

**UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA**  
**FACULTAD DE ODONTOLOGÍA**



**“EFECTO INHIBITORIO INVITRO DE PAPILLA PARA BEBES ENRIQUECIDA CON CEPAS PROBIOTICAS: *Bacillus clausii*, *Lactobacillus reuteri*, *Saccharomyces cerevisiae*, SOBRE EL CRECIMIENTO DEL *Staphylococcus aureus*, EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE LA UCSM, AREQUIPA 2016”.**

Tesis presentada por el Bachiller:

**ROBINSON ALEX VILCAHUAMAN PALOMINO**

Para optar el Título Profesional de  
**CIRUJANO DENTISTA**

**AREQUIPA-PERÚ**

**2016**

A Dios, a mi familia quienes siempre me apoyan en mis decisiones y nunca me han abandonado y me han aconsejado en cada tropiezo.



*“Para tener éxito, la planificación sola es insuficiente. Uno debe improvisar también”*

**Isaac Asimov**



## ÍNDICE

|  |    |
|--|----|
| RESUMEN .....  | 6  |
| ABSTRACT .....   | 7  |
| INTRODUCCIÓN.....  | 8  |
| CAPÍTULO I.....  | 10 |
| PLANTEAMIENTO TEÓRICO.....   | 10 |
| I. PLANTEAMIENTO TEÓRICO.....  | 11 |
| 1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN .....                                   | 11 |
| Determinación del problema .....                                     | 11 |
| <b>1.2. Enunciado</b> .....  | 12 |
| <b>1.3. Descripción del problema</b> .....                           | 12 |
| 1.3.1. Área de conocimiento.....                                     | 12 |
| 1.3.2. Análisis y operacionalización de Variables: .....             | 12 |
| 1.3.3. Interrogantes básicas .....                                   | 13 |
| 1.3.4. Taxonomía de la investigación .....                           | 13 |
| <b>1.4. Justificación</b> .....                                      | 14 |
| 2. OBJETIVOS.....  | 15 |
| 3. MARCO TEÓRICO .....   | 16 |
| Conceptos Básicos.....   | 16 |
| 3.1.1. Generalidades de las papillas para bebés .....                | 16 |
| 3.1.2. Historia y definición de Probióticos.....                     | 17 |
| 3.1.3. Características de los microorganismos probióticos.....       | 20 |
| <b>3.1.4. Mecanismos de acción de los probióticos</b> .....          | 22 |
| <b>3.1.4.1. Mejora de la Barrera Epitelial</b> .....                 | 22 |
| <b>3.1.5. Bacterias ácido lácticas</b> .....                         | 32 |
| <b>3.1.6. Características del <i>Bacillus clausii</i></b> .....      | 34 |
| <b>3.1.7. Características del <i>Lactobacillus reuteri</i></b> ..... | 35 |
| <b>3.1.8. Características <i>Saccharomyces cerevisiae</i></b> .....  | 37 |
| <b>3.1.9. Probióticos</b> .....                                      | 39 |
| <b>3.1.10. <i>Staphylococcus aureus</i></b> .....                    | 44 |
| <b>3.1.10.1. Microbiología y patogenia</b> .....                     | 44 |
| <b>3.1.10.2. Mecanismos de resistencia y epidemiología</b> .....     | 45 |
| <b>3.1.10.3. Tratamiento de las infecciones producidas</b> .....     | 46 |
| Revisión de antecedentes investigativos.....                         | 48 |
| 4. HIPÓTESIS.....  | 52 |

|   |    |
|---|----|
| CAPITULO II .....   | 53 |
| PLANTEAMIENTO OPERACIONAL .....                             | 53 |
| II. PLANTEAMIENTO OPERACIONAL .....                         | 54 |
| 5. Técnicas, instrumentos y materiales de verificación..... | 54 |
| Técnica:.....   | 54 |
| a.1) Precisión del instrumento .....                        | 58 |
| 5.1.1. Instrumentos mecánicos .....                         | 59 |
| 5.1.2. Materiales o insumos .....                           | 60 |
| • Agar sangre.....  | 60 |
| • Caldo de tioglicolato.....                                | 60 |
| • Agar LB.....  | 60 |
| • Caldo nutritivo.....                                      | 60 |
| 3. ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN DE DATOS .....                 | 62 |
| 4. ESTRATEGIA PARA MANEJO DE DATOS .....                    | 63 |
| CAPITULO III .....  | 65 |
| RESULTADOS .....  | 65 |
| III. RESULTADOS .....                                       | 66 |
| DISCUSIÓN .....   | 79 |
| <b>CONCLUSION</b> .....                                     | 81 |
| <b>RECOMENDACIONES</b> .....                                | 82 |
| BIBLIOGRAFIA.....   | 83 |
| HEMEROGRAFIA.....   | 84 |
| ANEXOS .....  | 86 |
| ANEXO N° 1 .....  | 87 |
| MODELO DE FICHA LABORATORIAL .....                          | 87 |
| ANEXO N°2.....  | 89 |
| MATRIZ DE SISTEMATIZACIÓN DE DATOS .....                    | 89 |
| ANEXO N° 3 .....  | 91 |
| SECUENCIA FOTOGRÁFICAS.....                                 | 91 |

## RESUMEN

Esta investigación tiene como objetivo primordial evaluar el efecto inhibitorio de los probióticos *Bacillus clausii*, *Lactobacillus reuteri*, *Saccharomyces cerevisiae*, utilizando como vehículo la papilla para bebés, sobre el crecimiento del *Staphylococcus aureus*. El cual es una de las bacterias causantes de la periimplantitis y otras patologías que llevan a fracaso el tratamiento de implantes.

El estudio fue de corte experimental, prospectivo, transversal, comparativo, de laboratorio, se diseñaron 3 grupos, uno por cada probiótico, con 10 repeticiones cada uno.

Para este trabajo se utilizaron cepas certificadas ATCC 12600 de *Staphylococcus aureus*, la que fue activada e inoculada en agar sangre sobre el cual se utilizaron discos de inhibición que contenían a los probióticos. Se incubaron a 37°C en la estufa de anaerobiosis a un 6% de CO<sub>2</sub> durante 24 horas

Pasado el tiempo establecido se procedió a la lectura de los halos de inhibición.

Los resultados fueron: para el crecimiento del *L. reuteri* 15.8mm, *S. cerevisiae* 13mm y *B. clausii* 11.2mm

Por lo tanto, se evidenció la efectividad inhibitoria de estos probióticos en el crecimiento del *Staphylococcus aureus*, en donde la papilla inoculada con *L. reuteri* presentó la mayor actividad inhibitoria.

**Palabras Clave:** probióticos, periimplantitis, *S. cerevisiae*, *B. clausii*, *L. reuteri*

## ABSTRACT

The objective of this research was to evaluate the inhibitory effect of probiotics *Bacillus clausii*, *Lactobacillus reuteri*, *Saccharomyces cerevisiae*, using the baby porridge on the growth of *Staphylococcus aureus*. Which is one of the bacteria that cause peri-implantitis and other pathologies that lead to failure of treatment with implants?

The study was experimental, prospective, transversal, comparative, laboratory, three groups were designed, one for each probiotic, with 10 replicates each.

For this work, certified strains ATCC 12600 of *Staphylococcus aureus* were used, which was activated and inoculated in blood agar on which probiotic inhibitor plates were used. Incubated at 37 ° C in the anaerobic oven at 6% CO<sub>2</sub> for 24 hours

After the established time, we proceeded to read the inhibition halos.

The results were: for the growth of *L. reuteri* 15.8mm, *S. cerevisiae* 13mm and *B clausii* 11.2mm

Therefore, the inhibitory effectiveness of these probiotics in the growth of *Staphylococcus aureus* was evidenced, where the pulp inoculated with *L. reuteri* had the highest inhibitory activity..

**Key words:** probiotics, periimplantitis, *S. sereviseae*, *B. clausii*, *L. reuteri*

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades de la cavidad oral se desarrollan en un medio con una microbiota diversa, en este medio no todas las comunidades microbianas son patógenas, algunas llegan a una homeostasis con el huésped. El cambio del medio ya sea por temperatura, pH o alguna enfermedad puede producir que los patógenos potenciales proliferen, es ahí donde las enfermedades de origen microbiano se manifiestan.

Una de estas enfermedades, la periimplantitis, es causada por *Staphylococcus aureus*, el cual afecta tanto a los implantes como a los tejidos periodontales lo que puede ocasionar pérdida ósea si no se identifica y trata precozmente.<sup>1</sup>

Los probióticos son bacterias benéficas (algunas veces descritas como "gérmenes amistosos") que ayudan al mantenimiento de la salud del tracto intestinal y a la digestión. También ayudan a mantener bajo control a organismos potencialmente dañinos en los intestinos (bacterias dañinas y levaduras). La mayoría de los probióticos provienen de fuentes alimenticias, especialmente los productos lácteos cultivados. Los probióticos se consumen en cápsulas, tabletas, bebidas, polvos, yogurt y otros alimentos.

*S. aureus* ha sido reconocida como una de las más importantes de las bacterias que causan enfermedades en los seres humanos. Es la causa principal de la piel e infecciones de tejidos blandos, tales como abscesos y la celulitis. Aunque la mayoría de las infecciones por estafilococos no son graves, *S. aureus* puede causar infecciones graves, tales como infecciones del torrente sanguíneo, la neumonía, o de los huesos y de las articulaciones de las infecciones. Es por ello importante buscar nuevas formas de prevenirlo y/o combatir al *S. aureus* por lo que se propone el uso de probióticos.

---

<sup>1</sup> Sánchez J.T. Periimplantitis: protocolo clínico y terapéutico. Cient Dent 2008.

<sup>2</sup> Magnusson, Lindhe, Yoneyama. *Periodontología Clínica e Implantológica*. 530,

Para su mejor entendimiento y organización, esta tesis consta de tres capítulos. En el primer capítulo se desarrolla el planteamiento teórico, que consta del problema objetivos, marco teórico y la hipótesis.

En el capítulo segundo se desarrolla el planteamiento operacional y recolección donde las técnicas, instrumentos uy materiales de verificación, estrategias de recolección y manejo de los datos obtenidos. El tercer y último capítulos se muestran los resultados de la investigación atreves de las tablas y gráficos estadísticos.

Finalmente se presenta la bibliografía, hemerografía y los anexos correspondientes





# **CAPÍTULO I**

## **PLANTEAMIENTO TEÓRICO**

## I. PLANTEAMIENTO TEÓRICO

### 1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

Determinación del problema

La emergente tendencia del uso de implantes dentales repercute en cada vez más casos, el rechazo o fallo es producto de infecciones como la periimplantitis; por lo tanto, se considera de interés el desarrollo de modalidades alternativas de prevención.

Las terapias post infección se basa en la supresión de focos infecciones subgingivales a través de técnicas periodonticas como el desbridamiento mecánico del cálculo y biofilm bacteriano.

Además de los tratamientos mecánicos se complementa con terapias antimicrobianas sean orales o sistémicos en casos avanzados, cuyo objetivo es reducir la posibilidad de un nuevo foco infeccioso de origen bacteriano.

Sin embargo, para el tratamiento hay que tener en cuenta que la recolonización de la flora bacteriana ocurre durante las primeras semanas, y el restablecimiento de una microbiota todavía más patógena ocurrirá en unos meses, debido a que el uso de antimicrobianos y antisépticos mejora los resultados del tratamiento temporalmente; por lo que se debe considerar nuevas aproximaciones para poder tratar la enfermedad.<sup>2</sup>

Es por eso que para reducir el uso de antibióticos y para promover la recolonización de bacterias, el uso de probióticos es una buena opción, ya que ha sido probado en la prevención de diferentes enfermedades, es

---

<sup>2</sup> Magnusson, Lindhe, Yoneyama. *Periodontologia Clinica e Implantologica*. 530, 532.

decir, la utilización de probióticos para realizar una terapia de interferencia microbiana.

## 1.2. Enunciado

EFFECTO INHIBITORIO INVITRO DE PAPILLA PARA BEBES ENRIQUECIDA CON CEPAS PROBIOTICAS: *Bacillus clausii*, *Lactobacillus reuteri*, *Saccharomyces cerevisiae*, SOBRE EL CRECIMIENTO DEL *Staphylococcus aureus*, EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DE LA UCSM, AREQUIPA 2016

## 1.3. Descripción del problema

### 1.3.1. Área de conocimiento

- A. **Área general** : Ciencias De La Salud
- B. **Área específica** : Odontología
- C. **Especialidad** : Periodoncia
- D. **Tópico** : Patología periodontal

### 1.3.2. Análisis y operacionalización de Variables:

| VARIABLE |   | INDICADORES                     | SUB INDICADORES |
|----------|---|---------------------------------|-----------------|
| VE1      | <i>B. clausii</i>                                     |                                 |                 |
| VE2      | <i>L. reuteri</i>                                     |                                 |                 |
| VE3      | <i>S. cerevisiae</i>                                  |                                 |                 |
| VR       | Crecimiento in vitro del <i>Staphylococcus aureus</i> | Diámetro del halo de inhibición | Medida en mm.   |

### 1.3.3. Interrogantes básicas

- ¿Cuál será el efecto inhibitorio de papilla para bebés enriquecida con *Bacillus clausii*, sobre el crecimiento del *Staphylococcus aureus*?
- ¿Cuál será el efecto inhibitorio de papilla para bebés enriquecida con *Lactobacillus reuteri*, sobre el crecimiento del *Staphylococcus aureus*?
- ¿Cuál será el efecto inhibitorio de papilla para bebés enriquecida con *Saccharomyces cerevisiae*, sobre el crecimiento del *Staphylococcus aureus*?
- ¿Cuál probiótico posee mayor efecto inhibitorio sobre el crecimiento del *Staphylococcus aureus*?

| ABORDAJE     | TIPO DE ESTUDIO               |                     |  |                                     |                              | DISEÑO             | NIVEL       |
|--------------|-------------------------------|---------------------|--|-------------------------------------|------------------------------|--------------------|-------------|
|              | Por la técnica de recolección | Por el tipo de dato | Por el nº de mediciones de la variable | Por el nº de muestras o poblaciones | Por el ámbito de recolección |                    |             |
| Cuantitativo | Experimental                  | Prospectivo         | Transversal                            | Comparativo                         | Laboratorio                  | Cuasi Experimental | Explicativa |

### 1.3.4. Taxonomía de la investigación

## 1.4. Justificación

### a. Relevancia científica

La presente investigación será de mucha ayuda en el aporte de conocimientos sobre salud bucal específicamente en el campo de la implantología oral, ya que el rechazo a implantes dentales, si bien no es algo muy común éste debe ser minimizado; por lo que al identificar un posible tratamiento específico sería de mucha utilidad.

### b. Relevancia contemporánea

Los datos tomados y resueltos en esta investigación, pertenecen a la coyuntura actual ya que cada vez más los implantes dentales son una solución para las personas con ausencia de piezas dentales.

### c. Relevancia social

El presente estudio contribuirá a que la comunidad odontológica pueda tomar las precauciones específicamente contra esta bacteria, ya que podría provocar un fracaso en el procedimiento lo que implica un problema tanto para el odontólogo como para el paciente.

### d. Originalidad

Dicho trabajo de investigación posee una originalidad específica debido a que no se tiene un registro de datos respecto a estos probióticos específicos contra esta bacteria, ya que los trabajos previos fueron de consorcios de probióticos.

#### e. Viabilidad

La investigación es viable por existir disponibilidad de unidades de estudio, recursos, bibliografía, tiempo para la investigación y conocimientos metodológicos.

#### f. Interés personal

La elaboración de esta investigación tiene un interés personal para obtener el título de cirujano dentista.

## 2. OBJETIVOS

2.1. Determinar el efecto inhibitorio de papilla para bebes enriquecida con *Bacillus clausii*, sobre el crecimiento del *Staphylococcus aureus*, en los laboratorios de la UCSM, Arequipa 2016.

2.2. Determinar el efecto inhibitorio de papilla para bebes enriquecida con *Lactobacillus reuteri*, sobre el crecimiento del *Staphylococcus aureus*, en los laboratorios de la UCSM, Arequipa 2016.

2.3. Determinar el efecto inhibitorio de papilla para bebes enriquecida con *Saccharomyces cerevisiae*, sobre el crecimiento del *Staphylococcus aureus*, en los laboratorios de la UCSM, Arequipa 2016.

2.4. Determinar que probiótico posee mayor efecto inhibitorio sobre el crecimiento del *Staphylococcus aureus*, en los laboratorios de la UCSM, Arequipa 2016.

### 3. MARCO TEÓRICO

#### Conceptos Básicos

##### 3.1.1. Generalidades de las papillas para bebés

Son preparaciones realizadas con varios alimentos mezclados, macerados o licuados con consistencia de una pasta más o menos espesa que se utiliza para alimentar a los niños en las primeras etapas de alimentación (mayor de 6 meses), debido a que ellos no presentan las piezas dentarias para moler o triturar los alimentos sólidos. Las papillas nutritivas con alta concentración de energía y nutrientes han sido utilizadas para mejorar los problemas de desnutrición de niños menores de 2 años.

