

## Probióticos como bacterioterapia para fortalecer capacidad buffer y disminuir la viscosidad de saliva en pacientes pediátricos, Facultad de Estomatología de la UASPL

*Probiotics such as bacteriotherapy to strengthen buffer capacity and decrease the viscosity of saliva in pediatric patients, Faculty of Stomatology of the UASPL*

Y Hernández-Molinar,\* S Aranda-Romo,\* CE Dávila-Pérez,\* M P Goldaracena-Azuara.\*

\*Profesora de la Facultad de Estomatología, UASLP.

Universidad Autónoma de San Luis Potosí. México.

### Resumen

**Introducción.** La saliva ha tomado un lugar preponderante en la investigación de la salud integral del paciente para el diagnóstico clínico del estado de salud general y bucodental de la población. La microbiología de saliva, es útil para el diagnóstico preventivo y la detección precoz del riesgo de presentar caries y otras alteraciones. Los análisis de *S. mutans* en saliva permitieron demostrar que los niños con índices elevados de *Streptococcus mutans* y de *Lactobacillus* en la saliva desarrollaron caries, involucrando capacidad buffer y el flujo salival. **Objetivo.** Conocer si las características de saliva, viscosidad, capacidad buffer antes y después de la ingesta de probióticos, es capaz de producir cambios de forma directa en la microbiota oral, reduciendo patógenos y mayor capacidad buffer y mejor salud dental. **Material y métodos.** Vasos estériles, potenciómetro, agua destilada, papel absorbente, pipeta. Soluciones buffers de pH 4, pH 7 y pH 10. Muestras de saliva. Termómetro, calibrar el potenciómetro con soluciones buffers, cinco minutos, tomar la lectura, lavar el potenciómetro. **Resultados.** De los 48 pacientes incluidos, 16 fueron hombres y 32 mujeres, la edad promedio fue de 10.92 años, todos los sujetos completaron el estudio. Se analizó antes y después de la ingesta de probióticos, teniendo cambios importantes: disminución de viscosidad salival e incremento de la capacidad buffer salival. **Conclusiones.** El uso de probióticos en período corto disminuye la viscosidad e incrementa la capacidad buffer salival. Es recomendable continuar con estudios clínicos aleatorios para establecer las combinaciones de cepas de probióticos más adecuados, así como la identificación de vehículos y dosis ideales para uso.

**Palabras clave:** placa dentobacteriana, caries dental, probióticos, viscosidad salival, capacidad buffer salival.

### Abstract

**Introduction.** Saliva has taken a leading place in the investigation of the patient's integral health for the clinical diagnosis of the general and oral health status of the population. The microbiology of saliva is useful for preventive diagnosis and early detection of the risk of caries and other alterations. The analysis of *S. mutans* in saliva allowed to demonstrate that children with high rates of *Streptococcus mutans* and *Lactobacillus* in saliva developed caries, involving buffer capacity and salivary flow. **Objective.** Know if the characteristics of saliva, viscosity, buffer capacity before and after the intake of probiotics, is capable of producing changes directly in the oral microbiota, reducing pathogens and greater buffer capacity and better dental health. **Material and methods.** Sterile cups, potentiometer, distilled water, absorbent paper, pipette. Buffers solutions of pH 4, pH 7 and pH 10. Saliva samples. Thermometer, calibrate the potentiometer with buffers solutions, five minutes, take the reading, wash the potentiometer. **Results** Of the 48 patients included, 16 were men and 32 women, the average age was 10.92 years, all subjects completed the study. It was analyzed before and after the intake of probiotics, having important changes: decreased salivary viscosity and increased salivary buffer capacity. **Conclusions** The use of short-term probiotics decreases viscosity and increases salivary buffer capacity. It is advisable to continue randomized clinical studies to establish the most suitable combinations of probiotic strains, as well as the identification of vehicles and ideal doses for use.

