strains and found two, K35 and K43, which significantly inhibited the formation of biofilm of *S. mutans*. Subsequent in vitro studies confirmed that they had strong bactericidal activity against *S. mutans*.⁹³

In 2015, Terai et al selected, from dental plaque and tongue of healthy individuals, bacteria of the genus *Lactobacillus* and *Streptococcus* which did not produce volatile sulfur compounds (VSCs) or water-insoluble glucans, with high antibacterial activity against caries and periodontitis-causing bacteria as well as high activity of adherence to oral epithelial cells and hydroxyapatite in vitro. The authors selected *L. crispatus* YIT 12319, *L. fermentum* YIT12320, *L. gasseri* YIT 12321

por cumplir con las características mencionadas anteriormente y por no tener riesgo cariogénico o producir endocarditis infecciosa.⁹⁴

Algunos de los estudios,^{91, 94} además de presentar los resultados relacionados con la valoración de las características como probióticos, evidencian las pruebas de seguridad que se les realizan a las bacterias seleccionadas. Estas pruebas (Figura 3) son necesarias para poder llegar a utilizar las bacterias sin ningún riesgo en humanos. Se inician en el laboratorio mediante estudios *in vitro*, y continúan en animales y ensayos clínicos en el hombre.

and *S. mitis* YIT 12322 for complying with the abovementioned characteristics, and for not having cariogenic risk or causing infective endocarditis.⁹⁴

In addition to presenting findings related to the evaluation for probiotic characteristics, some of the studies^{91, 94} show the safety tests that selected bacteria are subjected to. These tests (Figure 3) are necessary to use these bacteria without any risk for humans, they begin as *in vitro* studies in laboratories and continue in animals and clinical trials in humans.



Figura 3. Pruebas de seguridad para el uso de cepas probióticas

Fuente: elaboración propia basada en la literatura¹⁷

Figure 3. Safety tests for the use of probiotic strains

Source: by the author based on the literature¹⁷

CONCLUSIONES

El entendimiento de la caries como una disbiosis de la microbiota oral ha replanteado el desarrollo de estrategias para el control de esta enfermedad. Una de las estrategias de tipo biotecnológico es la utilización de probióticos, cuyo objetivo principal es el establecimiento de microorganismos benéficos para contribuir a la homeostasis de la cavidad oral. En salud oral, los resultados obtenidos en una gran diversidad de estudios con probióticos son prometedores, aunque son pocos los que presentan resultados claros. La comprensión de las características que deberían tener los probióticos para la cavidad oral permitirá seleccionar las cepas más idóneas para este fin. En este artículo se sustentaron algunas de las características más importantes, teniendo como prioridad la seguridad en su utilización y la ubicación en cavidad oral.

RECOMENDACIONES

Los probióticos podrían utilizarse como tratamiento preventivo para la caries; sin embargo, en algunos países como Colombia no existen productos desarrollados específicamente para el control de esta enfermedad. Esto invita a realizar estudios con bacterias que cumplan las características ideales para cavidad oral y demuestren si realmente son eficaces.

Estos estudios podrían partir del aislamiento e identificación de cepas bacterianas autóctonas que sean seguras, para generar una mayor disponibilidad de opciones y seleccionar la más apropiada para estudios clínicos. De encontrar una cepa con resultados claros, se generará el desarrollo de productos en el mercado y probablemente una medida de salud pública.

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.

CONCLUSIONS

Understanding caries as an oral microbiota dysbiosis has raised again the issue of the development of strategies for the control of this disease. One of the biotechnological strategies is the use of probiotics, with the main objective of establishing beneficial microorganisms to contribute to homeostasis in the oral cavity. In oral health, the findings in a variety of studies on probiotics are promising, although few include clear results. Understanding the characteristics that probiotics should have for the oral cavity will allow selecting the most suitable strains for this purpose. This article discussed some of the most important features, prioritizing safety in their use and location in the oral cavity.

