

Niveles *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* spp. en saliva después del consumo de leche con xilitol en niños

Streptococcus mutans and *Lactobacillus* spp. levels in children's saliva after consumption of milk with added xylitol

Cecilia Hernández Morales,^{*,§} Claudia Alicia Meléndez Wong,^{**,§}

María de Lourdes Sandoval Rivas,[§] Mauricio Navarro Villalobos,[§] Yiseli Ibarra Montes.^{§§}

^{*}Jefe laboratorio de microbiología oral, ^{**}Coordinadora maestría en ciencias odontológicas, [§]Catedrático, ^{§§}Alumna

Facultad de Odontología. Unidad Torreón. Universidad Autónoma de Coahuila

Resumen

Introducción. Los *Streptococcus* y *Lactobacillus* son los productores de grandes cantidades de ácidos, resultando en una placa ácida que favorece la desmineralización dental. El xilitol ha demostrado ser un sustituto de azúcar efectivo en la prevención de la caries dental. Los microorganismos cariogénicos no metabolizan el xilitol, se ha demostrado puede inhibir el crecimiento de colonias de *S. mutans* y *Lactobacillus* sp. **Objetivo.** Determinar unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml) en saliva de *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* spp. en saliva de niños antes y después del consumo por 30 días de leche adicionada con xilitol. **Material y métodos.** Estudio analítico, prospectivo transversal. A 20 niños procedentes de una casa hogar. Se les dio a beber 250 ml de leche con xilitol (0.024 g/ml) durante 30 días; se determinó UFC/ml utilizando el método de placa vertida utilizando el agar mitis salivarius con batricina para *Streptococcus*, agar LBS para *Lactobacillus* antes y después del consumo de leche consumo de leche. **Resultados.** El uso de leche con xilitol redujo los niveles de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* spp (68 y 86 %) respectivamente en saliva después del consumo de la leche con xilitol. **Conclusiones.** Los resultados mostraron una reducción significativa de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* spp en la saliva después de 30 días del consumo xilitol ($p > 0.05$). El xilitol fue entonces eficaz como un sustituto de azúcar no cariogénico aceptado por los niños.

Palabras clave: caries, xilitol, *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* spp., niños.

Abstract

Introduction. *Streptococcus* and *Lactobacillus* produce large amounts of acids, resulting in an acidic plaque that causes dental demineralization. Xylitol has been demonstrated to be an effective sugar substitute that prevents dental caries. Cariogenic microorganisms are unable to metabolize xylitol; and therefore it inhibits growth of *S. mutans* and *Lactobacilli* spp. colonies. **Objectives.** To determine colony-forming units per milliliter (CFU/ml) of *S. mutans* and *Lactobacillus* spp. in children's saliva before and after the consumption of milk with added xylitol for 30 days. **Methods.** Prospective analytical cross sectional study. Twenty children from an orphanage were given to drink 250 mL of milk with added xylitol (0.024 g/ml) for a period of 30 days. Colony-forming units per milliliter (CFU/ml) were determined using pour plate method and mitis salivarius-bacitracin agar for *Streptococcus*, *Lactobacillus* Selection Agar (LBS) for *Lactobacillus*, before and after consumption of milk with added xylitol. **Results.** The consumption of milk with added xylitol reduced levels of *S. mutans* and *Lactobacillus* spp. (68 and 86%), respectively. **Conclusions.** The results demonstrated a significant reduction of *Lactobacillus* spp. and *S. mutans* in saliva after 30 days of xylitol ($p > 0.05$). Therefore, xylitol proved to be effective as a non-cariogenic sugar substitute for children.

Key words: dental caries, xylitol, *S. mutans*, *Lactobacillus* spp., children.