**Key words:** dentobacterial plaque, dental caries, probiotics, salivary viscosity, salivary buffer capacity.

## INTRODUCCIÓN

El sistema estomatognático cumple funciones indispensables para la vida, entre las cuales se encuentran la masticación, formación del bolo alimenticio por medio de la saliva, deglución, desarrollo del lenguaje, entre otros. La lengua forma el piso de la cavidad bucal, compuesta por músculos, sirve para manipular los alimentos para la masticación, para la deglución y el lenguaje. El líquido que producen las glándulas salivales es denominado saliva, y su secreción está sujeta al sistema nervioso.<sup>1</sup>

La saliva es un fluido presente en la cavidad oral compuesto en un 99% por agua y en una mínima cantidad por electrolitos, moléculas orgánicas de tamaño diminuto como lo son hormonas y glucosa, además de proteínas como inmunoglobulinas, enzimas y glicoproteínas cuya cantidad y calidad influyen en la capacidad que tiene la saliva de ejercer diversas funciones a lo largo del día.<sup>2</sup> Es un fluido que además de estar compuesto por las secreciones de las glándulas salivales mayores y menores, contiene una mezcla de exudado gingival, microorganismos y sus productos, células epiteliales, exudado nasal y restos alimenticios.<sup>3</sup> Bioquímica: está compuesta por proteínas, fosfato y bicarbonato que le confieren la capacidad amortiguadora o de tampón, glicoproteínas ricas en prolina y mucina que le dan la viscosidad y la capacidad de lubricar los órganos dentales; ofrece también una acción antibacteriana al contener histaminas, estaterinas, mucinas, lisozimas, lactoferrinas, lactoperoxidasa, defensinas, aglutininas, cistatinas y catelicioinas.<sup>4</sup> Ayuda a formar el bolo alimenticio por medio de las mucinas y la digestión a través de amilasas, como la amilasa salival que inicia la digestión del almidón en la boca, lipasas y proteasas.<sup>1</sup> La cantidad y calidad de la saliva varía de persona a persona y depende de la edad, sexo, dieta, ritmo circadiano, duración y tipo de estímulo, entre otras cosas, como enfermedades y medicamentos. Al variar las proporciones de compuestos presentes en la saliva de persona a persona, es normal que exista un cambio entre el poder de la saliva para ejercer sus funciones en la cavidad oral, entre ellas tenemos la remineralización por medio de péptidos ricos en proplina, calcio y fosfatos, la lubricación, su rol en la digestión<sup>5</sup> y su capacidad amortiguadora que es uno de los factores que influyen en el desarrollo de la caries dental, siendo la encargada de equilibrar el pH bucal al neutralizar los ácidos producidos por los microorganismos acidogénicos por medio de la acción de iones inorgánicos como el calcio, hidroxilos, fosfato y fluoruros.<sup>6</sup> El estudio de la saliva ofrece una herramienta para tener un diagnóstico individualizado y certero al momento de la consulta, además es auxiliar para la concientización del paciente respecto a su estado de salud y las características que pudieran hacerlo propenso a desarrollar una patología, en este caso una capacidad amortiguadora baja, cuyos valores fuera de lo normal pueden contribuir al proceso carioso.<sup>7</sup> Los probióticos son microorganismos que ayudan al cuerpo humano, en años recientes han tomado importancia debido a la utilidad que demuestran como suplemento alimenticio para el balance de la microflora tanto en el intestino como en la cavidad oral.<sup>8</sup>