RECOMMENDATIONS

Probiotics could be used as a preventive treatment for tooth decay; however, in some countries like Colombia no products have been developed specifically for the control of this disease. This creates an invitation to conduct studies on bacteria that satisfy the ideal characteristics for the oral cavity and prove being effective.

Such studies could start by isolating and identifying native bacterial strains that are safe, in order to create a greater availability of options and select the most appropriate for clinical studies. If a strain with clear results is found, new products will be available in the market and probably public health measures as well.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare not having any conflict of interest.

CORRESPONDENCIA

María del Pilar Angarita Díaz
 Universidad Cooperativa de Colombia, sede Villavicencio
 (+57) 300 898 3524
 maria.angaridad@campusucc.edu.co
 Carrera 35 No. 36-99 Barzal.
 Villavicencio, Colombia

CORRESPONDING AUTHOR

María del Pilar Angarita Díaz
 Universidad Cooperativa de Colombia, sede Villavicencio
 (+57) 300 898 3524
 maria.angaridad@campusucc.edu.co
 Carrera 35 No. 36-99 Barzal
 Villavicencio, Colombia

REFERENCIAS / REFERENCES

- World Health Organization. Oral health: priority action areas [Internet]. [Consultado el 20 de octubre de 2015] Disponible en: http://www.who.int/oral_health/action/information/surveillance/en/
- Petersen PE, Bourgeois D, Ogawa H, Estupinan-Day S, Ndiaye C. The global burden of oral diseases and risks to oral health. *Bull World Health Organ* 2005; 83(9): 661-669.
- Selwitz RH, Ismail AI, Pitts NB. Dental caries. *Lancet* 2007; 369(9555): 51-59.
- Olmos P, Piovesán S, Musto M, Lorenzo S, Álvarez R, Massa F. Caries dental. La enfermedad oral más prevalente. Primer estudio poblacional en jóvenes y adultos uruguayos del interior del país. *Odontostomatol* 2013; 15: 26-34.
- Casabe JH. Endocarditis infecciosa. Una enfermedad cambiante. *Medicina (B Aires)* 2008; 68(2): 164-174.
- Colombia. Ministerio de Salud. IV Estudio Nacional de Salud Bucal: ENSAB IV: situación en salud bucal: para saber cómo estamos y saber qué hacemos. [Internet]. Bogotá: Minsalud; 2014 [Consultado el 10 de noviembre de 2015]. Disponible en: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/PP/ENSAB-IV-Situacion-Bucal-Actual.pdf>
- Wongkamhaeng K, Poachanukoon O, Koontongkaew S. Dental caries, cariogenic microorganisms and salivary properties of allergic rhinitis children. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol* 2014; 78(5): 860-865.
- Castellanos JE, Marín LM, Úsuga MV, Castiblanco GA, Martingon S. La remineralización del esmalte bajo el entendimiento actual de la caries dental. *Univ Odontol* 2013; 32(69): 49-59.
- Kutsch VK. Dental caries: an updated medical model of risk assessment. *J Prosthet Dent* 2014; 111(4): 280-285.
- Simón-Soro A, Mira A. Solving the etiology of dental caries. *Trends Microbiol* 2015; 23(2): 76-82.
- Rojas S, Echeverría S. Caries temprana de infancia: ¿enfermedad infecciosa? *Rev Med Clin Condes* 2014; 25(3): 581-587.
- Gross EL, Leys EJ, Gasparovich SR, Firestone ND, Schwartzbaum JA, Janies DA et al. Bacterial 16S sequence analysis of severe caries in young permanent teeth. *J Clin Microbiol* 2010; 48(11): 4121-4128.
- Tanner AC, Kent RL Jr, Holgerson PL, Hughes CV, Loo CY, Kanasi E et al. Microbiota of severe early childhood caries before and after therapy. *J Dent Res* 2011; 90(11): 1298-1305.
- Burne RA, Zeng L, Ahn SJ, Palmer SR, Liu Y, Lefebure T et al. Progress dissecting the oral microbiome in caries and health. *Adv Dent Res* 2012; 24(2): 77-80.
- Laleman I, Detailleur V, Slot DE, Slomka V, Quirynen M, Teughels W. Probiotics reduce mutans streptococci counts in humans: a systematic review and meta-analysis. *Clin Oral Investig* 2014; 18(6): 1539-1552.
- Cagetti MG, Mastroberardino S, Milia E, Cocco F, Lingström P, Campus G. The use of probiotic strains in caries prevention: a systematic review. *Nutrients* 2013; 5(7): 2530-2550.
- Joint FAO/WHO. Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food [Internet]. London: FAO/WHO; 2002.
- Wade WG. Has the use of molecular methods for the characterization of the human oral microbiome changed our understanding of the role of bacteria in the pathogenesis

