

Eficacia de la recolonización por parte del probiótico *Streptococcus salivarius* en la disminución del *Streptococcus mutans*

Efficacy of colonization by *Streptococcus salivarius* probiotic decreased in *Streptococcus mutans*

Resumen

Introducción. Los probióticos son microorganismos vivos los cuales al ser administrados en la cantidad adecuada le proporcionan un beneficio al huésped; ayudarán a crear un ambiente saludable de la boca para prevenir el desarrollo de enfermedades oportunistas, manteniendo un equilibrio de la microbiota oral. Existen evidencias que el probiótico *Streptococcus salivarius* M18 y K12R ha demostrado ser efectivo para disminuir la colonización del *Streptococcus mutans* microorganismo responsable de la génesis de la caries dental. **Objetivo.** Valorar la eficacia de la recolonización del probiótico *Streptococcus salivarius* en sus cadenas M18 K12 (Therabreath)R en la disminución del recuento de Unidades Formadoras de Colonias de *Streptococcus mutans*. **Método.** 30 alumnos de entre 24-30 años de la Maestría en Ciencias Odontológicas de la Universidad Autónoma de Coahuila Unidad Torreón; mediante un estudio analítico, experimental, longitudinal y prospectivo. Utilizaron el probiótico *Streptococcus salivarius* M18 K12 (Therabreath)R en forma de colutorio, un sobre en la mañana y otro en la noche el primer día, un sobre todas las mañanas en los días del 2 al 6, y un sobre en la mañana y otro en la noche en el día siete. La eficacia del probiótico se midió mediante la técnica de conteo de UFC/ml de *Streptococcus mutans* en tres tiempos, antes del uso del probiótico (basal), a los 8 y 28 días después de su uso. **Resultados.** El uso del probiótico *Streptococcus salivarius* M18 y K12 (Therabreath)R disminuyó el recuento de Unidades Formadoras de Colonias del *Streptococcus mutans* (UFC/ml) al tiempo de 8 y 28 días con diferencia estadística de $p > 0.05$ con respecto a la muestra basal, el porcentaje de la eficacia de la colonización del probiótico *Streptococcus salivarius* M18 y K12 (Therabreath)R fue mayor (84%) a los ocho días que a los 28 días (72%). **Conclusión.** La utilización del probiótico *Streptococcus salivarius* M18 y K12 (Therabreath)R es efectivo para disminuir el recuento de Unidades Formadoras de Colonias de *Streptococcus mutans*, por lo que se recomienda como opción de terapia para prevenir la caries dental.

Abstract

Introduction. Probiotics are live microorganisms which when administered in adequate amounts will provide a benefit to the host; will help create a healthy environment of the mouth to prevent the development of opportunistic infections, maintaining a balance of oral microbiota. There is evidence that the probiotic *Streptococcus salivarius* M18 y K12 (Therabreath)R has proven effective in reducing the colonization of *Streptococcus mutans* responsible for the genesis of dental caries microorganism. **Objective.** The efficacy of the probiotic colonization by *Streptococcus salivarius* M18 y K12 (Therabreath)R in the count decreased colony forming units of *Streptococcus mutans*. **Method.** 30 students aged between 24 to 30

years old of the Maestría en Ciencias Odontológicas de la Universidad Autónoma de Coahuila Unidad Torreón; through analytical, experimental, longitudinal, prospective study. They used the probiotic *Streptococcus salivarius* M18 y K12 (Therabreath)R as a mouthwash, an envelope in the morning and one at night on the first day, an envelope each morning on days 2 to 6, and on the morning and another in the evening on day seven. The efficacy of probiotic was measured by counting technique CFU/ml of *Streptococcus mutans* in three days, before the use of probiotic (basal), at 8 and 28 days after use. **Results.** The use of probiotic *Streptococcus salivarius* M18 y K12 (Therabreath)R decreased counting colony forming units of *Streptococcus mutans* (CFU/ml) at the time of 8 and 28 days with a statistical difference of $p < 0.05$ with respect to the basal sample, the percentage of effectiveness of the colonization of probiotic *Streptococcus salivarius* M18 y K12 (Therabreath)R was higher (84 %) at 8 days to 28 days (72%). **Conclusion.** The use of probiotic *Streptococcus salivarius* M18 y K12R is effective to decrease the count of colony forming units of *Streptococcus mutans*, so that option is recommended as therapy to prevent dental caries.