La odontología ha buscado reparar los daños causados

por múltiples patologías, la más común la caries dental, de origen multifactorial, que para su desarrollo requiere la interacción de elementos como lo son la resistencia del huésped, las características de la saliva, las relaciones microbianas, así como el tiempo en el que se precisa lo anterior.<sup>9</sup> La razón que complica su prevención recae en su etiología múltiple que favorece la proliferación y que su medio de desarrollo es la cavidad oral, un lugar sujeto a cambios biológicos y de pH. En años recientes, la cultura de la prevención ha ido en ascenso junto con programas que se enfocan en la nutrición y en la higiene oral para prevención de la caries dental, hoy en día el estudio de la saliva es una vía prometedora que ofrece un método no invasivo para la evaluación individual del paciente y la susceptibilidad que tiene a padecer diversas enfermedades, entre ellas la caries dental.<sup>10</sup> Los elementos que componen la saliva son varios y entre las funciones que aporta está la lubricación, acción, antimicrobiana, mantenimiento de la integridad de la mucosa, limpieza, digestión y su capacidad de mantener el equilibrio en el pH salival conocido como capacidad amortiguadora o sistema buffer.<sup>11</sup> Este estudio busca examinar la viscosidad y capacidad amortiguadora salival y el vínculo de estos elementos con la experiencia de caries en el paciente. De acuerdo con la Organización Mundial de la Salud, los probióticos son "microorganismos vivos que cuando son administrados en cantidades adecuadas confieren un beneficio para la salud del huésped".<sup>12</sup> Los probióticos como suplementos alimenticios y las mejoras que puede traer al cuerpo humano, en cuanto al incremento de lactobacilos los cuales contribuyen al mantenimiento de la salud al estimular la inmunidad natural y contribuir al balance de la microflora, algunas especies de lactobacilos han sido evaluadas previamente como probióticos potenciales para la prevención de caries dental, debido a su supuesta actividad inhibidora de *Streptococcus cariogénicos* y por el hecho de ser considerados seguros para el consumo humano,<sup>13</sup> por lo que se piensa que la ingesta regular de éstos podrían, además de mantener el equilibrio de microorganismos en la cavidad oral, proporcionar condiciones para el aumento de la capacidad amortiguadora, la cual es de suma importancia para conservar el pH y la integridad de los tejidos que se encuentran en boca.

**Objetivos:** analizar muestras saliva para establecer si su viscosidad y capacidad amortiguadora se modifican con la ingesta de probióticos. Medir la viscosidad y capacidad amortiguadora en un mismo individuo antes y después de seis días ingiriendo probióticos.

**Justificación:** la saliva representa un componente fundamental del sistema estomatognático y su estudio es campo de oportunidades para comprender mejor sus características y funciones. El diagnóstico es una parte esencial de la consulta odontológica donde el profesional de la salud detecta los problemas que el paciente sufre, y los soluciona por medio de tratamientos restauradores, que son el último nivel de atención, subestimando la prevención y promoción. En sectores de la población donde la economía es baja les resulta complicado el acudir al odontólogo y llegan a perder órganos dentales, además de sufrir de otras patologías que ponen el riesgo su integridad, por eso la importancia de realizar análisis salivales los cuales pueden detectar la capacidad amortiguadora del

paciente y, por lo tanto, la susceptibilidad de desencadenar patologías, como caries dental y enfermedad periodontal, que actualmente son consideradas pandémicas por la OMS. En años recientes se han estudiado los probióticos y su función en el tracto gastrointestinal, por lo que se planteó si estos podrían modificar las características de la saliva, aumentando la capacidad de esta de neutralizar los ácidos presentes en boca y así reducir uno de los factores que provocan caries dental.

### MARCO TEÓRICO

La saliva está compuesta en un 99% por agua, mientras que el 1% restante es una mezcla de moléculas orgánicas e inorgánicas,<sup>11,14</sup> además de numerosos electrolitos y proteínas como inmunoglobulinas, enzimas y glicoproteínas;<sup>2</sup> proviene en un 93% de las glándulas salivales mayores y en un 7% de las menores, es estéril alemerger de las glándulas salivales pero al mezclarse con los restos alimenticios, microorganismos y otras sustancias presentes en la cavidad oral, deja de serlo. Las secreciones provenientes de las glándulas salivales son de diferentes composiciones dependiendo de la glándula, siendo las secreciones de las glándulas parótidas principalmente serosas y de las glándulas menores mucosas.<sup>11</sup> La secreción diaria fluctúa entre los 500 y 700 ml, cuando se encuentra en reposo va de 0.25 a 0.35 ml por minuto, y cuando se somete a un estímulo farmacológico, mecánico, olfatorio o gustativo se incrementa su producción y secreción de saliva variando de 1 a 3 ml por minuto.<sup>7</sup> (**Figura 1**)