- of periodontal disease? *J Clin Periodontol* 2011; 38(Suppl 11): 7-16.
19. Dewhirst FE, Chen T, Izard J, Paster BJ, Tanner ACR, Yu WH et al. The human oral microbiome. *J Bacteriol* 2010; 192(19): 5002-5017.
 20. Lazarevic V, Whiteson K, Hernandez D, François P, Schrenzel J. Study of inter- and intra-individual variations in the salivary microbiota. *BMC Genom* 2010; 11: 523. DOI: <https://dx.doi.org/10.1186/1471-2164-11-523>
 21. Ten-Cate JM. Biofilms, a new approach to the microbiology of dental plaque. *Odontology* 2006; 94(1): 1-9.
 22. Mark Welch J, Rossetti B, Rieken C, Dewhirst F, Borisy G. Biogeography of a human oral microbiome at the micron scale. *PNAS* 2016; 113(6): 791-800. DOI: <https://dx.doi.org/10.1073/pnas.1522149113>
 23. Rouabhia M. Interactions between host and oral commensal microorganisms are key events in health and disease status. *Can J Infect Dis* 2002; 13(1): 47-51.
 24. Bowden GHW. The microbial ecology of dental caries. *Microb Ecol Health Dis* 2000; 12(3): 138-148.
 25. Marsh PD. Microbiology of dental plaque biofilms and their role in oral health and caries. *Dent Clin North Am* 2010; 54(3): 441-454.
 26. Zarco MF, Vess TJ, Ginsburg GS. The oral microbiome in health and disease and the potential impact on personalized dental medicine. *Oral Dis* 2012; 18(2): 109-120.
 27. Scannapieco FA. The oral microbiome: Its role in health and in oral and systemic infections. *Clin Microbiol Newsl* 2013; 35(20): 163-169.
 28. Duran-Pinedo AE, Frias-Lopez J. Beyond microbial community composition: functional activities of the oral microbiome in health and disease. *Microbes Infect* 2015; 17(7): 505-516.
 29. Belstrøm D, Fiehn NE, Nielsen CH, Holmstrup P, Kirkby N, Klepac-Ceraj V et al. Altered bacterial profiles in saliva from adults with caries lesions: a case-cohort study. *Caries Res* 2014; 48(5): 368-375.
 30. Vieira-Colombo AP, Magalhães CB, Hartenbach FA, Martins-do-Souto R, Maciêlda-Silva-Boghossian C. Periodontal-disease-associated biofilm: A reservoir for pathogens of medical importance. *Microb Pathog* 2016; 94: 27-34.
 31. Chocolatewala N, Chaturvedi P, Desale R. The role of bacteria in oral cancer. *Indian J Med Paediatr Oncol* 2010; 31(4): 126-131.
 32. Whitmore SE, Lamont RJ. Oral bacteria and cancer. *PLoS Pathog* 2014; 10(3): e1003933. DOI: [dx.doi.org/10.1371/journal.ppat.1003933](https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1003933)
 33. Zaura E, Keijsers BJ, Huse SM, Crielaard W. Defining the healthy “core microbiome” of oral microbial communities. *BMC Microbiol* 2009; 9(259): 1-12. DOI: <https://dx.doi.org/10.1186/1471-2180-9-259>
 34. Kianoush N, Adler CJ, Nguyen KA, Browne GV, Simonian M, Hunter N. Bacterial profile of dentine caries and the impact of pH on bacterial population diversity. *PLoS One* 2014; 9(3): e92940. DOI: <https://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0092940>
 35. Corby PM, Lyons-Weiler J, Bretz WA, Hart TC, Aas JA et al. Microbial Risk Indicators of Early Childhood Caries. *J Clin Microbiol* 2005; 43(11): 5753-5759.
 36. Tanzer JM, Livingston J, Thompson AM. The microbiology of primary dental caries in humans. *J Dent Educ* 2001; 65(10): 1028-1037.
 37. Badet C, Thebaud NB. Ecology of lactobacilli in the oral cavity: a review of literature. *Open Microbiol J* 2008; 2: 38-48.
 38. Chen T, Yu W-H, Izard J, Baranova OV, Lakshmanan A, Dewhirst FE. The Human Oral Microbiome Database: a web accessible resource for investigating oral microbe taxonomic and genomic information. *Database* 2010; Article ID baq013, DOI: <http://dx.doi.org/10.1093/database/baq013>
 39. Griffen AL, Beall CJ, Firestone ND, Gross EL, Difrancia JM, Hardman JH et al. CORE: A Phylogenetically-Curated 16S rDNA Database of the Core Oral Microbiome. *PLoS One* 2011; 6(4): e19051. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0019051>.
 40. Iniesta M, Zurbriggen M, Montero E, Herrera D. Los probióticos y sus beneficios terapéuticos. *Periodoncia y Osteointegración* 2011; 21(3): 171-179.
 41. Organización Mundial de Gastroenterología. Guía práctica de la Organización Mundial de Gastroenterología: Probióticos y prebióticos [Internet]. Milwaukee: WGO; 2011 [Consultado el 24 de octubre de 2015]. Disponible en: <http://www.worldgastroenterology.org/UserFiles/file/guidelines/probiotics-spanish-2011.pdf>