INTRODUCCIÓN

La caries dental definida por la Organización Mundial de la Salud (OMS)¹ como un proceso localizado de origen multifactorial que se inicia después de la erupción dentaria, causando el reblandecimiento de la estructura dental y evolucionando hasta la formación de una cavidad; es descrita también como una enfermedad infectocontagiosa asociada a la fermentación de azúcares por parte de las bacterias patógenas presentes, donde juega un rol fundamental *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* spp entre otras especies con alta variabilidad individual.²

El estado de salud oral en México muestra una gran diversidad con relación a la prevalencia de caries, a pesar de la gran similitud de los distintos factores como dietéticos y de higiene bucal en distintas regiones del país.³

La incidencia de *Streptococcus mutans* en la etiología de la caries dental ha sido demostrada por la producción de lesiones cariosas. Los estudios epidemiológicos han demostrado una relación directa entre el número de *Streptococcus mutans* y la presencia de la caries dental. Su metabolismo es fermentativo y producen esencialmente ácido láctico, su temperatura óptima de desarrollo es de $36 \pm 1^\circ \text{C}$.

Actualmente el recuento de *Streptococcus mutans* se usa como ayuda diagnóstica para seleccionar grupos de pacientes con riesgo de caries. Recuentos superiores a 100 mil UFC/ml de *Streptococcus mutans* en saliva, se consideran indicadores de riesgo de caries, y recuentos salivales más bajos concuerdan con una tendencia mínima a contraer una enfermedad.

Lactobacillus también llamados bacterias de ácido láctico, son un género de bacterias Gram positivas anaerobias aerotolerantes, denominadas así debido a que la mayoría de sus miembros convierte la lactosa y a otros monosacáridos en ácido láctico.

En la cavidad oral humana, los lactobacilos se aíslan principalmente en la saliva, el dorso de la lengua y las placas coronales, variando su concentración según el estado de salud oral, especialmente con la caries. Los lactobacilos se relacionan con la progresión de la lesión cariosa en corona y/o raíz. El alto grado de infección por lactobacilos ($>10^6$ UFC lactobacilos/ml en saliva), se relaciona con elevada actividad de caries y con la elevada ingestión de carbohidratos fermentables.⁴

El xilitol es un edulcorante que ha demostrado eficacia para prevenir las caries dentales. Tiene la misma dulzura y el volumen de la sacarosa, pero con una tercera parte menos de calorías aproximadamente el 2.4 Cal/g.⁵

Es un edulcorante de cinco carbonos poliol con efectos específicos, beneficiosos sobre la salud oral, que promueve la mineralización aumentando el flujo de saliva, que es un efecto común de todos polioles edulcorantes. Lo cual es único en el xilitol; es prácticamente no fermentable por las bacterias orales que contrarresta los bajos valores de pH en la cavidad oral.⁶

Además de no ser metabolizados por las bacterias de la vía oral, dando lugar a una caída de pH en el biofilm, el xilitol penetra en el citoplasma bacteriano y se acumula como xilitol 5-fosfato dentro de la célula. Esto perjudica la glucólisis y la producción de ATP, y dando como resultado la inhibición del crecimiento celular.⁷

El xilitol ya ha sido utilizado con éxito en pacientes con altos niveles de *Streptococcus mutans* y en muchas lesiones de caries, así como los sujetos con discapacidad física o mental, los pacientes de ortodoncia, y adolescentes.

Los recuentos de *Streptococcus mutans* pueden ser inhibidos después de cuatro semanas de consumo de xilitol, en primer lugar en el biofilm dental y luego en la saliva.

El xilitol fue aprobado por la *Food and Drug Administration* de Estados Unidos como un aditivo para alimentos de la dieta en 1963 y se ha utilizado ampliamente en el mercado en general desde mediados de 1970 y recomienda el uso en dosificación debe ser un mínimo de dos veces al día, que no exceda de ocho gramos al día.⁸

El objetivo de este estudio fue evaluar los niveles *Streptococcus mutans*, *Lactobacillus* en saliva después del consumo por 30 días de leche adicionada con xilitol en niños.

MATERIALES Y MÉTODO

Este estudio fue analítico transversal prospectivo; para llevarlo a cabo se seleccionaron 20 niños de cinco a 11 años de edad, de una casa hogar en la ciudad de Torreón, Coahuila a la cual se solicitó consentimiento informado y autorización para realizar el estudio.