Descriptor: *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mutans*, recolonización

Keyword: *Streptococcus salivarius*, *Streptococcus mutans*, recolonization

Aldo Iván Guzmán de Hoyos*
Sandra Lisette Huerta Orozco**
Óscar Rodríguez Villarreal***
Cecilia Hernández Morales****
María de Lourdes Saldoval Rivas*****
María de la Paz Holguín Santana*****

*Alumno. Autor responsable

**Alumna

***Director de la Facultad de Odontología

****Jefa de laboratorio de Microbiología Oral-PT

*****Catedrática Investigadora

*****Coordinadora área de Posgrados

MAESTRÍA EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE COAHUILA, UNIDAD TORREÓN

Guzmán, H.A.I., Huerta, O.S.L., Ridríguez, V.O., Hernández, M.C., Sandoval, R.M.L., Holguín, S.M.P. Eficacia de la recolonización por parte del probiótico *Streptococcus salivarius* en la disminución del *Streptococcus mutans*. Oral Año 16. Núm. 50. 2015. 1186-1190

Recibido: Agosto, 2014. Aceptado: Diciembre, 2014.

Oral. Año 16 No. 50, Abril 2015.

Introducción

La caries dental es una enfermedad multifactorial que se encuentra afectando a más del 90% de la población mundial, y aunque los esquemas preventivos han cambiado y aumentado en los últimos 20 años siguen siendo la afección oral más común en niños.¹

En 1960 Paul H. Keyes, propuso que la caries es una patología de etiología "multifactorial" demostró que cuando existían los factores adecuados para que se estableciera el complejo Huésped-Microorganismo-Sustrato se producía la enfermedad.²

Los diferentes métodos y terapias preventivas para la caries dental han cambiado a lo largo del tiempo ellos incluyen entre otros, la utilización de fluoruros, selladores de fosetas y fisuras así como esquemas de profilaxis y restauraciones preventivas sin embargo la utilización de estos no ha sido de gran impacto en la población mundial.^{3,4}

Los probióticos según la Organización Mundial de la Salud (OMS) son microorganismos los cuales al ser administrados en la cantidad adecuada le proporcionan un beneficio al huésped. Se han utilizado en la medicina preventiva para la colonización adecuada y restauración del ambiente de la microflora gastrointestinal resultando muy eficaces.⁵

En los últimos años se han descubierto e investigado algunos probióticos idóneos para la cavidad oral, el mecanismo de acción de estos es a base de una competitividad alimenticia con los microorganismos orales que son considerados patógenos, con esto se crea un ambiente oral ideal en el cual ha sido demostrado que disminuyen el riesgo de caries en los pacientes, al disminuir el recuento de *Streptococcus mutans* principal microorganismo involucrado en el desarrollo de la caries dental.⁶

Es por eso que se decidió realizar este estudio, para investigar si a través de la utilización de probióticos para la cavidad oral específicamente el *Streptococcus salivarius* M18 y K12R se puede llevar a cabo una reducción de los niveles de Unidades Formadoras de Colonias de *Streptococcus mutans*. El Objetivo general de este estudio fue determinar si existe una reducción en el número de UFC de *Streptococcus mutans*. La hipótesis propuesta fue: Existe una asociación entre la disminución del recuento de UFC de *Streptococcus mutans* y la utilización de probióticos *Streptococcus salivarius* M18 y K12R.