Cuando estos alimentos se juntan forman una comida completa; además, la leche materna forma parte de la alimentación siendo el eje principal.<sup>3</sup>

La alimentación complementaria debe ser en forma de papillas o alimentos semisólidos que no calmen la sed del niño, y, por lo tanto, no modifiquen la demanda del lactante por la leche materna ni la actitud de la madre hacia la lactancia.

Estudios clínicos y de campo han mostrado que aun los niños de cuatro meses de edad toleran estas preparaciones sin ninguna molestia aparente, y que las madres aceptan usarlas cuando les expliquen adecuadamente.

---

<sup>3</sup> Esteban Carmuega Alejandro O'Donnell. *LA ALIMENTACIÓN COMPLEMENTARIA Bases científicas para el consejo alimentario durante los trascendentes primeros dos años de la vida.* 1,3.

### 3.1.2. Historia y definición de Probióticos

Los probióticos son microorganismos, generalmente bacterias que se encuentran en el intestino humano, que son beneficiosos para la salud. Son también llamadas "amigas" o "buenas" bacterias. Son ubicuos y simbióticas en todo el sistema gastrointestinal, donde tienen un importante papel protector. Los probióticos además de ser normales y útiles, son esenciales para prevenir las enfermedades y mejorar la función del sistema inmune.

Las bacterias ácido lácticas y bifidobacterias constituyen los principales tipos de la flora del colon. *Lactobacillus acidophilus* tiene una larga historia de uso seguro en la industria de productos lácteos y existe de forma natural en el tracto gastrointestinal humano. Las bifidobacterias se añaden a los alimentos como probióticos, proporcionando protección contra infecciones gastrointestinales y la enfermedad inflamatoria intestinal, antagonizar los agentes patógenos y que confiere antialérgicas propiedades sobre el sistema inmune.

Las características, acciones, efectos y la importancia de los probióticos han merecido una renovada popularidad en la cultura contemporánea, pero los probióticos son historia antigua. Hace miles de años, un naturalista Romano llamado Pliney el Anciano recomienda beber leche fermentada para el tratamiento de problemas intestinales. Los probióticos también son mencionados en la Biblia y los libros sagrados del Hinduismo. Los climas en el medio Oriente y Asia favoreció la acidificación de los productos de la leche, que es recomendado para una enfermedad intestinal. Esto representa el uso terapéutico de los probióticos, incluso antes de que las bacterias, dentro de ellos fueron reconocidos.

Muchos de los mismos productos de leche agria están siendo consumidos hoy en día.

En 1899, Henry Tissler, un científico de investigación en el Instituto Pasteur de París, Francia, informó de la detección de una forma de bacterias localizadas en los intestinos de los bebés alimentados con leche materna, organismos a los que llamó "bifidobacterias" (singular – bifidobacterium) donde "Bífido" significa literalmente "la bifurcada en dos partes o ramas". Tissler informó que los bebés con bifidobacterias en sus tractos digestivos tenían menos problemas gastrointestinales, evidenciado por un menor número de enfermedades diarreicas.

La búsqueda para encontrar una fuente de la juventud popular de la ocupación para los científicos y los médicos de la época. Eli Metchnikoff un científico ruso, también en el Instituto Pasteur en París, realizó el estudio de las bacterias del ácido láctico. Se sabe que la degradación de proteínas de la dieta por clostridios (bacterias que se encuentran normalmente en el tracto digestivo) producen algunas sustancias tóxicas para el cuerpo humano, incluyendo el amoniaco, fenoles y otros compuestos, un tipo de "intestinal auto-intoxicación". Él teorizó que las bacterias del ácido láctico confería un tipo de protección, o la reversión de la intestinal auto-intoxicación. Mitchnikoff había observado que los pobladores rurales en Bulgaria vivieron hasta muy viejo edades, a pesar de la extrema pobreza y la dureza del clima. Ellos tenían un promedio de vida mucho mayor que en los ricos Europeos, y señaló que bebían los productos lácteos fermentados. Metchnikoff supuso que las bacterias del ácido láctico asociados con los productos de leche fermentada, tenían anticuerpos anti-envejecimiento beneficios para la salud. Metchnikoff nombró al organismo "*Lactobacillus bulgarius*". Metchnikoff llegó a publicar "La

Prolongación de la Vida: Estudios Optimistas", afirmando que "la Ingestión de los microorganismos podría tener considerables beneficios para la salud en los seres humanos."

Metchnikoff y sus colegas comenzaron a beber leche agria para rellenar sus tractos digestivos con el lactobacillus, marcando la introducción de los probióticos como suplementos dietéticos. En 1908 Metchnikoff recibió el Premio Nobel de medicina por su trabajo demostrando que los microbios dañinos pueden ser sustituidos por los microbios beneficiosos para el tratamiento de enfermedades intestinales. Después de la muerte de Metchnikoff en 1916, gran parte del interés y la investigación acerca de los probióticos comenzó a cambiar a los Estados Uynidos.

Un médico y científico alemán, Alfred Nissle, estaba intrigado por los posibles usos y beneficios de los probióticos. Los métodos eran necesarios para el tratamiento de enfermedades infecciosas ya que no había antibióticos en el momento. Durante un brote de shigelosis (shigella es una bacteria que causa diarrea severa), Nissle aisló una nueva cepa de *Eschericia coli* a partir de las heces de un soldado de la I Guerra Mundial que fue afligido con shigella, pero no desarrolló la enfermedad diarreica. La nueva cepa bacteriana fue nombrada "Eschericia coli Nissle 1917". Nissle utilizó la cepa para el tratamiento de enfermedades intestinales como shigella y salmonella con gran éxito. Nissle, homónimo del probiótico, activamente interactúa con el sistema inmune del cuerpo y todavía está en uso hoy en día.

El año de 1920 se vio un retroceso en el desarrollo de probióticos. Los experimentos realizados por el Profesor Leo F. Rettger parecía mostrar que el Lactobacillus bulgarius de Metchnikoff no

podía vivir en el intestino, y de hecho fue destruido por el ácido del estómago. Lo que parecía desmentir la teoría de Metchnikoff de que sus bacterias confieren longevidad en quienes lo consumen. Pronto, el uso terapéutico de los alimentos fermentados perdió su auge. Sin embargo, Rettger también demostró que otras bacterias que existen naturalmente en el intestino podrían ser eficaces como los probióticos, que ayudan a restaurar la colonización bacteriana normal cuando se introduce en el tracto digestivo de los humanos. Una de estas bacterias es *Lactobacillus acidophilus* ha demostrado ser un tratamiento eficaz para el estreñimiento.<sup>4</sup>

### 3.1.3. Características de los microorganismos probióticos

La mayoría de los probióticos son componentes cultivables de la microbiota que se han utilizado por sus funciones beneficiosas desde hace mucho tiempo antes de que el término "probiótico" fuera acuñado. El más comúnmente utilizado, cepas de probióticos, incluyen las bacterias del ácido láctico (LAB), microbios Gram-positivos que se han utilizado durante siglos en los procesos de producción de alimentos (yogur, queso, pepinillos). Los miembros del laboratorio tales como *Lactococcus* y *Streptococcus* también son importantes componentes de la microbiota endógena en el ser humano (íleon y el yeyuno y, en densidades moderadas, en el colon). La aprobación para su uso en alimentos, combinados con la ausencia de los lipopolisacáridos (LPS) y la falta de proteasas secretadas, promueven para muchos laboratorios su uso como probióticos. Del mismo modo, ya que estos organismos son bacterias Gram-positivas, las proteínas recombinantes pueden ser secretadas sin quedar atrapadas en el periplasma, haciendo de estas especies, a nivel de laboratorio,

---

<sup>4</sup> <https://www.dairyscience.info/index.php/probiotics/50-probiotics.html>

vehículos más atractivos para los alimentos de calidad de la producción de proteínas y enzimas.<sup>5</sup>

El uso más amplio a nivel de laboratorio de éstas especies, son citoquinas provenientes del *Lactococcus lactis*. Esta bacteria, a diferencia de otras especies de *Lactococcus*, su presencia es transitoria en el intestino humano y es, por lo tanto clasificado como un noncommensal . Esta colonización transitoria proporciona una ventaja para la utilización de esta cepa probiótica como un vehículo de entrega para las vacunas de proteínas e incluso, más recientemente, las vacunas de ADN. En estos casos, una colonización sostenida de la cepa sería un desventaja, ya que puede conducir a la sobreestimulación de los dirigidos de la vía. La posibilidad de entregar las proteínas directamente a la mucosa abre nuevos métodos de tratamiento terapéutico en el que rutas tradicionales de los medicamentos fallan como resultado de, por ejemplo, baja la disponibilidad local de la sustancia terapéutica.

Con respecto a las bacterias Gram-negativas de los probióticos, la más comúnmente utilizada es la cepa de *Escherichia coli* Nissle 1917 (EcN). El cirujano del ejército Alfred Nissle aisló originalmente esta cepa en 1917, a partir de las heces de un soldado durante la Primera Guerra Mundial, que en contraste con sus compañeros, no se presentó la diarrea infecciosa ocasionada por el organismo *Shigella*. La observación de Nissle sugirió que podría proporcionar la colonización de bacterias resistentes y benéficas contra patógenos de las mucosas. En consecuencia con esta hipótesis, el efecto probiótico y la seguridad de la biotecnología de EcN desde entonces ha sido ampliamente demostrado en numerosos ensayos clínicos. En la actualidad, EcN está contenida en una droga llamada Mutaflor, que se utiliza

---

<sup>5</sup> Le Loir et al. 2005; Mierau y Kleerebezem 2005; Peterbauer et al. 2011.

para el tratamiento de ambas enfermedades diarreicas infecciosas y EII. Además, EcN ha sido administrado a los recién nacidos para evitar la colonización de su tracto digestivo por los agentes patógenos multirresistente de la tuberculosis.<sup>6</sup>

#### **3.1.4. Mecanismos de acción de los probióticos**

Los principales probióticos tienen mecanismos de acción que incluyen la mejora de la barrera epitelial, aumento de la adhesión a la mucosa intestinal, y la consiguiente inhibición de la adhesión de patógenos, la exclusión competitiva de los microorganismos patógenos, la producción de anti-microorganismo sustancias y la modulación del sistema inmune.

##### **3.1.4.1. Mejora de la Barrera Epitelial**

El epitelio intestinal está en contacto permanente con el contenido luminal y la variable, la dinámica de la flora entérica. Es un importante mecanismo de defensa de la barrera intestinal utilizado para mantener la integridad epitelial y de proteger al organismo del medio ambiente. Las defensas de la barrera intestinal consisten en la capa mucosa, péptidos antimicrobianos, la IgA secretora y el epitelio de unión del complejo de adhesión. Una vez que esta función de barrera se rompe, bacterias y antígenos alimentarios puede llegar a la submucosa y puede inducir respuestas inflamatorias, lo cual puede resultar en trastornos intestinales, como la enfermedad inflamatoria intestinal. El consumo de bacterias no patógenas que pueden contribuir a la función de barrera intestinal, y las bacterias probióticas han sido ampliamente estudiados por su participación en el mantenimiento de esta barrera. Sin embargo, los mecanismos por los cuales los probióticos mejoran la función de barrera intestinal no se entiendeq completamente.

---

<sup>6</sup> Lodinova-Zadnikova y Sonnenborn 1997; Boudeau et al. 2003; Kruis et al. 2004; Grabig et al. 2006; Henker et al. 2007.

Datos recientes han indicado que los probióticos pueden iniciar la reparación de la función de barrera después de los daños. No sólo impiden que la interrupción de la barrera de la mucosa por el enteropatógeno *E. coli*, sino que incluso se restaura la integridad de la mucosa.

Un vínculo entre la alteración de los niveles de citoquinas pro-inflamatorias y de la permeabilidad intestinal se ha descrito en un número de enfermedades intestinales. El uso de probióticos en la prevención de citoquinas inducida por el daño epitelial, que es característica de la enfermedad inflamatoria intestinal, también puede contribuir al refuerzo de la barrera de la mucosa.

Glicoproteínas de mucina son los principales constituyentes macromoleculares de la epiteliales de la mucosa y han sido implicados en la salud y la enfermedad. Los probióticos pueden promover la secreción mucosa como un mecanismo para mejorar la función de barrera y la exclusión de patógenos. Varios *Lactobacillus* especies de aumento de la expresión de la mucina en humanos de células intestinales líneas. Sin embargo, este efecto protector depende de la adhesión del *Lactobacillus* a la monocapa de células, lo que probablemente no ocurre en vivo.

#### **3.1.4.2. Aumento de la Adhesión a la Mucosa Intestinal**

La adhesión a la mucosa intestinal es considerada como un requisito previo para la colonización y es importante para la interacción entre las cepas probióticas y el host. La adhesión de los probióticos para la mucosa intestinal es

también importante para la modulación del sistema inmune y el antagonismo contra los patógenos.<sup>7</sup>

Por lo tanto, la adhesión ha sido uno de los principales criterios para la selección de nuevas cepas probióticas y se ha relacionado con ciertos efectos beneficiosos de los probióticos. Las bacterias del ácido láctico (*Lactobacillus*) muestran diversos determinantes de la superficie que están involucrados en su interacción con las células epiteliales intestinales (IECs) y moco. IECs secretan mucina, que es un complejo de la glicoproteína de la mezcla que es el principal componente de la mucosa, lo que impide la adherencia de las bacterias patógenas. Además, los lípidos, libre de proteínas, inmunoglobulinas y las sales que están presentes en la mucosa gel. Esta interacción específica ha indicado una posible asociación entre las proteínas de la superficie de las bacterias probióticas y la exclusión competitiva de patógenos a partir de la mucosa.<sup>8</sup> Como se mencionó anteriormente. Este proceso es principalmente mediada por proteínas, aunque de sacárido mitades y lipoteichoic ácidos también han sido implicados. El más estudiado ejemplo de moco-la orientación de adhesinas bacterianas es MUB (moco de unión a proteínas) producidas por *Lactobacillus reuteri*. Las proteínas desempeñan un papel en la mucosa fenotipo adhesión de los lactobacilos son principalmente secretada y asociada a la superficie de las proteínas, que están ancladas a la membrana a través de una fracción lipídica o incrustado en la pared de la célula<sup>9</sup>. La participación de las

---

<sup>7</sup> Hooper LV, Stappenbeck TS, Hong CV, Gordon JI: Angiogenins: una nueva clase de microbicida de las proteínas implicadas en la inmunidad innata. *Nat Immunol* 2003.

<sup>8</sup> Perdigon G, Maldonado Galdeano C, Valdez JC, Medici M: la Interacción de las bacterias del ácido láctico con el sistema inmune intestinal. *Eur J Clin Nutr* 2002.

<sup>9</sup> Buck BL, Altermann E, Svingerud T, Klaenhammer TR: *análisis Funcional de los supuestos factores de adhesión en Lactobacillus acidophilus*. 71, 188

proteínas de la superficie en la interacción con el plasminógeno humano o los enterocitos ha sido reportado en *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* y *Bifidobacterium bifidum*, respectivamente. Bajo ciertas circunstancias, estas proteínas pueden desempeñar un papel importante en facilitar la colonización del intestino humano a través de la degradación de la matriz extracelular de las células o por facilitar el contacto cercano con el epitelio. MapA (mucosa de la adhesión de la promoción de la proteína) ha sido reportado para mediar la unión de *L. reuteri* y *L. fermentum* a moco [52]. Los probióticos, tales como *L. plantarum*, han sido reportados para inducir MUC2 y MUC3 mucinas y para inhibir la adhesión de enteropatógena *E. coli*. Estas observaciones indican que el aumento de la mucosa de las capas y glicocáliz que recubre el epitelio intestinal, así como la ocupación de los sitios de unión por *Lactobacillus* spp. proporcionar protección contra la invasión de patógenos. Se informó que en la mitad de los 4 casos estudiados, la resistencia a los ácidos derivados de mostrar una mayor capacidad de adherirse a la mucosa intestinal humano de la cepa original. La capacidad de las bifidobacterias para inhibir patógenos de adhesión a la mucosa no es, por lo general, por la adquisición de resistencia a los ácidos. En general, la inducción de resistencia a los ácidos en las bifidobacterias puede ser una estrategia para la selección de cepas con mayor estabilidad y mejora de las propiedades de la superficie que favorecen su potencial funcionalidad como probióticos contra patógenos específicos.

La mezcla de probióticos y VSL3 se ha reportado aumento de la síntesis de la superficie celular de las mucinas y para modular la mucina de la expresión de genes en una forma

dependiente de la adhesión de las células de las bacterias al epitelio intestinal.