42. Singh VP, Sharma J, Babu S, Rizwanulla, Singla A. Role of probiotics in health and disease: a review. *J Pak Med Assoc* 2013; 63(2): 253-57.
43. Cáceres RP, Gotteland RM. Alimentos probióticos en Chile: ¿Qué cepas y qué propiedades saludables? *Rev Chil Nutr* 2010; 37(1): 97-109.
44. Näse L, Hatakka K, Savilahti E, Saxelin M, Pönkä A, Poussa T et al. Effect of long-term consumption of a probiotic bacterium, *Lactobacillus rhamnosus* GG, in milk on dental caries and risk in children. *Caries Res* 2001; 35(6): 412-420.
45. Petersson LG, Magnusson K, Hakestam U, Baigi A, Twetman S. Reversal of primary root caries lesions after daily intake of milk supplemented with fluoride and probiotic lactobacilli in older adults. *Acta Odontol Scand* 2011; 69(6): 321-327.
46. Vistoso-Monreal AP. Efecto del consumo de leche enriquecida con probióticos lactobacilos, en la incidencia de lesiones de caries en niños preescolares [Trabajo de grado Cirujano-Dentista]. Santiago de Chile: Universidad de Chile; 2013 [Consultado el 2 de noviembre de 2015]. Disponible en: <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/130016>
47. Hedayati-Hajikand T, Lundberg U, Eldh C, Twetman S. Effect of probiotic chewing tablets on early childhood caries - a randomized controlled trial. *BMC Oral Health* 2015; 15(1): 112.
48. BreathMD. Oral probiotics [Internet]. BreathMD; 2015 [Consultado el 2 de octubre de 2015]. Disponible en: <http://www.breathmd.com/oral-probiotics.php>.
49. Agrawal V, Kapoor S, Shah N. Role of "Live Microorganisms" (Probiotics) in Prevention of Caries: Going on the Natural Way Towards Oral Health. *Indian J Multidiscip Dent* 2012; 2(3): 491-496.
50. Haukioja A. Probiotics and oral health. *Eur J Dent* 2010; 4(3): 348-355.
51. Burton JP, Drummond BK, Chilcott CN, Tagg JR, Thomson WM, Hale JD et al. Influence of the probiotic *Streptococcus salivarius* strain M18 on indices of dental health in children: A randomized double-blind, placebo-controlled trial. *J Med Microbiol* 2013; 62(Part 6): 875-884.
52. Toiviainen A, Jalasvuori H, Lahti E, Gursoy U, Salminen S, Fontana M et al. Impact of orally administered lozenges with *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12 on the number of salivary mutans streptococci, amount of plaque, gingival inflammation and the oral microbiome in healthy adults. *Clin Oral Investig* 2015; 19(1): 77-83.
53. Ahola AJ, Yli-Knuutila H, Suomalainen T, Poussa T, Ahlström 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.
54. 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): 53-56.
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): 219-223.
56. Caglar 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): 317-320.
57. Caglar 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; 65(5): 314-318.
58. Caglar E, Kavaloglu SC, Kuscü OO, Sandalli N, Holgerson PL, Twetman S. Effect of chewing gums containing xylitol or probiotic bacteria on salivary mutans streptococci and lactobacilli. *Clin Oral Investig* 2007; 11(4): 425-429.
59. Caglar 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): 35-39.
60. Caglar E, Kuscü 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): 154-158.
61. Stecksén-Blicks C, Sjöström I, Twetman S. Effect of long-term consumption of milk supplemented with probiotic lactobacilli and fluoride on dental caries and general health in preschool children: a cluster-randomized study. *Caries Res* 2009; 43(5): 374-381.
62. Cogulu D, Topaloglu-Ak A, Caglar E, Sandalli N, Karagozlu C, Ersin N et al. Potential effects of a multistrain probiotic-kefir on salivary *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* spp. *J Dent Sci* 2010; 5(3): 144-149.