Primero todos los niños recibieron instrucciones de higiene oral y se les pidió que una noche anterior realizar higiene bucal. Se tomaron dos muestras de saliva colectadas en una sola sesión bajo las mismas condiciones entre ocho y nueve de la mañana. (**Figura 1**). La primera muestra fue tomada sin estimular; en un vial de propileno estéril desechable con tapa de rosca, se trasladaron al laboratorio de microbiología oral de la Facultad de Odontología Unidad Torreón a 4°C para determinar unidades formadoras de colonias por mililitro de saliva (UFC/ml) de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* spp.

Durante 30 días se les dio en el desayuno y en la cena 250 ml de leche a una concentración de 0.012 g/ml de xilitol y se tomó una segunda muestra de saliva bajo las mismas condiciones de la primera muestra después de 30 días.

Determinación de unidades formadoras de colonias de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* spp

Se tomó un mililitro de muestra de saliva para realizar diluciones en nueve mililitros de solución salina estéril contenida en tubos de ensayo, la cual por medio de vórtex se homogenizó por un minuto, a partir de esta dilución se realizaron diluciones seriadas (10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4}) de cada dilución se tomó un mililitro para ser colocado en las cajas

Petri a las cuales se les adicionó el medio agar mitis salivarius Difco™ (**figura 2**) adicionado con bacitracina (0.05 %), estas cajas fueron mezcladas manualmente. Después de este procedimiento se esperó a que solidificaran para luego ser incubadas durante tres días a 37° C.

Se realizó el conteo de colonias azules multiplicando por factor de dilución. (**Figura 3**).

Para la determinación de *Lactobacillus* se realizó el mismo procedimiento utilizando medio LBS (*Lactobacillus* selection agar) también conocido como rosa agar utilizado para aislamiento y recuento de lactobacilos.

Los resultados se registraron en programa Excel y se realizó estadística descriptiva (promedio, desviación estándar, porcentaje) para hacer la diferencia estadística se efectuó el análisis de *t* de *student*.



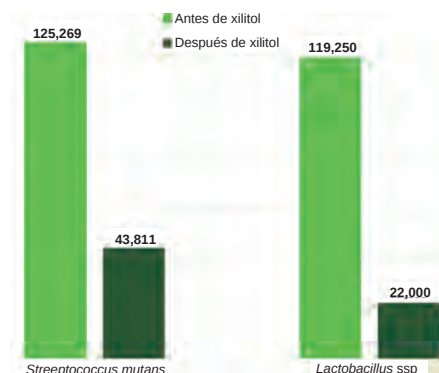
Figura 1. Toma de muestra (Saliva).



Figura 2. Muestras de saliva con medio de cultivo.



Figura 3. Colonias de *Streptococcus mutans*.



RESULTADOS

El promedio de edad fue de 8.3 años $\pm$ 2.59, 62 % del sexo masculino. Los resultados mostraron una reducción significativa en la saliva de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* ssp después de 30 días del consumo de xilitol ($p > 0.05$). Como muestra la **figura 4**.

El uso de leche con xilitol redujo los niveles de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* ssp (86 y 68 %) respectivamente en saliva después del consumo de la leche con xilitol.

DISCUSIÓN

Los factores de riesgo son factores o circunstancias que aumentan el riesgo de una persona para contraer una enfermedad; actualmente el recuento de *Streptococcus mutans* se usa como ayuda diagnóstica para seleccionar grupos de pacientes con riesgo de caries. En el presente estudio, los niños mostraron niveles altos de *Streptococcus mu-*

tans (38%) y *Lactobacillus* (17 %) en saliva, con riesgo alto de caries.

La cuantificación de *S. mutans* pueden ser indicativos de caries pero agregación de *Lactobacillus* y congregación de otras bacterias deben tomarse en cuenta, así como la dieta, hábitos higiénicos, disminución de flujo salival entre otros por lo que la eficacia del xilitol en la población estudiada fue 67.53 %.