Los probióticos también causa alteraciones cualitativas en mucinas intestinales que impiden que el patógeno de la unión. La bacteriana de los componentes involucrados en la adhesión de la LB y BG2FO4 *L. acidophilus* cepas es resistente a la proteasa y se asocia con la superficie de la bacteria. Curiosamente, la bacteriana componente también se degrada en un péptido antimicrobiano, que presta anti-propiedades patógenas para el host y proporciona un ejemplo de cómo las grandes proteínas de la superficie puede presentar evolutivamente beneficiosos efectos pleiotrópicos.<sup>10</sup>

Cepas de probióticos también pueden inducir la liberación de las defensinas de las células epiteliales. Estos pequeños péptidos/proteínas son activos contra bacterias, hongos y virus. Por otra parte, estos pequeños péptidos/proteínas estabilizar la función de la barrera intestinal. Observaciones han indicado que, en respuesta a los ataques de las bacterias patógenas, el anfitrión se involucra su primera línea de defensa química por el aumento de la producción de las proteínas antimicrobianas, tales como alfa - y beta-defensinas, las catelicidinas, lectinas tipo C y ribonucleasas. Muchos Amplificadores son enzimas que matan a las bacterias mediante la realización de un ataque enzimático sobre la pared celular de las estructuras y/o no enzimática de la interrupción de la membrana bacteriana. Enzimas expresadas por las células de Paneth ataque de las membranas bacterianas. La lisozima hidroliza el

---

<sup>10</sup> Gopal PK, Prasad J, Smart J, Gill HS: *In vitro de la adherencia de las propiedades de Lactobacillus rhamnosus el DR. 20 y Bifidobacterium lactis DR 10 cepas y su actividad antagonista contra un enterotoxigénica Escherichia coli.* 205,216.

glicosídico de la pared de peptidoglicano y de la fosfolipasa a2 de los fosfolípidos de la membrana bacteriana . Las defensinas comprenden una importante familia de la membrana de la interrupción de los péptidos en los vertebrados. La interacción no es específica y, principalmente, por la unión a fosfolípidos aniónicos grupos de la superficie de la membrana a través de interacciones electrostáticas. Esta interacción crea defensinas poros en la membrana bacteriana que alteran la integridad de la membrana y promover la lisis de los microorganismos. Las catelicidinas generalmente son catiónicos, alfa-helicoidal de péptidos que se unen a las membranas bacterianas a través de interacciones electrostáticas y, como las defensinas, inducen la disrupción de la membrana.<sup>11</sup>

La adherencia microbiana proceso de laboratorio también incluye pasiva fuerzas, interacciones electrostáticas, interacciones hidrofóbicas, estérico fuerzas, lipoteichoic ácidos y estructuras específicas, tales como apéndices externos cubiertos por las lectinas. Una amplia variedad de moléculas que median la adhesión de las bacterias patógenas ha sido caracterizado. Sin embargo, la comprensión de los factores que median la adhesión de *Lactobacillus* es extremadamente limitada [85,86,87]. Se necesitan más estudios para la identificación y el análisis de la significación funcional de los distintos componentes de la mucosa de las capas así como las complejas interacciones de las mucosas de las capas, la microbiota (incluyendo los probióticos) y células epiteliales con los sistemas inmune innata y adaptativa.

---

<sup>11</sup> Bals R, Wilson JM: las Catelicidinas – *una familia de multifuncional de péptidos antimicrobianos*. 711,720

La exclusión competitiva de los microorganismos patógenos

En un informe de abordar la exclusión total de *Salmonella typhimurium* de larvas de estas moscas publicado en 1969, Greenberg en primer lugar utilizó la "exclusión competitiva", término para el escenario en el cual una de las especies de bacterias más vigorosamente compite por los sitios receptores en el tracto intestinal de otra especie. Los mecanismos utilizados por una especie de bacteria para excluir o reducir el crecimiento de otra especie son variados, incluyendo los siguientes mecanismos: la creación de un ambiente hostil microecología, la eliminación de la disposición bacteriana de los receptores de los sitios, la producción y la secreción de sustancias antimicrobianas y selectivo de los metabolitos, competitiva y el agotamiento de los nutrientes esenciales.<sup>12</sup>

Específicos de la adhesividad de las propiedades debido a la interacción entre las proteínas de la superficie y las mucinas puede inhibir la colonización de bacterias patógenas y son el resultado de una actividad antagonista por algunas cepas de probióticos en contra de la adhesión de los agentes patógenos gastrointestinales. Los lactobacilos y las bifidobacterias han demostrado inhibir un amplio rango de patógenos, incluyendo *E. coli*, *Salmonella*, *Helicobacter pylori*, *Listeria monocytogenes* y *Rotavirus*. La exclusión es el resultado de diferentes mecanismos y propiedades de los probióticos para inhibir la adhesión de patógenos, incluyendo la producción de sustancias y la estimulación de IECs. La exclusión competitiva por las bacterias intestinales se basa en una bacteria a bacteria interacción mediada por la competencia por los nutrientes

---

<sup>12</sup> Rolfe RD: la dinámica de la Población de la zona intestinal; en Blankenship LC (ed): *la Colonización de Control de la Enteropatógenos Bacterianos en las Aves de corral*.59-75

disponibles y de las mucosas sitios de adhesión. Para obtener una ventaja competitiva, las bacterias también pueden modificar su entorno para que sea menos adecuado para sus competidores. La producción de sustancias antimicrobianas, como el ácido láctico y ácido acético, es un ejemplo de este tipo de modificación ambiental. Algunos lactobacilos y las bifidobacterias comparten carbohidratos especificidades de unión con algunos de los enteropatógenos, lo que hace posible que las cepas de competir con patógenos específicos para los sitios receptores en las células del huésped. En general, las cepas de probióticos son capaces de inhibir la adhesión de bacterias patógenas por medio de impedimento estérico en el enterocito patógeno receptores.

El efecto de las bacterias probióticas en la exclusión competitiva de patógenos ha sido demostrado mediante la mucosa humana material in vitro, así como el pollo y cerdo de la mucosa material en vivo.

#### **3.1.4.3. La producción de Sustancias Antimicrobianas**

Uno de los mecanismos propuestos involucrados en las prestaciones de salud brindadas por los probióticos incluye la formación de compuestos de bajo peso molecular (<1,000 Da), tales como ácidos orgánicos, y la producción de sustancias antibacterianas denominado bacteriocinas (>1,000 Da).

Ácidos orgánicos, en particular de ácido acético y ácido láctico, tienen un fuerte efecto inhibitorio contra bacterias Gram-negativas, y que han sido considerados los principales antimicrobianos de los compuestos responsables de la actividad inhibitoria de los probióticos

contra los patógenos. La no disociada forma de ácido orgánico entra en la célula bacteriana y se disocia en el interior de su citoplasma. La eventual reducción del pH intracelular o la acumulación intracelular de la forma ionizada del ácido orgánico puede conducir a la muerte del patógeno.<sup>13</sup>

Muchos intentos de producir péptidos antibacterianos, incluyendo bacteriocinas y pequeños Amplificadores. Bacteriocinas producidas por bacterias Gram-positivas (generalmente de laboratorio, incluyendo la lactacin B de *L. acidophilus*, plantaricin de *L. plantarum* y la nisina de *Lactococcus lactis*) tienen un estrecho espectro de actividad y actuar sólo contra estrechamente relacionadas con las bacterias, pero algunas bacteriocinas también son activos frente a microorganismos patógenos. Los mecanismos comunes de bacteriocin mediada por el asesinato incluyen la destrucción de las células diana mediante la formación de poros y/o la inhibición de la síntesis de la pared celular. Por ejemplo, la nisina forma un complejo con el final de la pared celular precursor, el lípido II, con lo que la inhibición de la biosíntesis de la pared celular de, principalmente, formadora de esporas de bacilos. Posteriormente, el complejo de agregados y la incorpora péptidos para formar un poro en la membrana bacteriana. Varios estudios han revelado que bacteriocin de producción confiere la producción de cepas con una ventaja competitiva dentro de los complejos microbianos entornos como consecuencia de sus asociados de la actividad antimicrobiana. Bacteriocin producción puede permitir el establecimiento y el aumento de la prevalencia de cepas productoras, así como permitir la inhibición

---

<sup>13</sup> Russell JB, Díez-González F: *Los efectos de la fermentación de los ácidos sobre el crecimiento bacteriano*. 205-234

directa del crecimiento de patógenos en el tracto gastrointestinal.

Determinados compuestos antibacterianos han sido descritos por varias cepas de *Bifidobacterium*, y un único bacteriocin, bifidocin B, la cual es producida por *B. bifidum* NCFB 1454 y es activa hacia las bacterias Gram-positivas, ha sido descrito como bien.

Las bacterias intestinales también producen una amplia gama de promoción de la salud de los ácidos grasos. De hecho, ciertas cepas de intestinal de las bifidobacterias y los lactobacilos se han demostrado para producir el ácido linoleico conjugado (CLA), un potente anti-agente cancerígeno. Un efecto anti-obesidad de la CLA-producción de *L. plantarum* se ha observado en la obesidad inducida por dieta en ratones. Recientemente, la capacidad para modular la composición de ácidos grasos en el hígado y el tejido adiposo de la hostia después de la administración oral de CLA-producción de las bifidobacterias y los lactobacilos se ha demostrado en un modelo murino.<sup>14</sup>

Finalmente, las bacterias probióticas son capaces de producir los ácidos biliares conjugados, que son derivados de las sales biliares. Los ácidos biliares conjugados muestran una fuerte actividad antimicrobiana frente a la de las sales biliares sintetizados por el organismo huésped. Queda por dilucidar cómo los probióticos son capaces de protegerse de sus propios metabolitos bactericida o si son resistentes a la de los ácidos biliares conjugados.

---

<sup>14</sup> O'Shea EF, Pasador de PD, Stanton C, Ross RP, Colina C: *Producción de sustancias bioactivas por las bacterias intestinales como base para explicar los probióticos mecanismos: bacteriocinas y el ácido linoleico conjugado*. 189-205

### 3.1.5. Bacterias ácido lácticas

Las bacterias ácido-lácticas se han empleado en la fermentación o para la elaboración de alimentos durante miles de años. Uno de sus primeros usos, la fermentación, se ha aplicado en todo el mundo a los productos lácteos fermentados, como el yogurt, el queso, la mantequilla, la crema de leche, el kefir y el koumiss.

Las bacterias ácido-lácticas constituyen un conjunto de microorganismos benignos, dotados de propiedades similares. Se encuentran en grandes cantidades en la naturaleza, así como en nuestro aparato digestivo. Aunque se las conoce sobre todo por su labor de fermentación de productos lácteos, se emplean asimismo para encurtir vegetales en la horneado, en la panificación del vino, y para curar pescado, carne y embutidos.

En la actualidad también se hace buen uso de estos ilustres aliados microbianos en la elaboración de una amplia gama de productos lácteos fermentados, ya sean líquidos, como el kefir, o densos y semisólidos, como el queso o el yogurt.

La acción de estas bacterias desencadena un proceso microbiano por el cual la lactosa (el azúcar de la leche) se transforma en ácido láctico. A medida que el ácido se acumula, la estructura de las proteínas de la leche va modificándose (van cuajando), y lo mismo ocurre con la textura del producto. Existen otras variables, como la temperatura y la composición de la leche, que influyen en las cualidades particulares de los distintos productos resultantes.

El ácido láctico es también el que confiere a la leche fermentada ese sabor ligeramente acidulado. Los elementos derivados de las bacterias ácido-lácticas producen a menudo otros sabores o aromas característicos. El acetaldehído, por ejemplo, da al yogurt su aroma característico, mientras que el diacetilo confiere un

sabor de mantequilla a la leche fermentada. Pueden añadirse asimismo al cultivo de microorganismos, como las levaduras, a fin de obtener sabores particulares. El alcohol y el dióxido de carbono producidos por la levadura, por ejemplo, dan al kefir, el koumiss y el leben (variedades de yogurt líquido) una frescura y una esponjosidad características. Entre otras técnicas empleadas cabe mencionar las que consisten en eliminar el suero o añadir sabores, que permiten crear una variada gama de productos.

En lo que concierne al yogurt, su elaboración deriva de la simbiosis entre dos bacterias, la *Streptococcus thermophilus* y la *Lactobacillus bulgaricus*, que se caracterizan porque cada una estimula el desarrollo de la otra.<sup>15</sup> Esta interacción reduce considerablemente el tiempo de fermentación y el producto resultante tiene peculiaridades que lo distinguen de los fermentados mediante una sola cepa de bacteria.

Gracias a la elaboración del yogurt y otros productos lácteos fermentados, las bacterias ácido-lácticas seguirán representando un filón de explotación como cultivos probióticos. Éstas se complementan con las bacterias presentes en nuestra flora intestinal y contribuyen al buen funcionamiento del aparato digestivo. Ante la creciente demanda de los consumidores, cada día más preocupados por la salud, el mercado internacional de estos productos no cesa de incrementarse.

Las bacterias ácido-lácticas resultan excelentes embajadoras del mundo de los microbios, tan poco apreciado por lo general. Su importancia no se limita al orden económico, sino que se debe

---

<sup>15</sup> SPREER, E. *Lactología Industrial* - Capítulo: Productos Lácteos Fermentados – Yogur. 249.

ante todo a sus propiedades, que contribuyen a preservar y mejorar la salud.<sup>16</sup>

### 3.1.6. Características del *Bacillus clausii*

El *Bacillus clausii* es un bacilo gram-positivo móviles, también es formador de esporas y como la mayoría de las bacterias Bacillus, es en forma de varilla. Las colonias de *B. clausii* tienen una forma filamentosa de los márgenes que aparecen en color de crema a blanco. *B. clausii* es alcalifílico y produce una clase de subtilisinas conoce como high-proteasas alcalinas. La proteasa de *Bacillus clausii*, fue la primera enzima para ser identificado en un Bacillo alkaliphilic. El alkaliphilic la naturaleza del organismo también ha demostrado ser útil en la prevención y el tratamiento de diversos trastornos gastrointestinales como un bacterioterapia oral. Este organismo puede ser encontrado en muchos ambientes alcalinos, incluyendo el suelo y el hábitat marino.

Esta proteasa, entre otras enzimas utilizadas por *B. clausii* organismos, están siendo ampliamente estudiados para comprender su capacidad para funcionar en tales condiciones alcalinas para el posible uso de biotecnología, haciendo que el genoma de *B. clausii* una herramienta necesaria.