Caries Dental. La caries es un resultante de un desbalance de factores, Marsh en 1989 menciona que los carbohidratos sugieren cambios en la composición de la placa a través de ciertos microorganismos específicos los cuales son postulados como prerequisite para la formación de caries.^{7,8}

Así mismo menciona que si la caries es vista como un problema ecológico, este escenario puede ser descrito como el rompimiento de la homeostasis microbiana, por un consumo excesivo de carbohidratos, por un factor de estrés ambiental, el cual lleva a que predominen los microorganismos cariogénicos específicos.^{7,8}

Biofilm. La microflora en la cavidad oral es muy diversa se han detectado más de 700 especies diferentes.⁹

Estas bacterias tienen un papel importante en el mantenimiento de la salud oral y en la etiología de enfermedades orales en humanos. Sin embargo poco se sabe acerca del posible papel benéfico de las bacterias orales, mientras que el comportamiento dañino por parte de otras bacterias orales es muy bien conocido.¹⁰

Las comunidades del biofilm son estructuras complejas y dinámicas que se acumulan a través de un orden secuencial de colonización de múltiples bacterias orales. Una de las características más notables del biofilm de la cavidad oral es que la bacteria que crece en el biofilm generalmente expresa un fenotipo diferente a aquellas bacterias planctónicas, por momentos muchas especies bacterianas en el biofilm exhiben gran tolerancia a los antibióticos y a otros factores ambientales tales como el pH y el oxígeno.^{11,12}

Adhesión bacteriana. La adhesión bacteriana y la subsecuente colonización de las superficies dentales es el primer paso hacia la formación del biofilm dental.

La película dental es una película delgada que cubre al diente inmediatamente después de que este ha sido aseado y se origina de las proteínas salivales.^{13,14}

Las bacterias orales así como el *Streptococcus viridans* pueden colonizar la superficie dental por la unión al complejo proteínico de la película dental. El *Streptococcus gordonii* es de los colonizadores primarios en el biofilm dental, esta especie se une a las proteínas ricas en prolina que son del 25 al 30% de las proteínas en saliva.¹⁴

Probióticos. En el 2001 la OMS define a los probióticos como los conocemos actualmente "Microorganismos vivos los cuales al ser administrados en la cantidad adecuada le proporcionan un beneficio al huésped".

Aunque las observaciones que realizaron tanto Tissier como Metchnikoff referentes a los microorganismos benéficos fueron en el tracto gastrointestinal, hay que tomar en cuenta las similitudes que presentan la cavidad oral y el tracto gastrointestinal, de hecho la cavidad oral es la primera parte del tracto gastrointestinal, y el hecho de que en ella existan una gran cantidad de microorganismos hace referencia a que el entorno o ambiente que tiene la cavidad oral puede ser manipulado para llevar a cabo una colonización benéfica.¹⁵

***Streptococcus salivarius*.** Este microorganismo es de los colonizadores iniciales en la cavidad oral y la nasofaringe, está reportado que provee protección contra microorganismos patógenos en la garganta, así como en la otitis media.

El papel protector del *Streptococcus salivarius*, se debe en primer orden a la producción de salivaricina A2 y salivaricina B, que son dos péptidos antimicrobianos con actividades inhibitorias. Por lo que se considera como un microorganismo probiótico que favorece el crecimiento de bacterias "benéficas" e inhibe el crecimiento de bacterias patógenas en la cavidad oral.

Adhesión y colonización de los probióticos. El mecanismo de adhesión de los probióticos es un papel importante para la efectividad a largo plazo del efecto probiótico en los microorganismos.

A lo largo de diferentes estudios disponibles para el fenómeno de la adhesión hay dos modelos predominantes: El sistema hidroxapatita cubierta con saliva y la hidroxapatita cubierta con buffers, proteínas y otras sustancias.

Muchos autores han reportado que las habilidades de coagregación de las especies de lactobacilos les proporciona la capacidad de formar una barrera que previene la colonización de microorganismos patógenos debido a la producción de un microambiente alrededor de estos patógenos a los cuales se inhiben por la producción de sustancias de las especies lactobacilo.⁴⁷

El *Streptococcus salivarius* K12 es un probiótico con la capacidad de combatir infecciones. Produce dos potentes proteínas: el péptido bacteriostático salivaricina A y péptidos bactericida salivaricina B. Ambos se conocen como "sustancias inhibidoras similares a bacteriocina" o BLIS. Los estudios muestran salivaricina A y bacterias invasoras salivaricina B de ataque, mediante la colonización de la cavidad oral.