63. Lexner MO, Blomqvist S, Dahlen G, Twetman S. Microbiological profiles in saliva and supragingival plaque from caries-active adolescents before and after a short-term daily intake of milk supplemented with probiotic bacteria - a pilot study. *Oral Heal Prev Dent* 2010; 8(4): 383-388.
64. Aminabadi NA, Erfanparast L, Ebrahimi A, Oskouei SG. Effect of chlorhexidine pretreatment on the stability of salivary lactobacilli probiotic in six- to twelve-year-old children: a randomized controlled trial. *Caries Res* 2011; 45(2): 148-154.
65. Jindal G, Pandey RK, Agarwal J, Singh M. A comparative evaluation of probiotics on salivary mutans streptococci counts in Indian children. *Eur Arch Paediatr Dent* 2011; 12(4): 211-215.
66. Mortazavi S, Akhlaghi N. Salivary Streptococcus mutans and Lactobacilli levels following probiotic cheese consumption in adults: a double blind randomized clinical trial. *J Res Med Sci* 2012; 17(1): 57-66.
67. Taipale T, Pienihäkkinen K, Salminen S, Jokela J, Söderling E. Bifidobacterium animalis subsp. lactis BB-12 administration in early childhood: a randomized clinical trial of effects on oral colonization by mutans streptococci and the probiotic. *Caries Res* 2012; 46(1): 69-77.
68. Campus G, Cocco F, Carta G, Cagetti MG, Simark-Mattson C, Strohenger L et al. Effect of a daily dose of Lactobacillus brevis CD2 lozenges in high caries risk schoolchildren. *Clin Oral Investig* 2014; 18(2): 555-561.
69. Hasslöf P, West CE, Videhult FK, Brandelius C, Stecksén-Blicks C. Early intervention with probiotic Lactobacillus paracasei F19 has no long-term effect on caries experience. *Caries Res* 2013; 47(6): 559-565.
70. Nishihara T, Suzuki N, Yoneda M, Hirofuji T. Effects of Lactobacillus salivarius-containing tablets on caries risk factors: a randomized open-label clinical trial. *BMC Oral Health* 2014; 14(1): 110.
71. Hedayati-Hajikand T, Lundberg U, Eldh C, Twetman S. Effect of probiotic chewing tablets on early childhood caries - a randomized controlled trial. *BMC Oral Health* 2015; 15(1): 112.
72. Colloca ME, Ahumada MC, López ME, Nader-Macías ME. Surface properties of lactobacilli isolated from healthy subjects. *Oral Dis* 2000; 6(4): 227-233.