*Bacillus clausii* es una forma de varilla, microbio gram positivos, es decir, está rodeado por una gruesa pared celular. La pared celular está compuesta de peptidoglicano murien. *B. clausii* las células tienden a alinearse en la cadena-como la formación, que se observa como una varilla larga de la célula. *B. clausii* es una endospora la producción de microbio que crea esporas elipsoidales encuentra subterminally o paracentrally en los esporangios. Las esporas de *B. clausii* son resistentes a muchos

---

<sup>16</sup> ¿Qué son las bacterias lácticas? Rosa Aznar<sup>1,2</sup> y Manuel Zúñiga<sup>1</sup> 1 Dpt. Biotecnología de Alimentos, Instituto de Agroquímica y Tecnología de Alimentos (IATA-CSIC) 2 Dpto. Microbiología y Ecología. Fac. C. Biológicas. Univ. Valencia

antibióticos como la eritromicina, lincomicina, cefalosporinas, y cicloserina.<sup>17</sup>

*Bacillus clausii* cepa DSM 8716 fue originalmente notado como una nueva especie sobre las características de la capacidad de hidrolizar la caseína, la capacidad de reducir el nitrato, y la capacidad para crecer a 50°C. Además de las pruebas mostraron *Bacillus clausii* fueron capaces de utilizar múltiples fuentes de carbono, incluyendo: L-aribose, xilitol, galactosa, dulcitol, sorbitol, metil-D-mannoside, manosa, N-acetilglucosamina, D-tagose, 2-ketogluconate. Parte de la actual clasificación de las pruebas de la sonda para que las fuentes de carbono son utilizados por un Bacilo hebras para identificar su especie.<sup>18</sup>

La reducción de nitratos utiliza el nitrato como aceptor terminal de electrones durante la respiración anaeróbica. El uso de nitrato como aceptor de electrones en la reducción de nitrito no es tan eficaz como el uso de oxígeno y los microbios, tales como *B. clausii* se prefiere el uso de oxígeno durante el nitrato en términos de producción de energía. Pero en los entornos de bajo nivel de oxígeno, tales como el suelo, donde *B. clausii* se encuentra generalmente, la reducción de nitratos puede ser usado para mantener el transporte de electrones en la operación para mantener un gradiente de electrones para la síntesis de ATP.<sup>19</sup>

### 3.1.7. Características del *Lactobacillus reuteri*

Los *Lactobacillus reuteri* son bacterias Gram-positivas, en forma de vara, y anaeróbico. Estos heterofermentatic bacterias ácido lácticas que habitan en el intestino de una amplia gama de organismos, incluyendo los seres humanos, cerdos, pollos y

<sup>17</sup> <http://aem.asm.org/cgi/content/full/65/9/4288> 9/11/2016

<sup>18</sup> [http://chemport.cas.org/cgi-](http://chemport.cas.org/cgi-bin/sdcgi?APP=ftslink&action=reflink&origin=springer&version=1.0&coi=1%3ACAS%3A528%3ADyaK2M)

[bin/sdcgi?APP=ftslink&action=reflink&origin=springer&version=1.0&coi=1%3ACAS%3A528%3ADyaK2MXntFGnsrc%253D&md5=52be3c5edb4a2611ed0284b6452ed414](http://chemport.cas.org/cgi-bin/sdcgi?APP=ftslink&action=reflink&origin=springer&version=1.0&coi=1%3ACAS%3A528%3ADyaK2MXntFGnsrc%253D&md5=52be3c5edb4a2611ed0284b6452ed414) 27/11/2016

<sup>19</sup>

<http://dwb.unl.edu/Teacher/NSF/C11/C11Links/www.bact.wisc.edu/microtextbook/metabolism/Introduction.html> 13/11/2016

ratones<sup>20</sup>. También pueden ser aislados de la leche materna humana. In vitro, *Lactobacillus reuteri* crece de manera óptima en los medios a 37 grados Celsius. También se han encontrado para crecer en las biopelículas. La Alimentación y la agricultura de la Organización de las Naciones Unidas describe los probióticos como "microorganismos vivos que cuando se administran en cantidades adecuadas confieren un beneficio a la salud del huésped<sup>21</sup>," una idea de la primera vocalizados por Elie Metchnikoff, en los primeros años de 1900. Los *L. reuteri* produce reuterina, un antimicrobiano que inhibe el crecimiento de bacterias, hongos y protozoos. Debido a estas propiedades probióticas, *L. reuteri* se cree para ser una terapia prometedora para la mitigación de la pobreza y la reducción de ciertas enfermedades relacionadas con el aparato digestivo de la salud, salud oral, y urogenital de la salud, incluyendo la infantil, los cólicos, el eccema y la infección por *H. pylori*. Algunas cepas han demostrado que también forma relativamente delgada de biopelículas (5-7µm de espesor.)<sup>22</sup> *L. reuteri* es un mutualistas asociados de acogida microbio, que viven en los intestinos de los animales. Como tal, se requiere de un hábitat y es un mesófilas, anaerobio facultativo, con una preferencia por los ambientes ácidos. *L. reuteri* es una obligada heterofermentativos microbio, la producción de dióxido de carbono, etanol, acetato, y el ácido láctico a partir de la fermentación de glucosa. También puede anaeróticamente metabolizar el glicerol, la producción de los antimicrobianos reuterina (3-hydroxypropionaldehyde).<sup>23</sup> *L. reuteri* también se ha demostrado para producir ácido fólico y

---

20 Morita, Hidetoshi, Toh, Hidehiro, Fukuda, Shinji, et al. 2008. "Análisis comparativo del Genoma de *Lactobacillus reuteri* y *Lactobacillus fermentum* Revelan una Isla Genómica para la Reuterina y Cobalamina Producción. 151,161.

<sup>21</sup> Jones, Sara E., Versalovic, James. 2009. "Probiótico *Lactobacillus reuteri* biopelículas producir antibióticos y anti-inflamatorios factores". 9.

<sup>22</sup> Jones, Sara E., Versalovic, James. 2009. "Probiótico *Lactobacillus reuteri* biopelículas producir antibióticos y anti-inflamatorios factores". 35.

cobalamina, también conocida como la vitamina B12, nutrientes que muchos animales, incluyendo los seres humanos, requieren.

### 3.1.8. Características *Saccharomyces cerevisiae*

*Saccharomyces cerevisiae* es un eucariota microbio. Más específicamente, es un cúmulo en forma globular, de color amarillo-verde de levaduras pertenecientes al reino de los Hongos, que incluye a los organismos multicelulares como hongos y mohos. Natural de las cepas de la levadura se han encontrado en las superficies de las plantas, de los tractos gastrointestinales y de la superficie del cuerpo de los insectos y animales de sangre caliente, suelos de todas las regiones del mundo e incluso en los ambientes acuáticos.<sup>24</sup> Más a menudo se encuentran en áreas donde la fermentación puede ocurrir, tales como la en la superficie de la fruta, almacenamiento en bodegas y en los equipos utilizados durante el proceso de fermentación.<sup>25</sup> *S. cerevisiae* es famosamente conocido por su papel en la producción de alimentos. Es el componente crítico en el proceso de fermentación que convierte el azúcar en alcohol, un ingrediente compartido en cerveza, vino y bebidas destiladas. También se utiliza en el proceso de panificación como un agente de levadura; la levadura de la liberación de gas en el ambiente de los resultados en la esponjosa textura como de panes y pasteles. Debido a su papel en la fermentación, los seres humanos han conocido y utilizado *Saccharomyces cerevisiae* por un largo tiempo. Los arqueólogos han encontrado evidencia de una bebida

---

<sup>23</sup> Morita, Hidetoshi, Toh, Hidehiro, Fukuda, Shinji, et al. 2008. "Análisis comparativo del Genoma de *Lactobacillus reuteri* y *Lactobacillus fermentum* Revelan una Isla Genómica para la Reuterina y Cobalamina Producción." *La Investigación del ADN*.

<sup>24</sup> <http://www.informaworld.com/smpp/ftinterface~content=a773488360~fulltext=713240930>

<sup>25</sup> Robert K. Mortimer. *Evolution and Variation of the Yeast (Saccharomyces) Genome*. 403.

fermentada en un bote en China tan pronto como 7000BC<sup>26</sup>, y la evidencia molecular de la levadura se utiliza en la fermentación fue encontrado en una jarra de vino que se remonta a 3150BC.<sup>27</sup>

El aislamiento de la especie no ocurrió hasta 1938, cuando Emil Mraz aislado de higos podridos encuentra en Merced, California. Tomando ventaja de su único ciclo reproductivo, Robert Mortimer realiza cruces genéticos que utilizó el aislado cepa y otras cepas de levadura obtenida a través de otros investigadores. Como resultado, se creó una nueva cepa llamada S288c, la cual se utilizó como cepa parental con el fin de aislar la mayoría de las cepas mutantes en la actualidad se utilizan en la investigación.<sup>28</sup>

*S. cerevisiae* es también considerado un "organismo modelo" por los científicos. Su gran ventaja es que es un unicelulares y organismo eucariota. Como un eucariota, la mayoría de los genes de la levadura y las proteínas tienen homólogos humanos<sup>29</sup>, y una mayor comprensión del genoma de la levadura también ayudaría a los científicos a comprender el genoma humano. Otra ventaja es su crecimiento rápido de la parrilla. En una normal de levadura media, se tarda 90 minutos para que la levadura de la población a doble<sup>30</sup>, y las colonias son generalmente visibles a los 2-3 días después de la colocación de ellos en medio fresco. Desde la secuencia completa del genoma está ahora disponible, los mutantes únicos a los organismos eucariotas ahora puede ser expresado en una eucariota como se opone al estudio de un gen similar en los procariotas.

*S. cerevisiae* puede vivir tanto aeróbico así como las condiciones anaeróbicas. En presencia de oxígeno, la levadura puede

---

<sup>26</sup> JEAN-LUC LEGRAS, DIDIER MERDINOGLU, JEAN-MARIE CORNUET, FRANCIS KARST. *Bread, beer and wine: Saccharomyces cerevisiae diversity reflects human history*

. 4

<sup>27</sup> Robert K. Mortimer\* And John R. Johnston. *Genealogy Of Principal Strains Of The Yeast Genetic Stock Center*. 2,3.

<sup>28</sup> Robert K. Mortimer. *Evolution and Variation of the Yeast (Saccharomyces) Genome*. 1,2.

<sup>29</sup> Life with 6000 Genes A. Goffeau, \* B. G. Barrell, H. Bussey, R. W. Davis, B. Dujon, H. Feldmann, F. Galibert, J. D. Hoheisel, C. Jacq, M. Johnston, E. J. Louis, H. W. Mewes, Y. Murakami, P. Philippsen, H. Tettelin, S. G. Oliver

<sup>30</sup> [http://dbb.urmc.rochester.edu/labs/sherman\\_f/startedyeast.pdf](http://dbb.urmc.rochester.edu/labs/sherman_f/startedyeast.pdf)

someterse a la respiración aeróbica, donde la glucosa se rompe a las emisiones de CO<sub>2</sub> y el ATP es producido por los protones de caer abajo de su gradiente de una Atpasa. Cuando falta oxígeno, la levadura sólo obtienen su energía a partir de la glucólisis y el azúcar es el lugar se convierte en etanol, una menos eficiente el proceso de respiración aeróbica. La principal fuente de carbono y energía es la glucosa, y cuando las concentraciones de glucosa son lo suficientemente altos, la expresión génica de enzimas utilizado en la respiración son reprimidos y la fermentación se lleva a través de la respiración. Sin embargo, la levadura también puede utilizar otros azúcares como fuente de carbono.

### 3.1.9. Probióticos

Se definen a los probióticos como "microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, confieren un beneficio para la salud al huésped". También diferenciaron entre productos que contenían probióticos y aquellos que contenían cultivos vivos o activos y establecieron los siguientes criterios:

Criterios vivos o culturales activos:

Cualquier alimento con microbio de fermentación

Prueba de viabilidad a un nivel mínimo de reflexión de los niveles típicos vistos en los alimentos fermentados, sugirió a ser  $1 \times 10^9$  UFC por ración

Ninguna investigación o evidencia específica es necesaria para hacer esta afirmación.

- Criterios de probióticos para productos que no hacen una declaración de propiedades saludables:
- Un miembro de una especie de seguridad, que es apoyado por evidencia suficiente de un efecto

beneficioso en general en los seres humanos o un microbio seguro con una propiedad (por ejemplo, una estructura, la actividad, o el producto final) para el que no es Evidencia suficiente para un efecto beneficioso general en humanos

- Prueba de viabilidad al nivel apropiado utilizado en el apoyo a estudios en humanos.
- Criterios probióticos para los productos que hacen una declaración de propiedades saludables:

Definido cepa probiótica

Prueba de suministro de cepa viable a dosis eficaces al final del periodo de validez

Pruebas convincentes necesarias para una cepa o cepa específica en la indicación de salud especificada.

### **3.1.9.1. Efecto de los probióticos**

#### **3.1.9.1.1. Efectos De Los Probióticos En Diversas patologías**

Los efectos de los Probióticos son varios incluyendo la modificación de la flora evitando la colonización patógena, la prevención del desequilibrio de la flora intestinal, la reducción de la incidencia y duración de diarreas, el mantenimiento de la integridad de las mucosas, la modulación de la inmunidad al evitar la translocación bacteriana, la producción de vitaminas como la B2, B6 y biotina, la asimilación de oligoelementos y la actividad antitumoral.

#### **3.1.9.1.2. EFECTOS NUTRICIONALES**

##### **A. INTOLERANCIA A LA LACTOSA**

Alrededor del 70% de la Población mundial, presenta intolerancia a la lactosa, relacionada con la disminución de la actividad de la lactasa en la mucosa intestinal, genéticamente determinada. La Lactosa no digerida es fermentada por la flora intestinal, con producción de agua, ácidos grasos y gas, que ocasionan síntomas como dolor abdominal, flatulencia y diarrea.

Los probióticos contribuyen a mejorar la digestión de la lactosa y reducen la sintomatología por la mala absorción, gracias a que los *Lactobacillus* poseen una actividad enzimática (lactasa) que sigue funcionando en el intestino y permite la digestión del azúcar, lo cual permite que personas con intolerancia a la lactosa puedan consumir leche, fuente rica en proteínas, vitaminas y calcio; evitando los eventuales síntomas como la diarrea, dolor abdominal, flatulencia, etc.

Los probióticos que actúan en la fermentación del yogur como *Lactobacillus bulgaricus* y *S. thermophilus* poseen la enzima. Los *Lactobacillus* y las bifidobacterias poseen un efecto favorecedor en la digestión de la Lactosa

## **B. REDUCCIÓN DE LOS NIVELES DE COLESTEROL**

Algunos probióticos pueden ejercer efectos hipocolesteromiantes, es decir que contribuyen a la disminución del colesterol sanguíneo de tres maneras distintas:

Utilizando el colesterol en el intestino y reduciendo así su absorción

Aumentando la excreción de sales biliares

Produciendo ácidos grasos volátiles en el colon que pueden ser absorbidos e interferir con el metabolismo de los lípidos en el hígado.

### **EFFECTOS PROTECTORES**

Los probióticos son microorganismos que estimulan las funciones protectoras del tracto digestivo, también son conocidos como bioterapéuticos, bioprotectores o bioprolifácticos, se utilizan para prevenir las infecciones entéricas y gastrointestinales. Para que un microorganismo pueda cumplir con esta función de protección tiene que poseer características tales como: Ser habitante normal del intestino, tener un tiempo corto de reproducción, ser capaz de producir compuestos antimicrobianos y ser estable durante el proceso de producción, comercialización y distribución para que pueda estar vivo en el intestino.

La protección de estos microorganismos se lleva a cabo mediante dos mecanismos: El antagonismo que impide la multiplicación de los patógenos y la producción de toxinas que impiden su acción patogénica. Este antagonismo está dado por la competencia por los nutrientes o los sitios de adhesión. Mediante la inmunomodulación protegen al huésped de las infecciones induciendo a un aumento de la producción Inmunoglobulinas,

aumento de la activación de las células mononucleares y de los linfocitos.

Las bacterias ácido lácticas pueden colonizar transitoriamente el intestino y sobrevivir durante el tránsito intestinal además, por su adhesión al epitelio, modifican la respuesta inmune local del hospedero.

Ciertos probióticos pueden estimular la inmunidad del individuo tanto a nivel intestinal como a nivel general, lo cual se traduce por una mayor producción de anticuerpos y una mejor defensa. Varios estudios sugieren que el consumo de probióticos podría ayudar a regular las alteraciones del sistema inmune que se observan en casos de alergia y por lo tanto, a reducir los síntomas asociados con esta patología.

Ciertas bacterias lácticas protegen al intestino frente a los patógenos de diferentes maneras:

Compiendo por el espacio físico y por los nutrientes  
Produciendo sustancias antibióticas activas frente a estos patógenos

Estimulando el sistema inmune del intestino

Contribuyendo a la acidificación del contenido del colon, lo cual es desfavorable para el crecimiento de patógenos

Inactivación de ciertas toxinas liberados por patógenos.

### 3.1.10. *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* es un importante patógeno humano que causa una amplia gama de infecciones clínicas. Es una de las principales causas de bacteriemia y endocarditis infecciosa, así como infecciones osteoarticulares, cutáneas y de tejidos blandos, pleuropulmonares y de aparatos. Las dos últimas décadas se ha sido testigos de dos cambios claros en la epidemiología de las infecciones por *S. aureus*: en primer lugar, un número creciente de infecciones asociadas a la atención de la salud, particularmente en la endocarditis infecciosa y las infecciones de los dispositivos protésicos, y una epidemia de piel asociada a la comunidad. Y las infecciones de tejidos blandos impulsadas por cepas con ciertos factores de virulencia y resistencia a los antibióticos  $\beta$ -lactámicos. Al revisar la literatura para apoyar las estrategias de manejo de estas manifestaciones clínicas, también destacamos la escasez de evidencia de alta calidad para muchas preguntas clínicas clave.<sup>31</sup>

#### 3.1.10.1. Microbiología y patogenia

La capacidad de regular los factores de virulencia bajo estímulos estresantes (por ejemplo, respuesta inmune del huésped o antibióticos circulantes) es un factor clave para permitir que *S. aureus* persista en el torrente sanguíneo, sembrar tejidos profundos y formar focos secundarios de infección. Las cepas de *S. aureus* han sido efectivamente capaces de adherirse y colonizar la piel y la mucosa de las narinas, invadir el torrente sanguíneo, evadir las respuestas inmunológicas del huésped, formar biofilms protectores y desarrollar resistencia a varios antibióticos. En consecuencia, a pesar de la disponibilidad de muchos

---

<sup>31</sup> Steven Y. C. Tonga, Joshua S. Davisa, Emily Eichenbergerb, Thomas L. Hollandband Vance G. Fowler Jrb,c. *Staphylococcus aureus* Infections: Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Manifestations, and Management

antibióticos con actividad contra cepas de tipo salvaje, *S. aureus* es un patógeno gram-positivo altamente exitoso y cada vez más clínicamente importante.<sup>32</sup>

Adhesión y colonización. *S. aureus* puede regular de nuevo una variedad de factores de virulencia, lo que le permite adherirse y colonizar las narinas y la piel dañada o las superficies de los dispositivos implantados o prótesis y causar graves infecciones del torrente sanguíneo. El ácido teicoico, un polímero en la superficie de *S. aureus*, es esencial para este propósito.