El proceso de colonización por parte del *Streptococcus salivarius* K12 evita que las bacterias patógenas se adhieran al huésped. Las moléculas del sistema BLIS salivaricina A y B salivaricina tienen como atacar estos patógenos. El *Streptococcus salivarius* K12 comunica con células específicas en la boca y mejoran el sistema inmune del cuerpo, también protege los oídos, la nariz, la boca y la garganta contra los diferentes patógenos.

En julio de 2008, Infection and Immunity publicaron un estudio que reveló BLIS K12 no sólo alteró las respuestas de los sistemas de defensa inmune y naturales del cuerpo, pero tras una investigación, determinaron que *Streptococcus salivarius* K12 también demostró un efecto sustancial en la adhesión y cualidades estructurales de los bronquiales epiteliales células. Los investigadores conjeturan estos atributos hacen de la asociación entre *Streptococcus salivarius* K12 y el hospedero más fuerte y ayuda a mantener las uniones estrechas de las células en las superficies epiteliales.

Probióticos y la caries dental. Se han realizado diferentes estudios con respecto a la reducción del *S. mutans* en la cavidad oral se han estudiado lactobacilos como el *L. rhamnosus*, *L. casei*, *L. reuteri*, los cuales han demostrado una reducción significativa en el recuento de *Streptococcus mutans*. Caglar y cols, reportaron una disminución significativa del recuento de *S. mutans*, después de 14 días consumiendo yogurt con *L. reuteri*.

La utilización de los probióticos para la reducción de las afecciones orales puede ser una alternativa interesante en la nueva generación de la prevención, la terapia probiótica ha demostrado ser segura disminuir el recuento de bacterias patógenas para la cavidad oral y además establecer un ecosistema oral sano disminuyendo la caries dental, afecciones periodontales y halitosis, los resultados son alentadores sin embargo,

se requiere una mayor cantidad de estudios para poder establecer un protocolo de utilización de probióticos como estrategia preventiva.^{17,18}

Material y método

Se seleccionaron 30 alumnos de la Universidad Autónoma de Coahuila Unidad Torreón de las diferentes acentuaciones de la Maestría en Ciencias Odontológicas, ambos géneros, de entre 24 y 30 años de edad.

A) Criterios de exclusión:

- Alumnos que se encuentren consumiendo probióticos.
- Alumnos que se encuentren tomando antibióticos 12 horas previos al estudio.
- Alumnos con enfermedades sistémicas.
- Alumnas embarazadas.

Se les otorgo a los alumnos participantes en este estudio un Consentimiento Informado.