73. Yli-Knuutila H, Snäll J, Kari K, Meurman JH. Colonization of Lactobacillus rhamnosus GG in the oral cavity. *Oral Microbiol Immunol* 2006; 21(2): 129-131.
74. Busscher HJ, Mulder AF, van der Mei HC. In vitro adhesion to enamel and in vivo colonization of tooth surfaces by Lactobacilli from a bio-yoghurt. *Caries Res* 1999; 33(5): 403-404.
75. Matee MI, Mikx FH, Maselle SY, Van Palenstein Helderman WH. Mutans streptococci and lactobacilli in breast-fed children with rampant caries. *Caries Res* 1992; 26(3): 183-187.
76. Gorbach SL, Goldin BR, inventors; New England Medical Center Inc, assignee. Lactobacillus strains and methods of selection. United States patent US 4839281(A). 1989 Jun 13.
77. Doron S, Snyderman DR, Gorbach SL. Lactobacillus GG: bacteriology and clinical applications. *Gastroenterol Clin North Am* 2005; 34(3): 483-498.
78. Köll P, Mändar R, Marcotte H, Leibur E, Mikelsaar M, Hammarström L. Characterization of oral lactobacilli as potential probiotics for oral health. *Oral Microbiol Immunol* 2008; 23(2): 139-147.
79. Pham LC, Hoogenkamp MA, Exterkate RA, Terefework Z, de Soet JJ, ten Cate JM et al. Effects of Lactobacillus rhamnosus GG on saliva-derived microcosms. *Arch Oral Biol* 2011; 56(2): 136-147.
80. Baca-Castañón ML, De la Garza-Ramos MA, Alcázar-Pizaña AG, Grondin Y, Coronado-Mendoza A, Sánchez-Najera RI et al. Antimicrobial effect of Lactobacillus reuteri on cariogenic bacteria Streptococcus gordonii, Streptococcus mutans, and periodontal diseases Actinomyces naeslundii and Tannerella forsythia. *Probiotics Antimicrob Proteins* 2015; 7(1): 1-8.
81. Jalasvuori H, Haukioja A, Tenovuo J. Probiotic Lactobacillus reuteri strains ATCC PTA 5289 and ATCC 55730 differ in their cariogenic properties in vitro. *Arch Oral Biol* 2012; 57(12): 1633-1638.
82. Madhwani T, McBain AJ. Bacteriological effects of a Lactobacillus reuteri probiotic on in vitro oral biofilms. *Arch Oral Biol* 2011; 56(11): 1264-1273.
83. Burton JP, Chilcott CN, Moore CJ, Speiser G, Tagg JR. A preliminary study of the effect of probiotic Streptococcus salivarius K12 on oral malodour parameters. *J Appl Microbiol* 2006; 100(4): 754-764.
84. Huang SC, Burne RA, Chen YY. The pH-dependent expression of the urease operon in Streptococcus salivarius is mediated by CodY. *Appl Environ Microbiol* 2014; 80(17): 5386-5393.