*S. aureus* puede interrumpir la barrera cutánea mediante la secreción de toxinas exfoliativas, hemolisinas (incluyendo  $\alpha$ -hemolysin [ $\alpha$ -toxina], que forma poros en las membranas celulares de la piel), y varias enzimas que destruyen el tejido. La invasión puede ser desencadenada cuando el sistema inmunológico está comprometido, cuando hay una ruptura en el integumento físico, y / o cuando se produce inflamación localizada.<sup>33</sup>

### 3.1.10.2. Mecanismos de resistencia y epidemiología

Evasión. *S. aureus* evade la respuesta inmune del huésped secretando proteínas anti-opsonizing (por ejemplo, proteína inhibidora de quimiotaxis), que previenen la fagocitosis por los neutrófilos. La proteína A, localizada en la superficie de las células de *S. aureus*, también tiene propiedades antiphagocytic. Por otra parte, *S. aureus* secreta leucotoxinas (por ejemplo, Panton-Valentine leukocidin),

---

<sup>32</sup> Christoph K. Nabera. *Staphylococcus aureus Bacteremia: Epidemiology, Pathophysiology, and Management Strategies* Department of Cardiology, West-German Heart Center, Essen, Germany

<sup>33</sup> Quorum-sensing control in staphylococci target for antimicrobial drug therapy FEMS Microbiol Lett 2004.

que lyse leucocitos,<sup>34</sup> y expresa superantigens (por ejemplo, las enterotoxinas tóxicos y el síndrome de choque toxina, que subvertir la respuesta inmune normal induciendo fuerte.

Biofilms. La detección del quórum de *S. aureus* puede regular la expresión génica para formar biofilms viscosa en la piel dañada, dispositivos médicos ajustados y válvulas cardíacas sanas o dañadas. El agotamiento de los nutrientes y el oxígeno hace que las bacterias entren en un estado no nacido en el que son menos susceptibles a algunos antibióticos. En particular, las variantes de colonia pequeña de *S. aureus*, cuando están adheridas y en fase estacionaria, demuestran resistencia casi completa a los agentes antimicrobianos. La matriz de biofilm proporciona protección contra las células inmunes y puede restringir la penetración de algunos antibióticos.

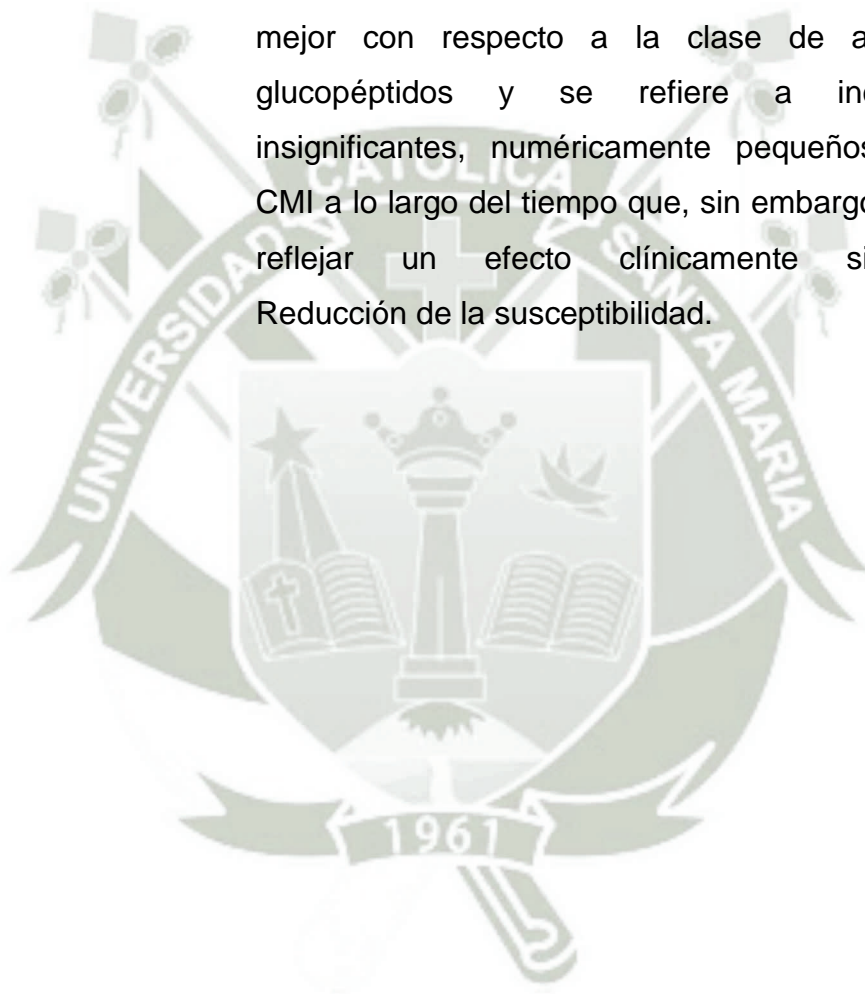
### 3.1.10.3. Tratamiento de las infecciones producidas

Resistencia antibiótica. Las cepas de *S. aureus* han desarrollado resistencia a los antibióticos, incluyendo penicilina, cefalosporinas, meticilina, vancomicina y linezolid. *S. aureus* anula los efectos de la penicilina mediante la producción de  $\beta$ -lactamasa y las cepas de MRSA han adquirido el gen mec que codifica la proteína 2a de unión a la penicilina y el gen fem que confiere resistencia a meticilina, penicilinas resistentes a penicilinas y cefalosporinas. La verdadera resistencia a la vancomicina en *S. aureus* parece depender de la adquisición del gen vanA,

---

<sup>34</sup> . N Engl J Med 1998. Lowy FD *Staphylococcus aureus* infections. 339,520.

mientras que la susceptibilidad reducida a la vancomicina en la vancomicina intermedia *S. aureus* y la vancomicina intermedia intermedia *S. aureus* se ha relacionado con un mecanismo diferente: O los genes reguladores asociados con el accesorio de la vía del regulador genético. Linezolid resistencia es conferida por una mutación en *S. aureus* ribosomal ARN. Además de la clara resistencia, existe el fenómeno de la "fluencia MIC", que se reconoce mejor con respecto a la clase de antibióticos glucopéptidos y se refiere a incrementos insignificantes, numéricamente pequeños, de los CMI a lo largo del tiempo que, sin embargo, parecen reflejar un efecto clínicamente significativo Reducción de la susceptibilidad.



## Revisión de antecedentes investigativos

### a) **Título:** Cluster of Bacteria Associated with Peri-Implantitis

**Autor:** G. Rutger Persson, DDS, PhD;\* Stefan Renvert, DDS, PhD

**Año:** 2013

#### **Resumen:**

**Antecedentes:** La información sobre la microbiota en la periimplantitis es limitado. La hipótesis de que ni el género ni una historia de la periodontitis / fumar o la microbiota en implantes difieren según el estado del implante. **Materiales y métodos:** Las muestras microbiológicas de referencia recogidos a un implante en cada uno de los 166 participantes con periimplantitis y de 47 individuos con un implante sanos fueron recogidos y analizados mediante hibridación ADN-ADN de tablero de ajedrez (78 especies). Los datos clínicos y radiográficos definen el estado del implante. **Resultados:** las especies bacterianas Diecinueve fueron encontrados en un mayor número de de los implantes con periimplantitis incluyendo *Actinobacillus*, *Aggregatibacter*, *Campylobacter gracilis*, *Campylobacter rectus*, *showae*, *Campylobacter*, *Helicobacter pylori*, *Haemophilus influenzae*, *Porphyromonas gingivalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus anaerobius*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus mitis*, *forsythia*, *Tannerella*, *Treponema denticola*, y *Treponema socranskii* ( $p < 0,001$ ). Utilizando un análisis de curva característica identificada *T. forsythia*, *P. gingivalis*, *T. socranskii*, *Staph. aureus*, *estafilococos. anaerobius*, *Strep. intermedius*, y *Strep. mitis* en la periimplantitis que comprende el 30% de la microbiota total. Al ajustarse según el género (no significativo [NS]), el tabaquismo (NS), mayor edad ( $p = 0,003$ ), la historia de la periodontitis ( $p < 0,01$ ), y *T. forsythia* (cociente de probabilidad 3,6, intervalo de confianza del 95% 1.4 , 9.1,  $p = 0,007$ ) se asociaron con la periimplantitis. **Conclusión:** Un grupo de bacterias, incluyendo *T. forsythia* y *estafilococos. aureus* se asocia con la periimplantitis.

- b) **Título:** Peri-Implant Mucositis and Peri-Implantitis: A Current Understanding of Their Diagnoses and Clinical Implications\*

**Autor:** Dr. Paul Rosen, chair; Drs. Donald Clem, David Cochran, Stuart Froum, Bradley McAllister, Stefan Renvert, Hom-Lay Wang

**Año:** 2013

**Resumen:**

El uso de implantes dentales ha revolucionado el tratamiento de forma parcial y totalmente desdentados pacientes hoy en día.

Los implantes se han convertido en un enfoque de tratamiento para la gestión de una amplia gama de dilemas clínicos debido a su alto nivel de predictibilidad y su capacidad para ser utilizado para una amplia variedad de opciones de tratamiento. Mientras que en muchos protectores de los implantes dentales se han reportado para lograr el éxito a largo plazo, no son inmunes a las complicaciones asociada con la planificación de un tratamiento inadecuado, la ejecución quirúrgica y protésica, la falla del material, y mantenimiento. Incluido en estos últimos son la biológica complicaciones de la mucositis periimplantaria y periimplantitis, afecciones inflamatorias de las blando y duro tejidos a los implantes dentales. Es el propósito de este documento revisar el conocimiento actual en relación con la peri-implante mucositis y periimplantitis para ayudar a los médicos en sus diagnósticos y prevención. Se reconoce que nueva información continuará a surgir, y como tal, Este documento representa un esfuerzo dinámico que se evolucionando y requieren una mayor expansión y reevaluación.

**c) Título:** Efecto Probiótico In Vitro De Actobacillus Casei En La Disminución De La Resistencia A Ciprofloxacino, Imipenem Y Vancomicina Sobre Escherichia Coli, Pseudomonas Aeruginosa Y Staphylococcus aureus

**Autor:** Mónica Tatiana, Justiniano Mejía, Elva Mejía Delgado

**Año:** 2013

**Resumen:**

Se determinó el efecto probiótico de Lactobacillus casei en la disminución de la resistencia a ciprofloxacino, imipenem y vancomicina sobre Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa y Staphylococcus aureus. Se utilizaron lactobacillus al 50%, 75% y 100%. El efecto probiótico se procesó mediante la técnica de Kirby Bauer y la concentración inhibitoria mínima mediante la determinación de las unidades formadoras de colonias.

Se determinó que el Lactobacillus casei, asociado a ciprofloxacino disminuye la resistencia de Escherichia coli; asociado a imipenem, disminuye la resistencia de Pseudomona aeruginosa; y asociado a vancomicina, disminuye la resistencia de Staphylococcus aureus.

La sensibilidad de las bacterias es mayor cuando los antibióticos se asociaron con el Lactobacillus con una diferencia altamente significativa al efecto del antibiótico solo. La concentración inhibitoria mínima fue 50%. Todas las concentraciones asociadas a cada antibiótico produjeron inhibición total de las bacterias con una diferencia altamente significativa con su control ( $p < 0.001$ ). Lactobacillus casei asociado a ciprofloxacino, imipenem y vancomicina disminuye la resistencia in vitro de E. coli, P. aeruginosa y S. aureus, respectivamente

**d) Título:** Microorganismos probióticos en la prevención de caries dentales

**Autor:** Johany Duque de Estrada Riverón, Ileana Hidalgo-Gato Fuentes, Yensi Díaz Martell

**Año:** 2010

**Resumen:**

Los probióticos tienen el potencial de brindar beneficios muy importantes para la salud humana, por lo que se decidió investigar las especies probióticas que pudiesen tener acción preventiva contra la caries dentales fundamentalmente en los niños, para determinar la existencia de un medicamento contra ellas, a partir de microorganismos probióticos presentes en la cavidad bucal. Los probióticos bucales que han demostrado acciones alentadoras en la prevención de las caries dentales son: el *Streptococcus salivarius* (cepa K12), *Lactobacilos salivarius* BGH01, *Lactobacilos gasseri* BGH089, *Streptococcus sanguinis* y *Streptococcus oligofermentans*. Los estudios *in vitro* sobre el uso de probióticos para la prevención de las caries dentales poseen resultados interesantes, pero, *in vivo*, estos no son muy alentadores. Se debe profundizar en los efectos terapéuticos de las cepas probióticas ya descubiertas para que se puedan obtener de estas un agente preventivo efectivo contra las caries, para poder garantizar una mejor calidad de vida, sobre todo en la población infantil.

#### 4. HIPÓTESIS

Dado que, los probióticos son microorganismos vivos que pueden ayudar con la prevención y tratamiento de algunas enfermedades del huésped.

Es probable que, el probiótico: *Lactobacillus reuteri*, tengan una acción inhibitoria superior sobre el crecimiento invitro del *Staphylococcus aureus*.





# CAPITULO II

## PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

## II. PLANTEAMIENTO OPERACIONAL

### 5. Técnicas, instrumentos y materiales de verificación.

Técnica:

#### a) Precisión de la técnica

En el presente trabajo de investigación se aplicó la técnica de experimental. El instrumento que se utilizó consistió en una ficha de recolección de datos de laboratorio.

#### b) Esquematización

| VARIABLE                                 | TÉCNICA                                      | PROCEDIMIENTO |
|--|--|---------------|
| Crecimiento invitro del <i>S. aureus</i> | Observación<br>Experimental,<br>Laboratorial | Medición      |

### c) Descripción de la técnica

#### c.1) Activación de los probióticos.

##### c.1.1) Activación del *B. clausii*

Se usó una ampolla de enterogermina, se tomó 0.2ml y se inoculó en 10 ml de caldo de tioglicolato y se dejó crecer en la incubadora de anaerobiosis a 37°C al 6% de CO<sub>2</sub> por 24 horas.

##### c.1.2) Activación del *S. cerevisiae*.

Se usó una tableta de levadura de cerveza, la cual se trituró, del polvo se pesó 0.5 gr, el cual se inoculó en 10 ml de caldo de tioglicolato y se dejó crecer en la incubadora de anaerobiosis a 37°C al 6% de CO<sub>2</sub> por 24 horas.

##### c.1.3) Activación del *L. reuteri*.

Se usó 0.5 gr de biogaia y se inoculó en 10 ml de caldo de tioglicolato y se dejó crecer en la incubadora de anaerobiosis a 37°C al 6% de CO<sub>2</sub> por 24 horas.

#### c.2) Activación del *S. aureus*.

Se adquirió una cepa certificada ATCC 12600 de *S. aureus*, de los laboratorios Gen lab Peru.

c.2.1) Se reactivó la cepa en 10ml de caldo de tioglicolato y se incubó a 37°C y 6% de CO<sub>2</sub> por 24 horas.

c.2.2) Para el repique se sembró del tubo previamente inoculado de *S. aureus*, a una placa con agar sangre.

#### c.3) Procedimiento

##### c.3.1) Preparación de los probióticos.

- Los probióticos se igualaron al estándar 0.5 de turbidez de la escala Mc Farland equivalente a 10<sup>8</sup>UFC.
- Se tomó 30 del homogenizado y se inoculó a la papilla para bebés.

- Se prepararon 10 discos de inhibición con cada probiótico.

#### c.3.2) Preparación del *S. aureus*

- El *S. aureus* se igualo al estándar 0.5 de turbidez de la escala Mc Farland equivalente a  $10^8$ UFC.
- Se sembró en 10 placas Petri con agar sangre.

#### c.3.3.) Ejecución

Se colocaron los discos de inhibición en cada palca (3 por cada placa) y se llevó a la cámara de anaerobiosis por 24 horas a 37° C y 6 % de CO<sub>2</sub>

#### c.4.) Recolección de datos

Se realizó la medición de los halos con un vernier y se procedió a su registro en la ficha laboratorial.