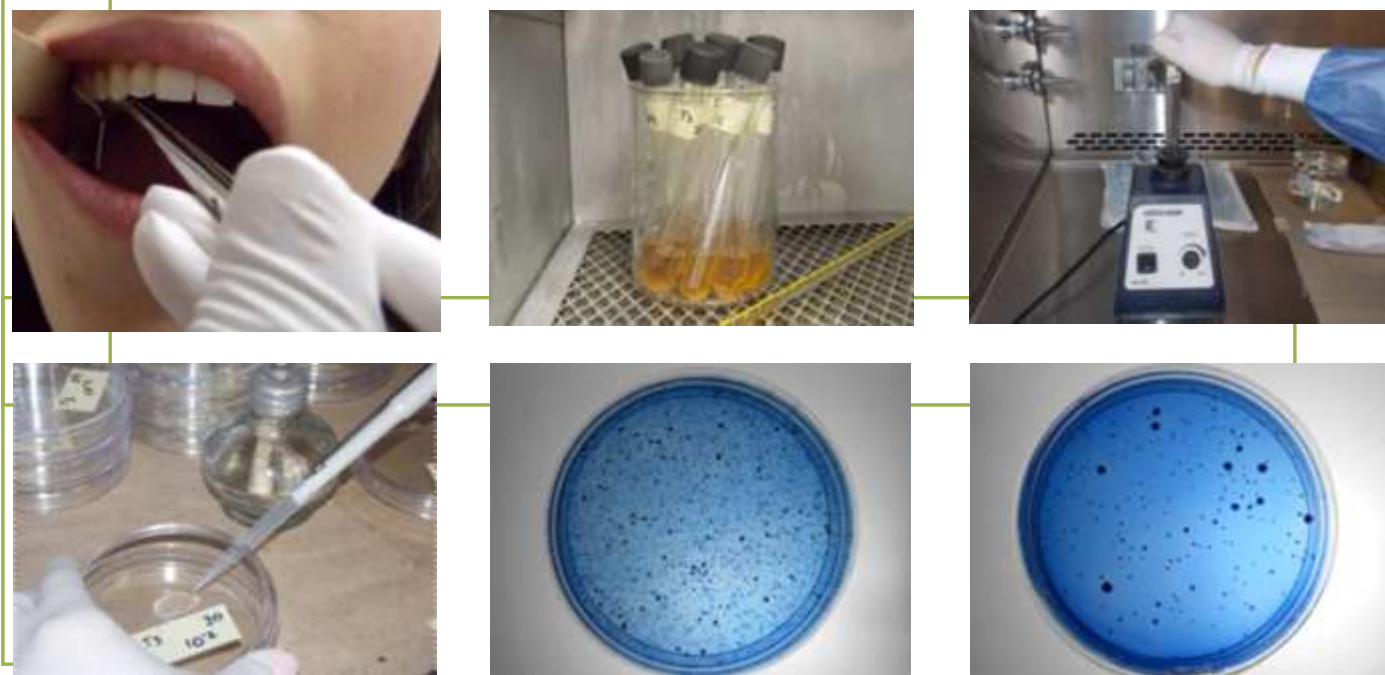
Preparación del probiótico *Streptococcus salivarius* M18 y K12 (Therabreath)R y modo de uso según indicaciones del fabricante. Se aplicó a cada alumno un colutorio con un sobre del probiótico en la mañana y otro en la noche el primer día, un sobre todas las mañanas en los días del 2 al 6, y un sobre en la mañana y otro en la noche en el día siete.

Pasos para su uso diario:

- a) Mezclar un sobre del tratamiento del probiótico en polvo en una taza con el equivalente aproximado a dos onzas de agua. Mezclar para disolver el polvo completamente. Dejar que la mezcla de probióticos se asiente mientras se realiza el paso b.
- b) Cepillar los dientes, lengua, y dentro de las mejillas, para preparar la boca para la colonización del probiótico M18 y K12.
- c) Enjuagar bien la boca con un trago de la mezcla del tratamiento probiótico durante 60 segundos. Escupir.
- d) Hacer colutorios con el remanente del enjuague por 30 segundos. Escupir.
- e) Si queda resto de la solución, utilizarlo para enjuagar la boca de nuevo. Cada sobre es una dosis completa y hay que utilizarlo por completo.

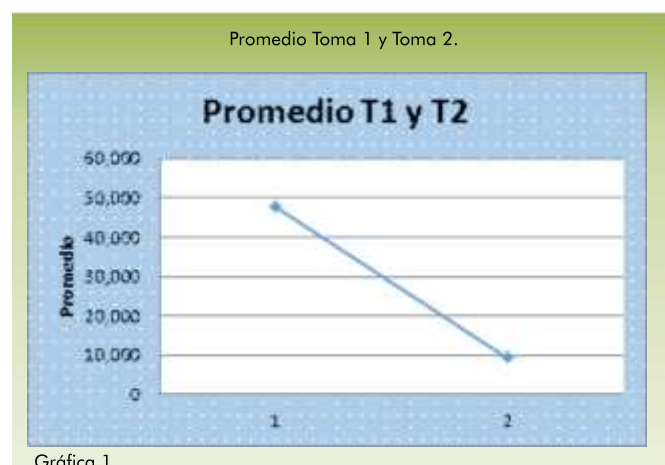
Toma de Muestra.

