

**UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA**

**NUEVOS TIEMPOS, NUEVAS IDEAS**

**ESCUELA DE POSGRADO**

**Dr. Luis Claudio Cervantes Liñán**



**MAESTRÍA EN INVESTIGACION Y DOCENCIA UNIVERSITARIA**

**TESIS**

**EFFECTO INHIBITORIO, IN VITRO, DE PASTAS DENTALES CON XYLITOL,  
SOBRE STREPTOCOCCUS MUTANS – OCTUBRE DEL 2019**

**PRESENTADO POR:**

**EMERSON ISAIAS AGUIRRE CALDAS**

**Para optar el grado de MAESTRO EN INVESTIGACION Y DOCENCIA  
UNIVERSITARIA**

**ASESOR DE TESIS: DR. LORENZO MENACHO ANGELES**

**2 0 1 9**

Dedicatoria

A todos los colegas que apuestan por la investigación.

Agradecimiento

A mi esposa, por su apoyo incondicional

## Índice

<b>Resumen</b>	viii
<b>Abstract</b>	ix
<b>Introducción</b>	x
<b>Capítulo I: Fundamentos Teóricos de la Investigación</b>	
1.1. Marco Histórico	11
1.2. Marco Teórico	15
1.3. Investigaciones	27
1.4. Marco Conceptual	35
<b>Capítulo II: Problema, Objetivos, Hipótesis y Variables</b>	
2.1 Planteamiento del Problema	
2.1.1. Descripción de la Realidad Problemática	36
2.1.2. Antecedentes Teóricos	38
2.1.3. Definición del Problema	39
2.2 Finalidad y Objetivos de la Investigación	
2.2.1. Finalidad	40
2.2.2. Objetivo General y Específicos	40
2.2.3. Delimitación del estudio	41
2.2.4. Justificación e importancia del estudio	41
2.3 Hipótesis y Variables	
2.3.1. Hipótesis Principal y Específicas	42
2.3.2. Variables e Indicadores	43
<b>Capítulo III: Método, Técnica e Instrumentos</b>	
3.1 Población y Muestra	45

3.2 Diseño utilizado en el Estudio	46
3.3 Técnica e Instrumento de Recolección de Datos	47
3.4 Procesamiento de datos	55
<b>Capítulo IV: Presentación y Análisis de los Resultados</b>	
4.1 Presentación de los Resultados	56
4.2 Contrastación de Hipótesis	62
4.3 Discusión de Resultados	66
<b>Capítulo V: Conclusiones y Recomendaciones</b>	
5.1 Conclusiones	72
5.2 Recomendaciones	73
BIBLIOGRAFIA	74
ANEXOS:	84

## Índice de Figuras

Figura 1 Halos de inhibición de <i>Streptococcus mutans</i> producido por geles dentales con xylitol (medido en mm) / según períodos de medición .....	61
--	----

## Índice de tablas

Tabla 1. Diámetros de los halos de inhibición producidos por Dentito Baby y Denture BB sobre Streptococcus mutans a las 24 horas (medido en mm) .....	56
Tabla 2. Diámetro de los halos de inhibición producidos por Dentito Baby y Denture BB sobre Streptococcus mutans a las 48 horas (medido en mm) .....	57
Tabla 3 Diámetros de los halos de inhibición producidos por Dentito Baby y Denture BB sobre Streptococcus mutans a las 72 horas (medido en mm) .....	58
Tabla 4 Medias de los halos de inhibición por Dentito Baby y Denture BB sobre Streptococcus mutans (en mm), a las 24, 48 y 72 horas .....	59
Tabla 5 Medias y desviaciones estandar de los halos de inhibición, según periodos de medición.....	62
Tabla 6 Prueba de muestra única .....	63
Tabla 7 Prueba de muestras independientes .....	64
Tabla 8 Análisis de sensibilidad .....	65

## Resumen

Se realizó una investigación “in vitro”, con la finalidad de determinar si dos pastas dentales (geles dentales) destinados a la higiene oral de los bebés, inhibían el crecimiento de *Streptococcus mutans*. La fase experimental se realizó en el Centro de Control Analítico de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos; el procedimiento fue realizado siguiendo el método de difusión en placa de Kirby-Bauer y siguiendo la descripción que hace la Farmacopea Americana; se seleccionaron 16 placas Petri por cada producto, en cada placa se colocó Agar Mueller Hinton, se hicieron 3 pocillos de 6 mm de diámetro y se sembraron cepas de *Streptococcus Mutans*, activados previamente en Agar Tripticasa Soya (TSA) en una concentración de  $1 \times 10^8$  ufc/ml; en cada pocillo se añadió pasta dental (gel dental) aproximadamente 80uL; como control negativo o muestra blanco se usó agua destilada y como control positivo Ciprofloxacino 40ug/ml, luego se incubó a 37°C. Las lecturas se hicieron a las 24 horas, 48 horas y 72 horas, encontrándose que, las medias de los halos de inhibición para Dentito Baby fueron de 23,84mm, 15,37mm y 10,84mm y para Denture BB, las medias de los halos de inhibición fueron de 14.05mm, 9,68mm y 8,48mm, en los períodos respectivos. Además, se encontró diferencias significativas entre ambos productos. En conclusión, ambos productos inhiben el crecimiento de *Streptococcus mutans*, siendo mayor, con Dentito Baby.