### d) Diseño Investigativo

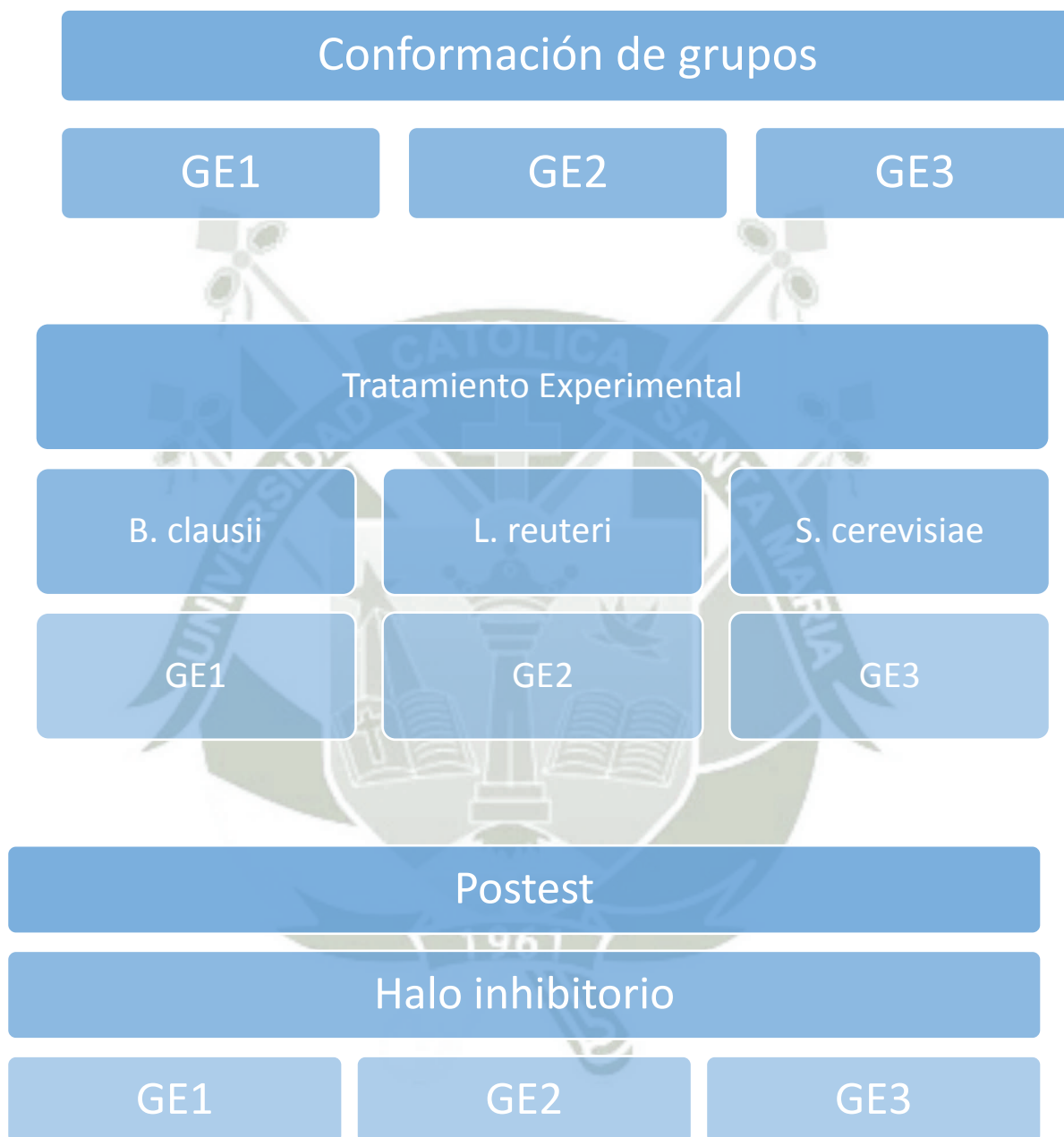
#### d.1) Tipo

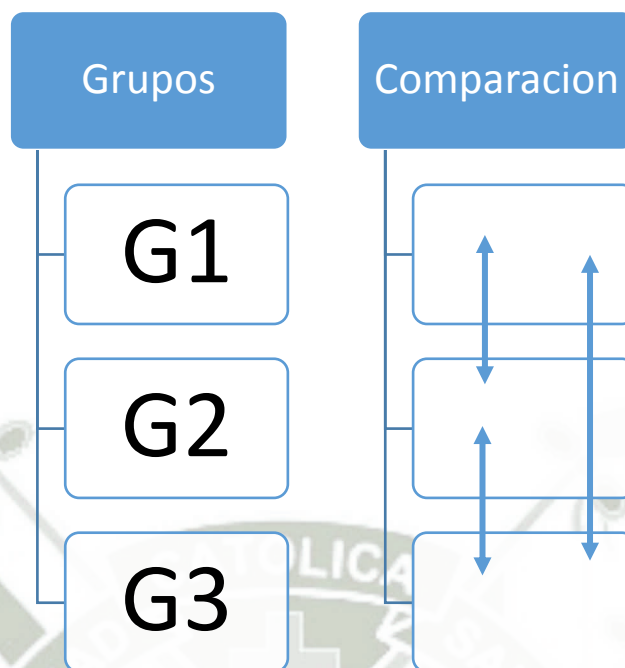
Ensayo laboratorial, investigativo, sin pretest, manipulación múltiple, postest único

#### d.2) Esquema básico

|            |               |    |
|------------|---------------|----|
| <b>GE1</b> | B. clausii    | O2 |
| <b>GE2</b> | L. reuteri    | O2 |
| <b>GE3</b> | S. cerevisiae | O2 |

d.3) Diagramación operativa.





## 1.2. Instrumentos

### a. Instrumento Documental:

#### a.1) Precisión del instrumento

El instrumento usado fue una ficha de observación laboratorial

#### Estructura del instrumento

| Medición<br>Post test | Variable  | Indicadores                            | ITEMS            |
|-----------------------|---|--|------------------|
| 24 horas              | Crecimiento del<br><i>Staphylococcus</i><br><i>aureus</i> | Formación del<br>halo de<br>inhibición | Medida en<br>mm. |

### a.3) Modelo del instrumento:

Se utilizó una tabla detallada por cada probiótico utilizado en la cual indico el tiempo en el cual se hizo el control y el tamaño del halo de inhibición.

#### 5.1.1. Instrumentos mecánicos

- Balón de vidrio de 1L
- Probetas de 500ml
- Asas de Col
- Hojas de papel filtro
- Tubos de ensayo de 15ml
- Placas Petri
- Mecheros
- Refrigeradora
- Autoclave
- Incubadora
- Pinzas
- Gradillas
- Cocina
- Cámara fotográfica

### 5.1.2. Materiales o insumos

- Agar sangre
- Caldo de tioglicolato
- Agar LB
- Caldo nutritivo

## 2. CAMPO DE VERIFICACIÓN

### 2.1. Ámbito Espacial

La investigación se llevó a cabo en la ciudad de Arequipa, en los laboratorios de la Universidad Católica de Santa María.

### 2.2. Ámbito Temporal

La investigación se llevó a cabo en noviembre y diciembre del 2016.

### 2.3. Unidades de Estudio

#### a. Unidades de análisis

Muestras biológicas

#### b. Alternativa de manejo

Grupos

#### c. Control de los grupos

#### d.1. Criterios de inclusión

- Cepas certificadas de *Staphylococcus aureus* (ATCC 12600)
- Cepas comerciales de:

- *B. clausii*
- *L. reuteri*
- *S. cerevisiae*

#### **d.2. Criterios de exclusión**

- Cualquier cepa contaminada o con morfología diferente a la normal.

#### **2.4. Cuantificación de los grupos**

Para la comparación entre las tres cepas probióticas se empleó una prueba de análisis de Varianza.

Para obtener una muestra apropiada se trabajará con:

#### **2.5. Criterios estadísticos**

Nivel de confiabilidad  $(1-\alpha)$  del 95%, por lo que  $\alpha=5\%$

Nivel de potencia  $(1-\beta)$  de 80%

Error máximo permitido (expresados en desviaciones estándar)  $\Delta=1$ ; es decir que el error máximo será igual a una desviación estándar de los datos.

Para calcular la muestra aplicamos la siguiente fórmula con sus parámetros correspondientes:

#### **Datos:**

- Tamaño de la muestra
- $\lambda = 9.64$
- $\Delta =$  nivel de error

**Reemplazando:**

Entonces el número total de las muestras por cada subgrupo es de 10, siendo 30 la muestra total para la investigación.

**3. ESTRATEGIA DE RECOLECCIÓN DE DATOS****3.1. Organización**

Antes de aplicar el instrumento se realizaron las siguientes actividades:

- Autorización del Decano de la Facultad de Odontología.
- Autorización del coordinador del laboratorio de la Universidad Católica de Santa María.
- Preparación de las unidades de estudio
- Formalización de las unidades de estudio
- Recolección de datos

**3.2. Recursos****a. Recursos Humanos**

**Investigador** : Robinson Alex Vilcahuaman Palomino

**Asesora** : Dra. María del Socorro Barriga Flores

**b. Recursos Físicos**

- Biblioteca de la Universidad Católica de Santa María
- Laboratorios de la Universidad Católica de Santa María

**c. Recursos Económicos**

- Propios del investigador

## 4. ESTRATEGIA PARA MANEJO DE DATOS

### 4.1 Plan de sistematización

#### 4.1.1 Tipo de procesamiento

El procesamiento de datos se realizó manualmente.

#### 4.1.2 Plan de procesamiento

- **Clasificación**

Toda la información obtenida se ordenó en una matriz de registro y control cuyo detalle aparecerá en los anexos.

- **Recuento**

Se realizó una matriz de conteo y se contabilizarán manualmente.

- **Plan de análisis de datos**

Se realizó un análisis cuantitativo.

- **Tabulación**

Se emplearon cuadros simples, que se ajusten a las necesidades de análisis y a los objetivos.

- **Graficación**

Se utilizaron gráficos considerando la exigencia de los cuadros.

## 4.2 Plan de análisis

### a. Tipo cuantitativo trifactorial univariado.

### b. Tratamiento estadístico

| Variable                               | Tipo         | Escala   | Estadístico descriptiva  | Prueba         |
|--|--------------|----------|--|----------------|
| <b>Crecimiento de <i>S. aureus</i></b> | Cuantitativa | De razón | TC <ul style="list-style-type: none"> <li>• Media</li> <li>• Mediana</li> <li>• Moda</li> </ul> D <ul style="list-style-type: none"> <li>• D. estándar</li> <li>• V. max</li> <li>• V. min</li> <li>• R</li> <li>• C.V.</li> </ul> | Kruskal Wallis |

### c. Metodología de interpretación

La interpretación se realizó en base a la comparación de datos y por la apreciación crítica.

### d. Modalidad interpretativa

Se optó por una interpretación subsiguiente a cada cuadro y una discusión global de los datos.



# **CAPITULO III**

## **RESULTADOS**

### III. RESULTADOS

Tabla N°1.

Mediciones de los halos de inhibición para las cepas probióticas

| Muestras | Halos de inhibición (mm)     |                                 |                         |
|----------|------------------------------|---------------------------------|-------------------------|
|          | <i>Lactobacillus reuteri</i> | <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | <i>Bacillus clausii</i> |
| 1        | 19                           | 18                              | 17                      |
| 2        | 18                           | 9                               | 6                       |
| 3        | 15                           | 11                              | 12                      |
| 4        | 13                           | 15                              | 15                      |
| 5        | 17                           | 17                              | 12                      |
| 6        | 15                           | 13                              | 7                       |
| 7        | 13                           | 13                              | 8                       |
| 8        | 14                           | 14                              | 14                      |
| 9        | 19                           | 13                              | 14                      |
| 10       | 15                           | 7                               | 7                       |

Fuente: elaboración propia

La Tabla N°1 muestra 10 repeticiones de la prueba de inhibición del crecimiento del *Staphylococcus aureus* para cada una de las cepas probióticas en mención.

Tabla N°2.

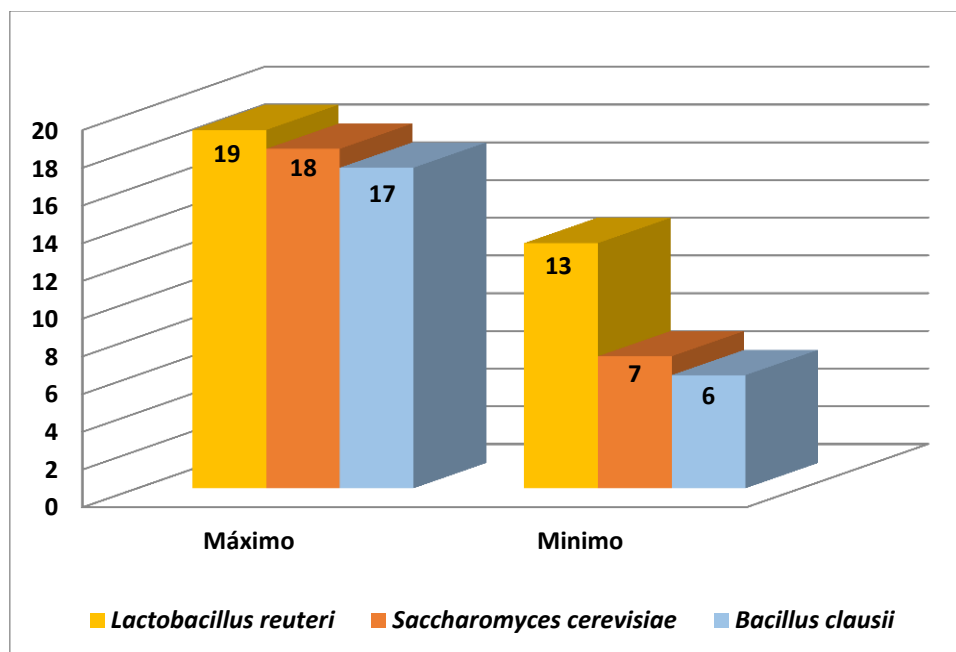
**Análisis descriptivo de los halos de medición para cada cepa probiótica**

|                                  | <i>Lactobacillus reuteri</i> (mm) | <i>Saccharomyces cerevisiae</i> (mm) | <i>Bacillus clausii</i> (mm) |
|----------------------------------|-----------------------------------|--------------------------------------|------------------------------|
| <b>Media</b>                     | 15.80                             | 13.00                                | 11.20                        |
| <b>Error típico</b>              | 0.73                              | 1.06                                 | 1.24                         |
| <b>Mediana</b>                   | 15.00                             | 13.00                                | 12.00                        |
| <b>Moda</b>                      | 15.00                             | 13.00                                | 12.00                        |
| <b>Desviación estándar</b>       | 2.30                              | 3.37                                 | 3.91                         |
| <b>Varianza de la muestra</b>    | 5.29                              | 11.33                                | 15.29                        |
| <b>Coefficiente de variación</b> | 14.56                             | 25.90                                | 34.91                        |
| <b>Curtosis</b>                  | -1.45                             | -0.15                                | -1.61                        |
| <b>Coefficiente de asimetría</b> | 0.30                              | -0.33                                | -0.06                        |
| <b>Rango</b>                     | 6                                 | 11                                   | 11                           |
| <b>Mínimo</b>                    | 13                                | 7                                    | 6                            |
| <b>Máximo</b>                    | 19                                | 18                                   | 17                           |
| <b>Suma</b>                      | 158                               | 130                                  | 112                          |
| <b>Cuenta</b>                    | 10                                | 10                                   | 10                           |
| <b>Nivel de confianza(95.0%)</b> | 1.65                              | 2.41                                 | 2.80                         |

Fuente: elaboración propia

Según la tabla N°2 los valores mínimo y máximo de la cepa *Lactobacillus reuteri* es de 13 y 19 con el menor rango (6) entre las tres cepas, cabe destacar que ésta es la de mayor efecto antibacteriano; para la *Saccharomyces cerevisiae* va entre 7 y 18 con un mayor rango de 11 y para el *Bacillus clausii* con el efecto antibacteriano más bajo tienen un límite inferior y superior de 6 y 17, respectivamente, con un rango de 11.

**Gráfico N°1. Valores máximos de halos de inhibición (mm) de las cepas probióticas sobre el *Staphylococcus aureus***

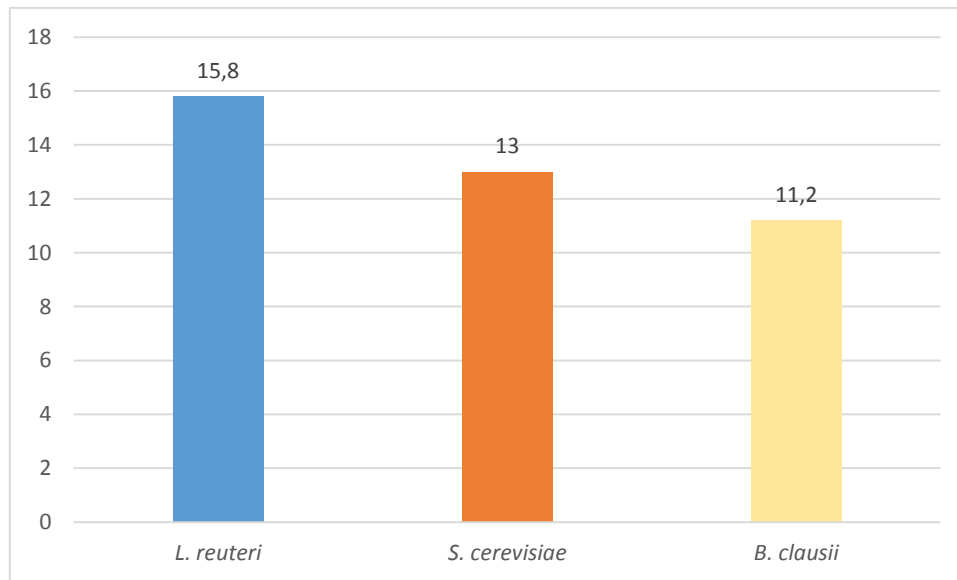


Fuente: elaboración propia

En el gráfico N°1 se muestra los valores máximos y mínimos del efecto de inhibición de las cepas probióticas sobre el *Staphylococcus aureus*, donde se observa claramente que de las tres cepas el *Lactobacillus reuteri* es el que mayor efecto antibacteriano posee (19 mm), le sigue el *Saccharomyces cerevisiae* (18 mm) y luego el *Bacillus clausii* (17 mm).