85. Tong H, Gao X, Dong X. *Streptococcus oligofermentans* sp. nov., a novel oral isolate from caries-free humans. *Int J Syst Evol Microbiol* 2003; 53(Pt 4): 1101-1104.
86. Tong H, Chen W, Merritt J, Qi F, Shi W, Dong X. *Streptococcus oligofermentans* inhibits *Streptococcus mutans* through conversion of lactic acid into inhibitory H₂O₂; a possible counteroffensive strategy for interspecies competition. *Mol Microbiol* 2007; 63(3): 872-880.
87. Caufield PW, Dasanayake AP, Li Y, Pan Y, Hsu J, Hardin JM. Natural history of *Streptococcus sanguinis* in the oral cavity of infants: evidence for a discrete window of infectivity. *Infect Immun* 2000; 68(7): 4018-4023.
88. Kreth J, Zhang Y, Herzberg MC. Streptococcal antagonism in oral biofilms: *Streptococcus sanguinis* and *Streptococcus gordonii* interference with *Streptococcus mutans*. *J Bacteriol* 2008; 190(13): 4632-4640.
89. Kreth J, Merritt J, Shi W, Qi F. Competition and coexistence between *Streptococcus mutans* and *Streptococcus sanguinis* in the dental biofilm. *J Bacteriol* 2005; 187(21): 7193-7203.
90. Strahinic I, Busarcevic M, Pavlica D, Milasin J, Golic N, Topisirovic L. Molecular and biochemical characterizations of human oral lactobacilli as putative probiotic candidates. *Oral Microbiol Immunol* 2007; 22(2): 111-117.
91. Bosch M, Nart J, Audivert S, Bonachera MA, Alemany AS, Fuentes MC et al. Isolation and characterization of probiotic strains for improving oral health. *Arch Oral Biol* 2012; 57(5): 539-549.
92. Camelo-Castillo A, Benítez-Páez A, Belda-Ferre P, Cabrera-Rubio R, Mira A. *Streptococcus dentisani* sp. nov., a novel member of the mitis group. *Int J Syst Evol Microbiol* 2014; 64(Pt 1): 60-65.
93. Wu CC, Lin CT, Wu CY, Peng WS, Lee MJ, Tsai YC. Inhibitory effect of *Lactobacillus salivarius* on *Streptococcus mutans* biofilm formation. *Mol Oral Microbiol* 2015; 30(1): 16-26.
94. Terai T, Okumura T, Imai S, Nakao M, Yamaji K, Ito M et al. Screening of probiotic candidates in human oral bacteria for the prevention of dental disease. *PLoS One* 2015; 10(6): e0128657. DOI: <https://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0128657>
95. Busarcevic M, Dalgarrondo M. Purification and genetic characterisation of the novel bacteriocin LS2 produced by the human oral strain *Lactobacillus salivarius* BGHO1. *Int J Antimicrob Agents* 2012; 40(2): 127-134.
96. Sanders ME, Akkermans LM, Haller D, Hammerman C, Heimbach J, Hörmannspurger G et al. Safety assessment of probiotics for human use. *Gut Microbes* 2010; 1(3): 164-185.
97. Burton JP, Wescombe PA, Moore CJ, Chilcott CN, Tagg JR. Safety assessment of the oral cavity probiotic *Streptococcus salivarius* K12. *Appl Environ Microbiol* 2006; 72(4): 3050-3053.
98. Senok AC, Ismaeel AY, Botta GA. Probiotics: facts and myths. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11(12): 958-966.
99. Petti S, Tarsitani G, D'Arca AS. A randomized clinical trial of the effect of yoghurt on the human salivary microflora. *Arch Oral Biol* 2001; 46(8): 705-712.
100. Kilian M, Frandsen EV, Haubek D, Poulsen K. The etiology of periodontal disease revisited by population genetic analysis. *Periodontol* 2000 2006; 42(1): 158-179.
101. Devine DA, Marsh PD. Prospects for the development of probiotics and prebiotics for oral applications. *J Oral Microbiol* [Internet] 2009; 1. Disponible en: <http://www.journaloforalmicrobiology.net/index.php/jom/article/view/1949>
102. Samot J, Badet C. Antibacterial activity of probiotic candidates for oral health. *Anaerobe* 2013; 19(1): 34-38.
103. Stamatova I, Meurman JH. Probiotics: Health benefits in the mouth. *Am J Dent* 2009; 22(6): 329-338.
104. Suárez JE. Microbiota autóctona, probióticos y prebióticos. *Nutr Hosp* 2013; 28 (1): 38-41.
105. Makinen K, Berger B, Bel-Rhliid R, Ananta E. Science and technology for the mastership of probiotic applications in food products. *J Biotechnol* 2012; 162(4): 356-365.