Las concentraciones de los elementos presentes en la saliva pueden variar de un individuo a otro,<sup>2</sup> así como los rangos de flujo salival, dependiendo de las circunstancias, tales como la hora del día, proximidad a ingerir alimentos, y estímulos a los que estamos sometidos.<sup>14</sup> Cinco de las principales funciones que desempeña la saliva en la cavidad oral son: lavado, eliminación de residuos por medio del flujo salival, lubricación para ayudar a constituir el bolo alimenticio y favorecer la deglución; además de mantener la integridad de los tejidos duros por medio de minerales necesarios para su remineralización, y por último, utilizar su capacidad amortiguadora para equilibrar los niveles de pH en la cavidad oral.<sup>3</sup>

La capacidad amortiguadora de la saliva es la resistencia que esta ofrece al cambio de pH, actúa neutralizando los ácidos, mitigando así las variaciones drásticas en la cavidad oral.<sup>6,9,14</sup> Se le adjudica una concentración mayor de bicarbonato a una capacidad amortiguadora alta, dado que este contribuye en un elevado porcentaje y a medida de que el flujo salival incrementa, así también la concentración de iones de bicarbonato.<sup>2,6</sup> Por lo que un flujo salival disminuido se asocia con problemas para neutralizar los ácidos, y por consiguiente, a un aumento en la susceptibilidad a padecer caries dental.<sup>7</sup> Estudios anteriores han encontrado que la capacidad amortiguadora de la saliva es usualmente mayor en personas sin caries, por lo que su correlación resulta de gran importancia.<sup>9</sup> El pH salival de la cavidad oral se encuentra dentro de un rango de 6.7 a 7.5, pudiendo tener variaciones dependiendo del tipo de clima, hora del día, posición del cuerpo, tamaño de glándulas, hora de la última comida y estímulos presentes en ese momento.<sup>14</sup>

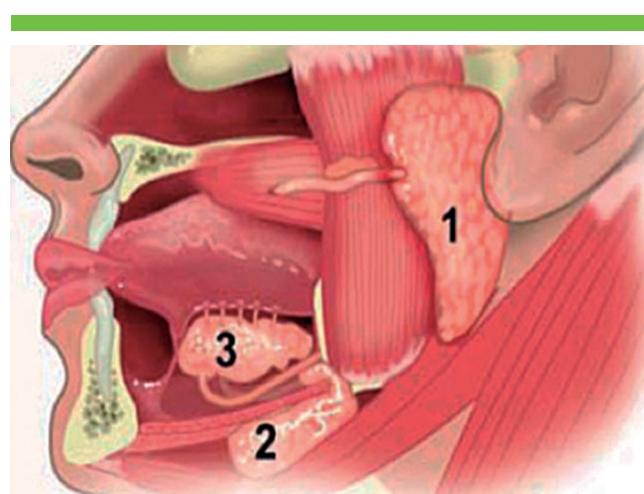


Figura 1. Esquema de glándulas salivales.

Los probióticos son microorganismos vivos usados como suplementos alimenticios que pueden beneficiar al huésped e influenciar el balance entre las especies de flora del comensal en la cavidad oral como en el resto del sistema digestivo.<sup>8</sup> En estudios *in vitro* se ha demostrado que el *Lactobacillus casei* inhibe el crecimiento de varios microbios patógenos, como es el caso del *Streptococcus mutans*; sin embargo, su aplicación clínica permanece incierta.<sup>15</sup>

Son múltiples sus funciones: aporta lubricación, acción antimicrobiana, mantenimiento de la integridad de la mucosa, limpieza, digestión, y su capacidad de mantener el equilibrio en el pH salival.