- Se formó un grupo de 30 alumnos.
- Se realizó la toma de muestra basal.
- Se tomó la segunda muestra a los ocho días de utilización del probiótico.
- Se tomó una tercera muestra a los 28 días de la toma del probiótico.
- Se realizó el recuento de Unidades Formadoras de Colonias.

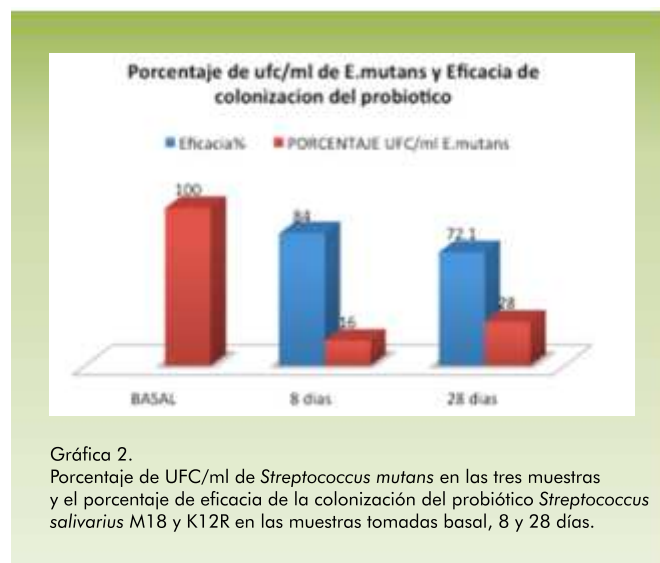


Resultados

El uso del probiótico Therabreath *Streptococcus salivarius* M18 y K12R disminuyó el recuento de Unidades Formadoras de Colonias del *Streptococcus mutans* (UFC/ml) al tiempo de ocho días (Gráfica 1) y mantuvo su estabilidad a los 28 días después de la aplicación del probiótico, como se muestra en la gráfica 2, con diferencia estadística de $p > 0.05$ a los 8 días y 28 días con respecto a la muestra basal.



Gráfica 1.



Gráfica 2.
Porcentaje de UFC/ml de *Streptococcus mutans* en las tres muestras y el porcentaje de eficacia de la colonización del probiótico *Streptococcus salivarius* M18 y K12R en las muestras tomadas basal, 8 y 28 días.

Discusión

Los resultados obtenidos en esta investigación coinciden con los encontrados por Caglar y cols,¹⁹ en cuanto a la disminución de bacterias cariogénicas debido al uso de probióticos para la cavidad oral, en nuestro estudio se aprecia una reducción en primera instancia a los ocho días y posteriormente se aprecia que se mantienen bajos los niveles de UFC de *Streptococcus mutans* por lo cual es posible que una recolonización haya tenido lugar evitando que haya una adhesión por parte de las bacterias cariogénicas, el mejor entendimiento del proceso carioso nos ha llevado a considerar métodos preventivos mucho más eficaces y que envuelvan una acción que modifique por completo el ambiente de la cavidad oral para que pueda proporcionar un ambiente mucho más benéfico para el huésped, sin embargo es necesario realizar estudios a un plazo mucho más largo para valorar adecuadamente una recolonización por parte de los probióticos.

Conclusiones

La caries dental por su alta prevalencia y su influencia en la salud general del individuo nos obliga a buscar nuevas estrategias para prevenir esta enfermedad.

El empleo de enfoques preventivos múltiples, entre ellos el uso de probióticos, nos ayudarán a crear un ambiente saludable de la boca para prevenir el desarrollo de enfermedades oportunistas, manteniendo un equilibrio de la microbiota oral.

La utilización del probiótico *Streptococcus salivarius* M18 y K12 (Therabreath)R es efectivo para disminuir el recuento de Unidades Formadoras de Colonias de *Streptococcus mutans*, lo que nos permite realizar una mejor estrategia preventiva para nuestros pacientes y con esto darles otras opciones de terapias preventivas que puedan ser de mayor utilidad, siendo estos cada vez menos invasivos.