Gráfico N°2.

Efecto de inhibición de las cepas probióticas sobre el *Staphylococcus aureus*



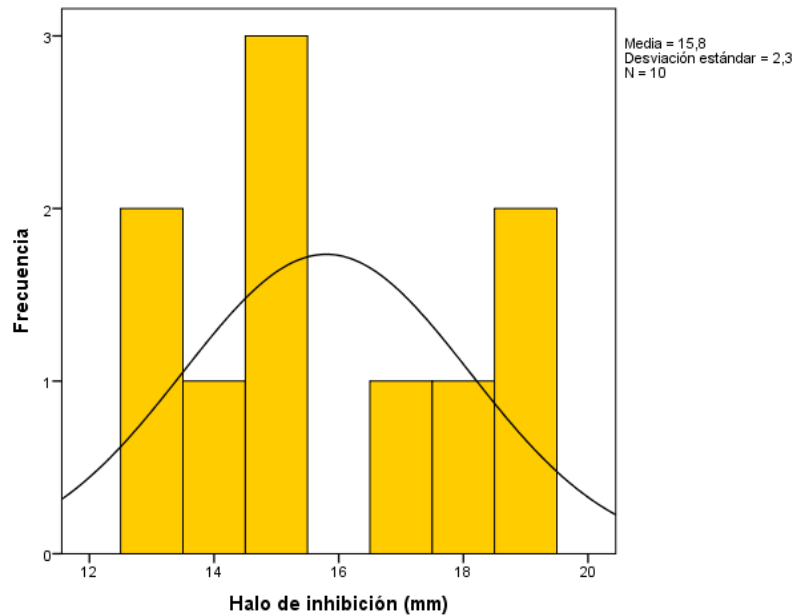
Fuente: elaboración propia

En el Gráfico N°2 se observan los promedios de la medición de los halos de inhibición para el crecimiento del *Staphylococcus aureus*, siendo el de mayor efecto antibacteriano la cepa *Lactobacillus reuteri* con 15.8 mm, le sigue la *Saccharomyces cerevisiae* con 13.00 mm y el de menor entre las tres es el *Bacillus clausii* con 11.20 mm de halo de inhibición.

Las medidas de variabilidad de los datos indican una baja variación de los mismos con una desviación estándar de 2.30, 3.37 y 3.91 y con una varianza de 5.29, 11.33 y 15.29 para las cepas *Lactobacillus reuteri*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Bacillus clausii*, respectivamente. Esto se corrobora con el valor del coeficiente de variación donde hay un 14.56% de variación entre los datos para el *Lactobacillus reuteri* (valor más bajo) y de 34.91% de variación para la cepa *Bacillus clausii* (la mayor variación de las tres cepas).

**Gráfico N°3.**

**Histograma de la cepa *Lactobacillus reuteri***



Fuente: elaboración propia

Las medidas de tendencia central (media, mediana y moda) mostrados en la Tabla N°2 indican la distribución de los datos, correspondiendo para el *Lactobacillus reuteri* una distribución asimétrica positiva o ligeramente sesgada a la derecha ya que su media es mayor que la mediana ( $15,80 > 15,00$ ), adicionalmente poseen una curtosis platicúrtica con un valor de  $-1,45$ , es decir, en las colas de su curva hay más casos acumulados como se observa claramente en el Gráfico N°3.

**Tabla N°3.**

**Tabla de Frecuencia de Distribución para *L. reuteri***

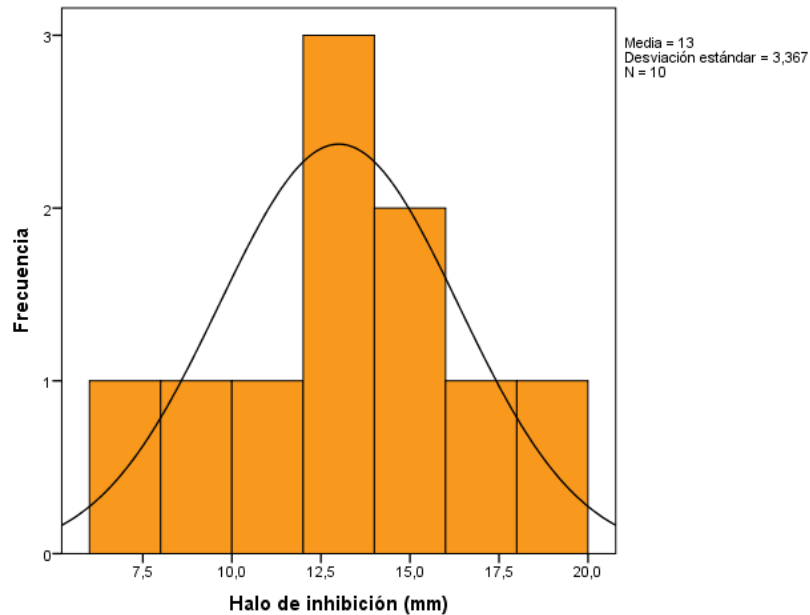
|           | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje<br>válido | Porcentaje<br>acumulado |
|-----------|------------|------------|----------------------|-------------------------|
| Válido 13 | 2          | 20,0       | 20,0                 | 20,0                    |
| 14        | 1          | 10,0       | 10,0                 | 30,0                    |
| 15        | 3          | 30,0       | 30,0                 | 60,0                    |
| 17        | 1          | 10,0       | 10,0                 | 70,0                    |
| 18        | 1          | 10,0       | 10,0                 | 80,0                    |
| 19        | 2          | 20,0       | 20,0                 | 100,0                   |
| Total     | 10         | 100,0      | 100,0                |                         |

Fuente: elaboración propia

Adicionalmente se observa que el valor que más se repite (moda) es 15 mm, el cual se repite 3 veces y le sigue el valor de 19 mm el que tiene una frecuencia de 2 veces (Tabla N°3)

Gráfico N°4.

Histograma de la cepa *Saccharomyces cerevisiae*



Fuente: elaboración propia

Para el caso de la *Saccharomyces cerevisiae* su media, mediana y moda son iguales (13) por lo tanto sus datos poseen una distribución simétrica unimodal con una curtosis platicúrtica de -0.15, valor que es bajo e indica que hay algunos valores acumulados en sus colas (se observa en el Gráfico N°4). Además se observa que la moda (13) tiene una frecuencia de 3 veces (Tabla N°4).

Tabla N°4.

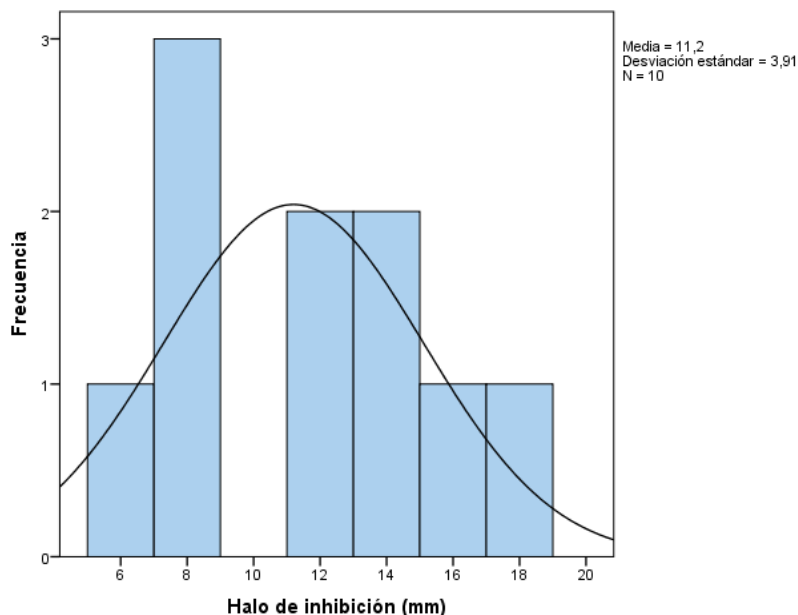
Tabla de Frecuencia de Distribución para *S.cereviciae*

|          | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje<br>válido | Porcentaje<br>acumulado |
|----------|------------|------------|----------------------|-------------------------|
| Válido 7 | 1          | 10,0       | 10,0                 | 10,0                    |
| 9        | 1          | 10,0       | 10,0                 | 20,0                    |
| 11       | 1          | 10,0       | 10,0                 | 30,0                    |
| 13       | 3          | 30,0       | 30,0                 | 60,0                    |
| 14       | 1          | 10,0       | 10,0                 | 70,0                    |
| 15       | 1          | 10,0       | 10,0                 | 80,0                    |
| 17       | 1          | 10,0       | 10,0                 | 90,0                    |
| 18       | 1          | 10,0       | 10,0                 | 100,0                   |
| Total    | 10         | 100,0      | 100,0                |                         |

Fuente: elaboración propia

Para el caso de la cepa de *Bacillus clausii* poseen una distribución asimétrica negativa (sesgada a la izquierda), se diferencia del *Lactobacillus reuteri* ya que su media es menor que la mediana ( $11.20 < 12.00$ ) y también tiene una curtosis platicúrtica (-1.61) ya que como se observa en el Gráfico N°5 hay una acumulación de sus datos en las colas de la curva.

**Gráfico N°5.**  
**Histograma de la cepa *Bacillus clausii***



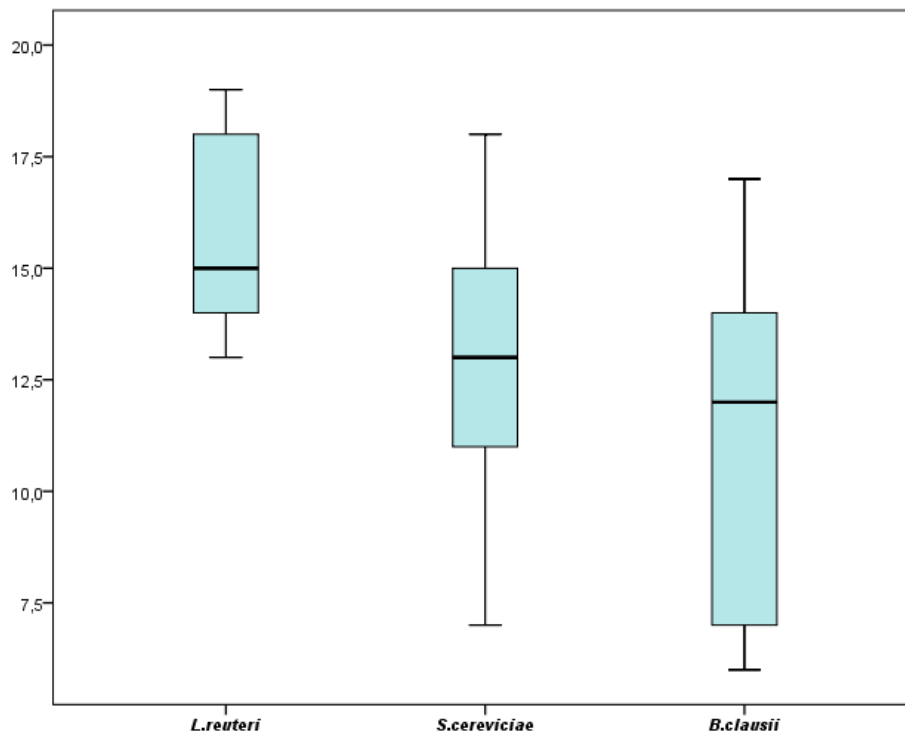
Fuente: elaboración propia

Para el caso del *Bacillus clausii* hay tres valores que más se repiten (moda) que son 7 mm, 12 mm y 14 mm los que tienen una frecuencia de 2 veces (datos mostrados en la Tabla N°5).

**Tabla N°5. Tabla de Frecuencia de Distribución para *B.clausii***

|          | Frecuencia | Porcentaje | Porcentaje válido | Porcentaje acumulado |
|----------|------------|------------|-------------------|----------------------|
| Válido 6 | 1          | 10,0       | 10,0              | 10,0                 |
| 7        | 2          | 20,0       | 20,0              | 30,0                 |
| 8        | 1          | 10,0       | 10,0              | 40,0                 |
| 12       | 2          | 20,0       | 20,0              | 60,0                 |
| 14       | 2          | 20,0       | 20,0              | 80,0                 |
| 15       | 1          | 10,0       | 10,0              | 90,0                 |
| 17       | 1          | 10,0       | 10,0              | 100,0                |
| Total    | 10         | 100,0      | 100,0             |                      |

**Gráfico N° 6.**  
**Diagrama de cajas de las cepas probióticas**



Fuente: elaboración propia

En el Gráfico N°6 se observa claramente que la asimetría positiva para el *Lactobacillus reuteri*, la asimetría negativa para el *Bacillus clausii* y la simetría para la *Saccharomyces cerevisiae*. Además no se observan datos extremos u outliers.

**a. Evaluación de supuestos de normalidad y homogeneidad**

En el software SPSS® Statistics Version 22 se realizó la prueba de Normalidad (Tabla N°6), donde los valores de significancia (Sig.) son mayores a 0.05 (p) por lo que las cepas probióticas poseen una distribución normal (0.182; 0.844 y 0.270 > 0.05).

**Tabla N°6. Pruebas de normalidad**

|              | Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup> |    |       | Shapiro-Wilk |    |      |
|--------------|---------------------------------|----|-------|--------------|----|------|
|              | Estadístico                     | gl | Sig.  | Estadístico  | gl | Sig. |
| L.reuteri    | ,236                            | 10 | ,121  | ,893         | 10 | ,182 |
| S.cerevisiae | ,200                            | 10 | ,200* | ,965         | 10 | ,844 |
| B.clausii    | ,193                            | 10 | ,200* | ,908         | 10 | ,270 |
|              |                                 |    |       |              |    |      |

Fuente: elaboración propia

\*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

Al poseer una distribución normal, estas variables cumplen con uno de los requisitos para aplicar el ANOVA, por lo que ahora deben cumplir con la igualdad de varianzas la que se ha corrido en SPSS y no se ha obtenido resultado lo que indica que no cumpla con este supuesto (Tabla N° 7 y 8), por lo que se le aplicaran un análisis NO PARAMÉTRICO.

**Tabla N°8. ANOVA**

|              |                     | Suma de<br>cuadrados | gl | Media<br>cuadrática | F | Sig. |
|--------------|---------------------|----------------------|----|---------------------|---|------|
| L.reuteri    | Entre grupos        | 47,600               | 9  | 5,289               | . | .    |
|              | Dentro de<br>grupos | ,000                 | 0  | .                   |   |      |
|              | Total               | 47,600               | 9  |                     |   |      |
| S.cereviciae | Entre grupos        | 102,000              | 9  | 11,333              | . | .    |
|              | Dentro de<br>grupos | ,000                 | 0  | .                   |   |      |
|              | Total               | 102,000              | 9  |                     |   |      |
| B.clausii    | Entre grupos        | 137,600              | 9  | 15,289              | . | .    |
|              | Dentro de<br>grupos | ,000                 | 0  | .                   |   |      |
|              | Total               | 137,600              | 9  |                     |   |      |

Fuente: elaboración propia

**b. Análisis no paramétrico**

Dentro del análisis no paramétrico, se utilizó la prueba de Kruskal Wallis; la cual fue realizada usando el software SPSS ® Statistics Version 22. Para lo cual se definió una hipótesis y determinó los estadísticos.

- **Definición de Hipótesis:**

Ho: No hay diferencia significativa entre las tres cepas probióticas frente a la *Staphylococcus aureus*.

Hi: Si hay diferencia significativa entre algunas de las tres cepas probióticas frente a la *Staphylococcus aureus*.