### MATERIAL Y MÉTODOS

Investigación longitudinal, en 48 pacientes de la Clínica de Estomatología de la UASLP, en la primera etapa se realizó una entrevista a los pacientes por medio de un instrumento de estudio de datos personales, antecedentes patológicos y no patológicos, tipo de dieta y se explicó en qué consistía la investigación, al finalizar se les pidió firmar una carta de consentimiento a los padres, se le solicitó que firmara la carta de consentimiento en representación del menor. Se levantaron los índices de CPO y CEO de acuerdo con las recomendaciones de la OMS por medio de un odontograma. Se excluyeron pacientes que estuvieran tomando probióticos o estuvieran bajo tratamiento con antibióticos, anticonvulsivos, antihistamínicos, diuréticos, analgésicos, pacientes con enfermedades crónico degenerativas. Aprobación del Comité de Bioética e investigación de la Facultad de Estomatología, UASLP (CEI-FE-043016).

A cada paciente se le dio una caja (**figura 2**) de probióticos Lactiv con seis sobres de 1 g de polvo, cada uno contiene *Lactobacillus*; *Acidophilus*, *Casei*, *Ramnosus*, *Plantarum*, *Bifidobacte-*

*rium infantis* y *Streptococcus thermophilus*, con la indicación de mezclar el sobre con un poco de agua e ingerirlo en ayunas, de preferencia a la misma hora durante seis días seguidos y que al séptimo día volvieran para la segunda etapa de la investigación.

La saliva fue recolectada entre las 9 am y las 12 pm, dependiendo de la hora que llegara el paciente, se les dio un frasco de 50 ml con tapa para que escupieran hasta llegar a los 10 ml de muestra.

Se llevaron las muestras para su análisis al laboratorio, donde en una gradilla se pusieron 48 tubos marcados con un plumón para identificarlos, de cada muestra se tomaron 300 ml de saliva con una pipeta y se depositaron en los frascos para muestras correspondientes. La revisión de la viscosidad fue por medio visual, mediante la pipeta de Ostwald para una viscosidad baja, media o alta. Se prepararon dos reactivos, para preparar el primero se puso en un matraz balón de fondo plano 50 mg de púrpura de bromocresol, al cual se le añadieron 0.4 ml de una solución de hidróxido de sodio al 0.5 N y agua destilada hasta llegar a los 50 ml. Para el segundo reactivo se colocaron en un matraz balón de fondo 50 ml de ácido clorhídrico y 49.995 ml de agua destilada. A cada frasco se le puso una gota del reactivo de púrpura de bromocresol por medio de un gotero y con la ayuda del agitador se mezcló, después a cada muestra se le añadió 50 ml lo equivalente a una gota del reactivo de ácido clorhídrico hasta que cambió el color de púrpura a amarillo, se estableció su capacidad amortiguadora dependiendo de cuántas gotas se le agregó el ácido clorhídrico para cambiar el pH salival de cada individuo. De 0 a 3 veces se consideró una capacidad amortiguadora baja, de 4 a 6 gotas media, de 7 a 9 gotas alta, y de 10 o más gotas como muy alta. A los siete días volvieron los pacientes y se aplicó el mismo procedimiento para la recolección de muestras, se llevaron al laboratorio y se analizaron. (**Figuras 3, 4, 5 y 6**)

## RESULTADOS

La investigación en 48 pacientes odontopediátricos de la Facultad de Estomatología de la UASLP, sin discriminación de edad, sexo, ni motivo de consulta, se les informó sobre el objetivo y finalidad de la investigación, y participaron los que aceptaron y se comprometieron a seguir las indicaciones de la ingesta de probióticos. Se registró la viscosidad de la saliva antes del consumo de probióticos, presentándose 62.5% muy viscosa y 37.5% regular y después cambios observados en la viscosidad de la saliva.