Muchos estudios han evaluado al xilitol en pastas dentales, dulces, gomas de mascar, para la prevención de caries dental con buenos resultados, los usuarios de xilitol desarrollaron menos caries que los que recibieron placebo o ningún tratamiento.⁷⁻¹⁵

Castillo L. J. y cols. demostró que la leche con xilitol es bien aceptado por los niños pequeños a una concentración de cinco a 10 g al día, sin efectos adversos como diarrea; al igual que el presente estudio, que fue suministrado en leche (seis gramos diarios divididos en dos tomas) demostrando que el xilitol es bien aceptado, tolerado y reduce las UFC/ml del *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* en saliva.

El presente estudio muestra limitación en relación de que la muestra en estudio fue por conveniencia ya que los niños son los que permanecieron dentro de la casa hogar el tiempo del estudio motivo por lo cual tampoco se realizó un estudio caso-control.

CONCLUSIÓN

Los resultados mostraron una reducción significativa del nivel de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* spp en saliva después del consumo por 30 días de leche adicionada con xilitol en niños. El xilitol fue entonces eficaz como un sustituto de azúcar no cariogénico aceptado por los niños.

BIBLIOGRAFÍA

1. Palomer L. Caries dental en niño. Una enfermedad contagiosa. *Revista Chilena de Pediatría* 2006; 77(1): 56-60.
2. Panesso Suescún Ernesto A., Calle Arroyave María C, Meneses Gómez Edwin J. Salud bucal y xilitol: usos y posibilidades en caries y enfermedad periodontal en poblaciones «PEPE». *Rev Univ. salud.* 2012; 14(2).
3. Aguilera Galaviz L, Bernal Padilla P, Aguilar Rodríguez P. y cols. Niveles de *Streptococcus Mutans* y Prevalencia de Caries Dental en una población de escolares de la zona urbana de la ciudad de Zacatecas. *Rev Asoc Dent Mex* LXI(3): 85-91.
4. Liébana Ureña J. y Prats Pastor G. *Microbiología Oral* 2.^a Ed. MCGraw-Hill Interamericana 2002. pp. 567-69.
5. Castillo LJ., Milgrom P, Codwell SE, Castillo R, Lazo R. Children's acceptance of milk with xylitol or sorbitol for dental caries prevention. *BMC Oral health.* Julio 2005, 5:6.
6. E. Soderling, E, Isokangas P, Pienihäkkinen K, Tenovu J. Influence of Maternal Xylitol Consumption on Acquisition of Mutans Streptococci by Infants. *J Dent Res.* 2000, 79(3): 882-87.
7. Alanen P, Isokangas P, Gutmann K. Xylitol candies in caries prevention: result of a field study in Estonian Children. *Community Dent Epidemiol* 2000; 28(3): 218-224.
8. Gales MA, Nguyen TM. Sorbitol compared with xylitol in prevention of dental caries. *Ann Pharmacother* 2000; 34: 98-100.
9. Makinen KK, Bennett CA, Hujoel PP, et al. Xylitol chewing gums and caries rates: a 40-month cohort study. *J Dent Res.* 1995; 74: 1904-13.
10. Makinen KK, Hujoel PP, Bennett CA, et al. Polyol chewing gums and caries rates in primary dentition: a 24-month cohort study. *Caries Res.* 1996; 30: 408-17.
11. Makinen KK, Pemberton D, Makinen PL, et al. Polyol-combinant saliva stimulants and oral health in Veterans Affairs patients an exploratory study. *Spec Care Dent.* 1996; 16:104-15.
12. Isokangas P, Alanen P, Tiekso J, et al. Xylitol chewing gum in caries prevention: a field study in children. *J Am Dent Assoc.* 1988; 117: 315-20.
13. Scully C, Greenman J, Porter S, et al. Anti-caries efficacy of xylitol and sodium fluoride in dentifrices [abstract]. *Int Dent J.* 1995; 45: 325.
14. Sintes JL, Escalante C, Stewart B, et al. Enhanced anticaries efficacy of a 0.243% sodium fluoride/10 % xylitol/silica dentifrice: 3-year clinical results. *Am J Dent.* 1995; 8: 231-35.
15. Trahan L. and C. Mouton, C. Selection for *Streptococcus mutans* with an Altered xylitol Transport Capacity in Chronic Xylitol consumers. *J Dent Res.* 1987; 66(5): 982-88.