Bibliografía

- 1.-Featherstone, John. The Science and practice of caries prevention, The Journal of the American Dental Association July 1, 2000 vol. 131 no. 7 887-899.
- 2.-Keyes, Paul. Discussion, J Dent Res 1962 41: 275.
- 3.-Guidelines on fluoride therapy, American Association of Pediatric Dentistry, 2008.
- 4.-Seleman, James., Owens, Barry., Johnson, William. Effect of Preparation Technique, Fissure Morphology, and Material Characteristics on the In Vitro Margin Permeability and Penetrability of Pit and Fissure Sealants, Pediatric Dentistry V 29 / NO 4 Jul / Aug 07.
- 5.-Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria, World Health Organization, Córdoba, Argentina. 1-4 October 2001.
- 6.-Hatakka, K., Ahola, A.J., Yli-Knuutila, H., Richardson, M., Poussa, T., Meurman, J.H., Korpela, R. Probiotics Reduce the Prevalence of Oral Candida in the Elderly a Randomized Controlled Trial, J Dent Res 2007 86: 125.
- 7.-Haute, J. Van. Role of Micro-organisms in Caries Etiology J dent Res 1994 73: 672.
- 8.-Marsh, P.D. (1989). Host defenses and microbial homeostasis: role of microbial interactions. J Dent Res 68(Spec Iss):1567-1575.
- 9.-Paster, B.J., Olsen, I., Aas, J.A., Dewhirst, F.E. (2006). The breadth of bacterial diversity in the human periodontal pocket and other oral sites. Periodontol 2000 42:80-87.
- 10.-Socransky, S.S., Smith, C., Haffajee, A.D. (2002). Subgingival microbial profiles in refractory periodontal disease. J Clin Periodontol 29:260-268.
- 11.-Kolenbrander, P.E., Andersen, R.N., Bleher, D.S., Eglund, P.G., Foster, J.S., Palmer, R.J. Jr. (2002). Communication among oral bacteria. Microbiol Mol Biol Rev 66:486-505.
- 12.-Bradshaw, D.J., Marsh, P.D., Watson, G.K., Allison, C. (1998). Role of *Fusobacterium nucleatum* and coaggregation in anaerobe survival in planktonic and biofilm oral microbial communities during aeration. Infect Immun 66:4729-4732.
- 13.-Rogers, J.D., Palmer, R.J., Kolenbrander, P.E., Scannapieco, F.A. (2001). Role of *Streptococcus gordonii* amylase-binding protein A in adhesion to hydroxyapatite, starch metabolism, and biofilm formation. Infect Immun 69:7046-7056.
- 14.-Gong, K., Mailloux, L., Herzberg, M.C. (2000). Salivary film expresses a complex, macromolecular binding site for *Streptococcus sanguis*. J Biol Chem 275:8970-8974.
- 15.-Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Evaluation of Health and Nutritional Properties of Probiotics in Food Including Powder Milk with Live Lactic Acid Bacteria American Córdoba Park Hotel, Córdoba, Argentina 1-4 October 2001.
- 16.-Celine Cosseau, Deirdre A., Devine, Edie Dullaghan, Jennifer L., Gardy, Avinash Chikamara, Shaan Gellatly, Lorraine L. Yu, Jelena Pistolic, Reza Falsafi, John Tagg, and Robert E.W. Hancock The Commensal *Streptococcus salivarius* K12 Downregulates the Innate Immune Responses of Human Epithelial Cells and Promotes Host-Microbe Homeostasis, Infection and immunity, Sept. 2008, p. 41634175.
- 17.-Ostengo, M.C., Nader-Macias, E.M. (2004). Hydroxylapatite beads as an experimental model to study adhesion of lactic acid bacteria from the oral cavity to hard tissues. Methods Mol Biol 268: 447452.
- 18.-Meurman, J.H. Probiotics: Do they have a role in oral medicine and dentistry? Eur J Oral Sci 2005;113:188-96.
- 19.-Caglar E., Kuscü, O.O., Kavaloglu, S.C., Kuvvetli, S.S., Sandalli, N. Dissolution of probiotics from a lozenge administered medical device and their possible effects on salivary mutans streptococci and lactobacilli. Int J Pediatr Dent 2008; 18: 3539.