- **Estadístico de Kruskal Wallis:**

**Tabla N°9. Estadísticos de prueba<sup>a,b</sup>**

**Kruskal Wallis**

|                 | <i>L.reuteri</i> | <i>S.cereviciae</i> | <i>B.clausii</i> |
|-----------------|------------------|---------------------|------------------|
| Chi-cuadrado    | 4,000            | 4,000               | 4,000            |
| gl              | 4                | 4                   | 4                |
| Sig. asintótica | ,406             | ,406                | ,406             |
|                 |                  |                     |                  |

a. Prueba de Kruskal Wallis

b. Variable de agrupación: Repeticiones

Según la Tabla N°9 siendo el estadístico de Chi cuadrado (4000) con el valor p de Sig, asintótica (0.423 > 0.05) se acepta la hipótesis nula (Ho), es decir, no hay diferencia significativa entre las tres cepas probióticas frente a la *Staphylococcus aureus* a un 95% de significancia.

## DISCUSIÓN

La finalidad del presente trabajo de investigación fue poder aportar datos acerca del efecto inhibitorio de las cepas probióticas *B. clausii*, *L. reuteri* y *S. cerevisiae*. Sobre el crecimiento del *S. aureus* ya que es uno de los patógenos recurrentes en la periimplantitis.

Los antecedentes previos muestran que probióticos de la familia Lactobacillus presentan inhibición sobre el *S.aureus* y otras bacterias patógenas, en esta investigación se trabajó solo con un probiótico de esta familia, el *L reuteri*, siendo el que mayor diámetro de halo formó 19mm en contraste con otros trabajos que muestran un crecimiento de 10 mm<sup>35</sup>, esto puede deberse a que en el caso de este trabajo de investigación se usó un sustrato el cual fue la papilla para bebés enriquecida con agente probiótico lo cual puede llevar a un crecimiento aumentado del lactobacillus.

En el caso del *Bacillus clausii*. Presento un halo menor a los otros 2 probióticos usados, pero esto puede deberse a que la interacción de *B. clausii* se lleva a través del sistema inmune al potenciarlo para así producir un efecto contra agentes patógenos como el *S. aureus*. Estudios demuestran que el *Bacillus clausii* puede ejercer la inmunomodulación de la actividad al afectar el patrón de citoquinas en alérgica sujetos y producción de algunos agentes antimicrobianos<sup>36</sup>.

Se observan los promedios de los crecimientos de halos de inhibición para el crecimiento del *Staphylococcus aureus*, siendo el de mayor efecto antibacteriano la cepa *Lactobacillus reuteri* con 15.8 mm, le sigue la *Saccharomyces cerevisiae* con 13.00 mm y el de menor entre las tres es el *Bacillus clausii* con 11.20 mm de halo de inhibición.

---

<sup>35</sup> Elizabeth Andrea Sánchez Barrera. EFECTO INHIBIDOR DE LOS PROBIÓTICOS: LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS, LACTOBACILLUS CASEI Y LACTOBACILLUS REUTERI, SOBRE EL CRECIMIENTO IN VITRO DE PORPHYROMONA GINGIVALIS, MICROORGANISMO PREDOMINANTE EN LA ENFERMEDAD PERIODONTAL DESTRUCTIVA CRÓNICA.68,82.

<sup>36</sup> Gabrielli M, Lauritano EC, Scarpellini E, Lupascu A, Ojetti V, Gasbarrini G, Silveri NG, Gasbarrini A. *Bacillus clausii* as a treatment of small intestinal bacterial overgrowth.

Las medidas de varianza de 5.29, 11.33 y 15.29 para las cepas *Lactobacillus reuteri*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Bacillus clausii*, respectivamente. Esto se corrobora con el valor del coeficiente de variación donde hay un 14.56% de variación entre los datos para el *Lactobacillus reuteri* (valor más bajo) y de 34.91% de variación para la cepa *Bacillus clausii* (la mayor variación de las tres cepas).

Estos resultados en algunos casos variables como se muestra en la desviación estándar puede deberse al efecto del sustrato papilla para bebés sobre el probiótico ya que esta puede afectar el desempeño del probiótico. Análisis realizados en productos probióticos comercializados demuestran, no obstante, que en la actualidad alguno de ellos, especialmente los suplementos alimentarios, no ofrecen las garantías deseables en cuanto a la identidad de las cepas declaradas y su viabilidad.<sup>37</sup>



---

<sup>37</sup> Y. Sanz, M.C. Collado, J. Dalmau. *Probióticos: criterios de Probióticos: criterios de calidad y orientaciones calidad y orientaciones para el consumo* 63,66.

## CONCLUSION

### PRIMERA

Se observa la presencia de halo de inhibición formada por el *B. clausii* sobre el crecimiento de *S. aureus*, mostrando un crecimiento medio de 11.2mm

### SEGUNDA

Se observa la presencia de halo de inhibición formada por el *L. reuteri* sobre el crecimiento de *S. aureus*, mostrando un crecimiento medio de 15.8mm

### TERCERA

Se observa la presencia de halo de inhibición formada por el *S. cerevisiae* sobre el crecimiento de *S. aureus*, mostrando un crecimiento medio de 13mm

### CUARTA

Se observó que de las 3 cepas probióticas la mejor o la que mostro un halo de inhibición mayor fue la del *L. reuteri*, sobre el crecimiento del *S. aureus*.

### QUINTA

Se observa que no hay diferencia significativa entre las cepas probióticos frente al *S. aureus*

## RECOMENDACIONES

1. Se recomienda a los alumnos realizar una investigación a base de estos datos in vivo para poder comprobar los mecanismos acción de estos probióticos, en pacientes con implantes, con la finalidad de comprobar su uso preventivo.
2. Se recomienda a futuros investigadores tomar en cuenta la viabilidad de las ufc en el caso de los probióticos para así tener datos mar fidedignos a su acción inhibitoria.
3. Se recomienda buscar algún sinergismo ya sea con algún otro probióticos o con algún otro fármaco para ver si sus efectos pueden ser potenciados.
4. Resultaría excepcional alentar a nuevas investigaciones relacionadas especialmente in vivo, en pacientes que presente una periimplantitis grado I o superiores para ver si el probióticos efectivamente funciona a tal nivel, es decir como tratamiento y no solo como prevención.

## BIBLIOGRAFIA

- Richard J. Lamont, George N. Hajishengallis, Howard F. Jenkinson, Microbiología e inmunología oral, Editorial El Manual Moderno. 2015.
- Juan Miguel Rodríguez Gómez, Editorial Complutense, 2008.
- Rodríguez Gómez, Juan Miguel, Microorganismos y salud: Bacterias lácticas y bifidobacterias probióticas, Editorial Complutense, 2008.
- Negroni Marta, Microbiología estomatológica, fundamentos y guía práctica, 2ª ed, Buenos Aires: Médica Panamericana.
- Collins, J. (3 de Junio de 1993). Effects of a combination therapy to eliminate Porphyromona gingivalis in refractory periodontitis. Journal Periodontology 64, 998-1007. Recuperado el 5 de Noviembre de 2015
- Jan Lindhe0 Periodontologia Clinica e Implantologica 4ta
- Harcourt Brace;. Microbiología Médica, 2a. ed. Madrid 1999
- Guillem Prats. Microbiología clínica Ed. Médica Panamericana, 2006
- Manual de Higiene Bucal. Ed. Médica Panamericana 2012
- Marta Negroni. Microbiología Estomatológica. Ed. Médica Panamericana

## HEMEROGRAFIA

- Persson GR, Renvert S.; Cluster of bacteria associated with peri-implantitis, 2014
- Chacón G, Gallego C, PERI-IMPLANTITIS - REVISIÓN DE LA LITERATURA, 2010.
- R Hemalatha, A Sivachandran; Probiotics: How Promising are they in Promoting Periodontal Health?; 2013.
- Life with 6000 Genes A. Goffeau, \* B. G. Barrell, H. Bussey, R. W. Davis, B. Dujon, H. Feldmann, F. Galibert, J. D. Hoheisel, C. Jacq, M. Johnston, E. J. Louis, H. W. Mewes, Y. Murakami, P. Philippsen, H. Tettelin, S. G. Oliver. Science magazine.
- Evolution and Variation of the Yeast (*Saccharomyces*) Genome. Robert K. Mortimer. Genome Research. 2000.
- Evolution and Variation of the Yeast (*Saccharomyces*) Genome. Robert K. Mortimer. Genetics Society of America. 1985
- Bread, beer and wine: *Saccharomyces cerevisiae* diversity reflects human history. Jean-Luc Legras, Didier Merdinoglu, Jean-Marie Cornuet, Francis Karst Molecular Ecology. 2007.
- Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in the intensive care unit. Haddadin AS, Fappiano SA, Lipsett PA Postgrad Med J 2002;
- Burden of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* on healthcare cost and resource utilization. Shorr AF, Lodise T ISMR Update 2006.
- The potential of bacteriocin- producing probiotics and associated caveats. Future Microbiology 4, 941-943. Gordon. 2009

- Flora intestinal en la salud y la enfermedad. The Lancet. Guarner, F. 2003.
- Probióticos:Potencial para prevenir y curar. Martínez López, M., Pacho Jiménez, S., & González Vicario, S Revistas Científicas Complutense:. 2015,
- Lactic acid as inhibiting intestinal putrefaction E. Metchnikoff, E.
- Lactic acid as inhibiting intestinal putrefaction. In: The Metchnikoff, W. Heinemann.





# ANEXO N° 1

## MODELO DE FICHA LABORATORIAL



**Ficha laboratorial:**

| Muestras | Halo de inhibición (mm) |                   |                      |
|----------|-------------------------|-------------------|----------------------|
|          | <i>B. clausii</i>       | <i>L. reuteri</i> | <i>S. cerevisiae</i> |
| 1        |                         |                   |                      |





**ANEXO N°2**  
**MATRIZ DE SISTEMATIZACIÓN DE DATOS**

Tabla N°1. Mediciones de los halos de inhibición para las cepas probióticas

| Muestras | Halos de inhibición (mm)     |                                 |                         |
|----------|------------------------------|---------------------------------|-------------------------|
|          | <i>Lactobacillus reuteri</i> | <i>Saccharomyces cerevisiae</i> | <i>Bacillus clausii</i> |
| 1        | 19                           | 18                              | 17                      |
| 2        | 18                           | 9                               | 6                       |
| 3        | 15                           | 11                              | 12                      |
| 4        | 13                           | 15                              | 15                      |
| 5        | 17                           | 17                              | 12                      |
| 6        | 15                           | 13                              | 7                       |
| 7        | 13                           | 13                              | 8                       |
| 8        | 14                           | 14                              | 14                      |
| 9        | 19                           | 13                              | 14                      |
| 10       | 15                           | 7                               | 7                       |



**ANEXO N° 3**  
**SECUENCIA FOTOGRÁFICAS**

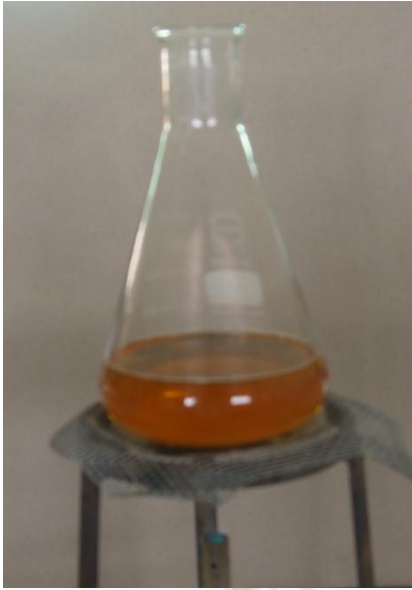


Cepa Certificada *S. aureus*  
(atcc 12600)

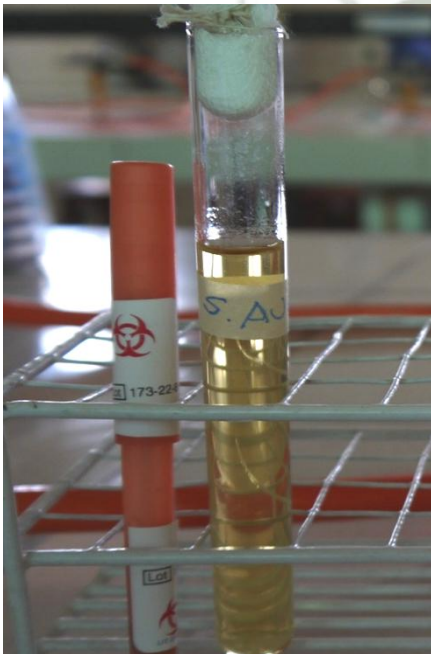
Preparación de caldo de Tioglicolato



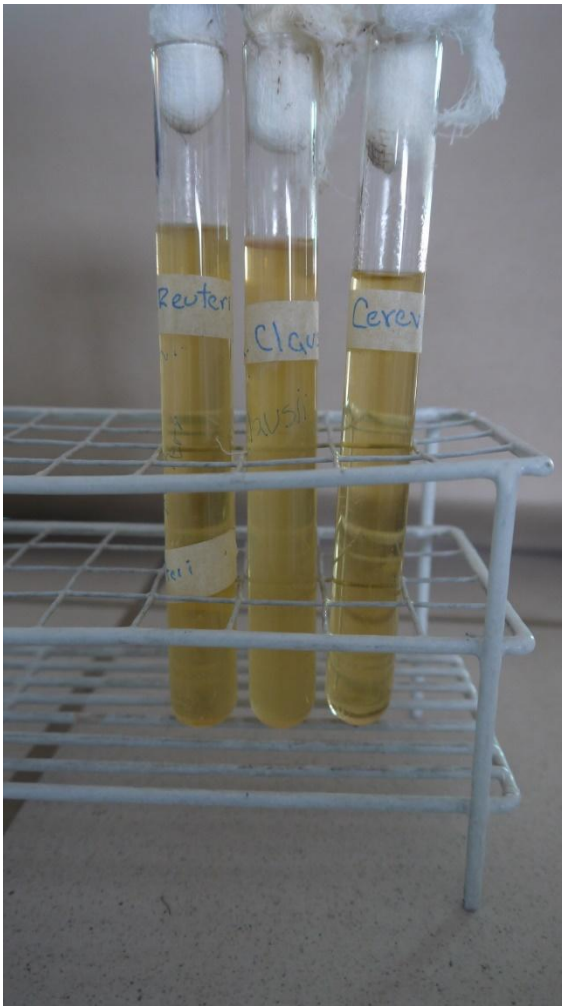
Pesado de caldo de Tioglicolato



Precaentado del caldo de  
Tioglicolato



Caldo de Tioglicolato inoculado con  
*S. aureus*



Caldo de Tioglicolato inoculado con  
*L. reuteri*, *B. clausii*, *S.cerevisiae*



Papilla comercial inoculado con *L. reuteri*, *B. clausii*, *S.cerevisiae*

Preparación de Agar sangre



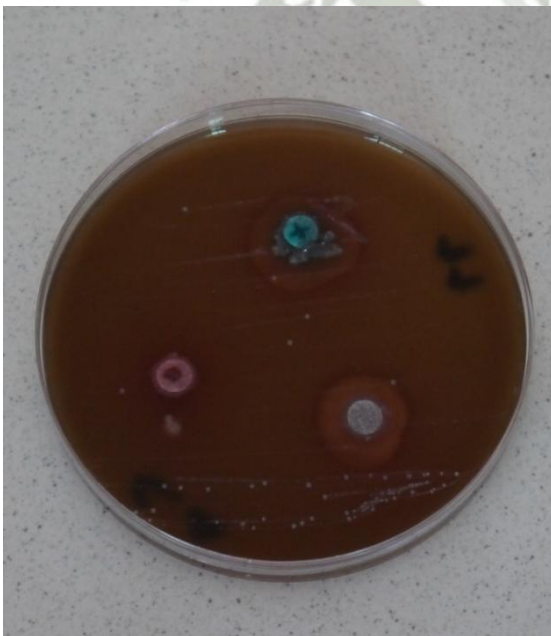
Preparación del Agar base sangre



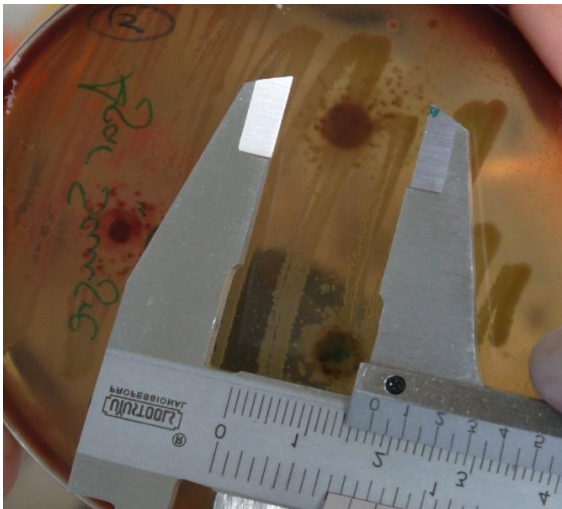
Preparación del Agar base sangre  
con sangre (al 5%)



Plaqueado del Agar sangre



Halos de inhibición en *S. aureus* Agar  
sangre



Medición de halos de inhibición