Después de la ingesta de probióticos, a la semana se tomó muestra de saliva y se registró la viscosidad, obteniendo un 20.8% mayor viscosidad, 45.8% viscosidad regular y el 33.3% poca viscosidad. Se observaron cambios importantes después, disminuyendo la viscosidad, lo que reduce la posibilidad de formación y adhesión de la placa dentobacteriana. En lo que se refiere a la capacidad buffer/amortiguadora, es una estrategia de prevención, en años recientes la cultura de la prevención ha ido en ascenso junto con programas que se enfocan en la nutrición y en la higiene oral para prevención de la caries dental. Sistema buffer/capacidad amortiguadora antes de la toma se obtuvo un 58.3% con una capacidad baja y 41.7% con una capacidad media, después un



Figura 2. Esquema de glándulas salivales..



Figura 3. Análisis de capacidad buffer muy alta. Número de gotas requeridas. A. Una; B. Dos; C. Tres; D. Cuatro; E. Cinco; F. Seis; G. Siete; H. Ocho; I. Nueve. (50µL)

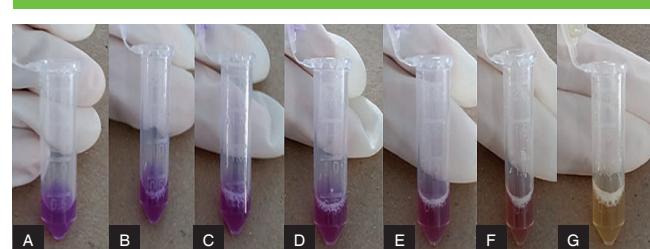


Figura 4. Análisis de la capacidad buffer alta. Número de gotas requeridas: A. Una; B. Dos; C. Tres; D. Cuatro; E. Cinco; F. Seis; G. Siete. (50µL)

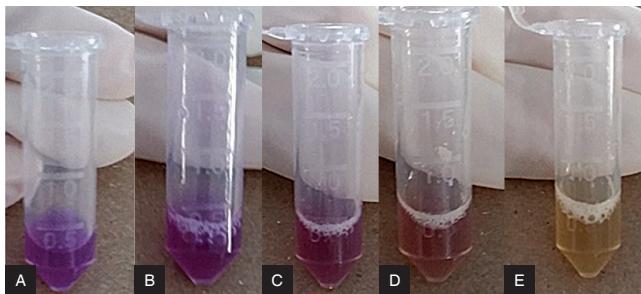


Figura 5. Análisis de la capacidad buffer media.

Número de gotas requeridas: A. Una; B. Dos; C. Tres; D. Cuatro; E. Cinco. (50 $\mu$ L)



Figura 5. Análisis de la capacidad buffer baja.

Número de gotas requeridas: A. Una; B. Dos; C. Tres. (50 $\mu$ L)

50% una capacidad buffer o amortiguadora alta, 29.2 muy alta, y media el 20.8%. La Organización Mundial de la Salud propone que los probióticos son "microorganismos vivos que cuando son administrados en cantidades adecuadas confieren un beneficio para la salud del huésped".<sup>12,16</sup> En años recientes se ha planteado el rol que juegan los probióticos como suplementos alimenticios y las mejoras que puede traer al cuerpo humano en cuanto al incremento de lactobacilos, los cuales contribuyen al mantenimiento de la salud al estimular inmunidad natural y balance de la microflora, algunas especies de lactobacilos han sido evaluadas previamente como probióticos potenciales para la prevención de caries dental, por actividad inhibidora de *Streptococcus* cariogénicos y son seguros para el consumo humano.<sup>13,15,17</sup>

## CONCLUSIÓN

La viscosidad salival entre antes y después del consumo de probióticos disminuyó, a lo cual se le pueden atribuir diversos factores; en cuanto a la capacidad amortiguadora se incrementó, el 62.1 de los pacientes con una alta viscosidad tuvieron una capacidad buffer baja antes del tratamiento con probióticos. Posterior a la utilización de probióticos, solo un 2% de los sujetos permanecían con estas condiciones salivales (baja capacidad

buffer y alta viscosidad), el uso de probióticos como factor de cambio en las características salivales, sería necesario un estudio con un tiempo de desarrollo prolongado y una población mayor para esclarecer tal relación.

## REFERENCIAS

- Tortora G, Derrickson B. Introducción al cuerpo humano. 7<sup>a</sup> ed. México, Editorial Médica Panamericana, 2008.
- Gittings S, Turnbull N, Henry B, Roberts CJ, Gershkovich P. Characterization of human saliva as a platform for oral dissolution medium development. Eur J Pharm Biopharm. 2015; 91: 16-24.
- Villavicencio J, Arango MC, Ordoñez A, Contreras A, Villegas LM. Early childhood caries, salivary and microbiological aspects among 3 to 4-year-old children in Cali, Colombia. Eur Arch Paediatr Dent 2018; 19(5): 347-52.
- Shino B, Peedikayil FC, Jaiprakash SR, Ahmed Bijapur G, Kottayi S & Jose D. Comparison of Antimicrobial Activity of Chlorhexidine, Coconut Oil, Probiotics, and Ketoconazole on Candida albicans Isolated in Children with Early Childhood Caries: An In Vitro Study. Scientifica (Cairo) 2016; 2016: 7061587. doi: 10.1155/2016/7061587.
- Maeda EL, Sánchez RM, Verdugo RJ, Sánchez RA, Searcy R, Llodra JC. Flujo y capacidad amortiguadora salival en dos grupos de sujetos de 6 a 11 años de edad con bajo y alto índice de dientes cariados, perdidos y obturados. Univ Odontol 2010; 29(63): 77-82.
- Negrón M. Microbiología estomatológica. 2<sup>a</sup> edición. Buenos Aires, Editorial Médica Panamericana; 2010.
- Sánchez PM. La saliva como fluido diagnóstico. Ed Cont Lab Clin 2013; 16: 93-108.
- Pinto D, Marques R, Valera MC, Bresciani E. Buffer capacity of saliva as a function of time after consumption of sugary, sugar-free and probiotic chewing gums. PBOCI 2015; 15(1): 153-61.
- Masdea L, Kulik EM, Hauser-Gerspach I, Ramseier AM, Filippi A, Waltimo T. Antimicrobial activity of *Streptococcus salivarius* K12 on bacteria involved in oral malodour. Arch Oral Biol 2012; 57(8): 1041-47.
- Çaglar E, Topcuoglu N, Ozbey H, Sandalli N, Kulekci G. Early colonization of *Lactobacillus reuteri* after exposure to probiotics. J Clin Pediatr Dent 2015; 39(4): 326-30.
- García R, Calderón A, Zaragoza MT, Cruz V, Moreno A. Asociación entre microorganismos y la capacidad amortiguadora de la saliva con la caries dental de escolares. Rev Odont Mex 2008; 12(4): 173-76.
- Aguirre AA, Narro FG. Perfil salival y su relación con el índice CEOD en niños de 5 años. Rev Odont Mex 2016; 20(3): 159-65.
- Llena-Puy C. La saliva en el mantenimiento de la salud oral y como ayuda en el diagnóstico de algunas patologías. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2006; 11: E449-55.
- Richa S, Satyawan D, Amrita C. Salivary mutans streptococci and lactobacilli modulations in young children on consumption of probiotic ice-cream containing *Bifidobacterium lactis* Bb12 and *Lactobacillus acidophilus* La5. Acta Odontol Scand 2011; 69(6): 389-94.
- Teanpaisan R, Piwat S, Tianviwat S, Sophatha B, Kampoo T. Effect of long term consumption of *Lactobacillus paracasei* SD1 on reducing mutans streptococci and caries risk: a randomized placebo-controlled trial. Dent J 2015; 3(2): 43-54.
- Caridad C. El pH, flujo saliva y capacidad buffer en relación a la formación de la placa dental. ODOUS 2008; 19(1): 25-32.
- Li-Chuan C, Chiung-Shing H, Li-Wei O, Shiao-Yu L. Probiotic *Lactobacillus paracasei* effect on cariogenic bacterial flora. Clin Oral Invest 2011; 15(4): 471-76.