**Palabras Clave:** Pastas dentales, Xylitol, *Streptococcus mutans*, inhibición del crecimiento bacteriano.

## Abstract

An “in vitro” investigation was carried out, in order to determine whether two toothpastes (dental gels) intended for the oral hygiene of babies inhibited the growth of *Streptococcus mutans*. The experimental phase was carried out at the Center for Analytical Control of the Faculty of Pharmacy and Biochemistry of the National University of San Marcos, the procedure was performed following the method of diffusion to Kirby-Bauer plate and following the description made by Famacopea American. Sixteen Petri dishes were selected for each product, Mueller Hinton Agar was placed on each plate, 3 wells of 6 mm in diameter were made and strains of *Streptococcus mutans* were seeded, previously activated in Trypticase Soya Agar (TSA) in a concentration  $1 \times 10^8$  ufc / ml; to each well was added toothpaste (tooth gel) approximately 80  $\mu$ L; distilled water was used as a negative control or white sample and as a positive control Ciprofloxacin 40  $\mu$ g / ml, then incubated at 37°C. The readings were made at 24 hours, 48 hours and 72 hours, finding that the means of the inhibition halos for Dentito Baby were 23.84mm, 15.37mm and 10.84mm; for Denture BB, the means of the inhibition halos were 14.05mm, 9.68mm and 8.48mm, in the respective periods. In addition, significant differences were found between both products. In conclusion, both products inhibit the growth of *Streptococci mutans*, being older, with Dentito Baby.

Keywords: Dental pastes, Xylitol, *Streptococcus mutans*, inhibition of bacterial growth

## INTRODUCCION

Una de las preocupaciones que se tiene, dentro de la odontopediatría, es como controlar la caries dental en niños; si bien es cierto que se conoce cuáles son los factores contribuyentes, continúa constituyendo un desafío el poder controlarlos. Contribuyen a su control medidas como: mejorar la higiene oral, controlar la ingesta de azúcares simples, proteger al huésped, entre otras; se cuenta además con productos para la higiene oral, con la incorporación de fluoruros, que buscan mejorar la resistencia del esmalte al proceso de desmineralización; se promueve el uso de la clorhexidina, el xylitol para el control de los microorganismos comprometidos con el inicio y la progresión de la caries dental. Dentro de ese contexto, esta investigación busca contribuir con la generación de evidencia científica respecto de la efectividad del xylitol, incorporados a productos destinados a la higiene oral de los bebés; se hace una descripción de caries dental, factores contribuyentes, productos para la higiene oral, entre otros; se realiza una descripción de investigaciones sobre el uso del xylitol orientados al control de *Streptococcus mutans*, por cuanto este es considerado el principal contribuyente en el inicio de evolución de la caries dental; se describen los procedimientos que se siguieron para determinar la inhibición que producen las pastas dentales (geles dentales) con xylitol sobre cepas de *Streptococcus mutans*; y finalmente se describen los resultados obtenidos y las pruebas estadística realizadas.

## **Capítulo I: Fundamentos teóricos de la investigación**

### 1.1 Marco Histórico

#### Pastas Dentales

Hay pocos datos históricos, disponibles, sobre los hoy conocidos como dentífricos, pastas dentales, geles dentales, etc. pero todos los documentos que reúnen datos acerca de este tema coinciden en señalar que muchos siglos antes de Cristo el hombre ha buscado la forma de mantener sus dientes saludables, utilizando una serie de insumos disponibles, aun cuando éstos fueran perjudiciales para ellos.

La historia de la pasta dental se remonta a 4000 años atrás, la primera referencia de la pasta dentífrica se encuentra en un manuscrito egipcio del siglo IV a.C. que establece una mezcla de polvo de sal, pimienta, hojas de menta, iris y flores, era llamada clister (Acuña 2008. P.1)

En la antigüedad utilizaban el clister para lavarse los dientes, que era una mezcla de polvo de sal, pimienta, hojas de menta, iris y flores, para fabricarla (Expósito et al. 2012p.3), se mezclaban, además, con piedra pómez pulverizada, sal, pimienta, agua, uñas de buey, cáscara de huevo y mirra (Acuña 2008, p.1).

Los griegos también utilizaban la orina humana como dentífrico, bajo el supuesto de que era el mejor remedio contra la caries y actualmente las tribus negras del Alto Nilo, continúan empleando un dentífrico elaborado con las cenizas resultantes de la quema de excremento de vaca (Celdrán 2009, p. 15-16).

En la Edad media, también fue empleada la orina para la higiene bucal, que almacenaban su orina en recipientes, la dejaban reposar y luego tomaban pequeñas cantidades para su uso como dentífrico, los romanos también adoptaron esta costumbre, pero mezclaban la orina con piedra pómez y colorantes para hacer más llevadero el enjuague. Las mujeres romanas de clase alta pagaban muy cara la orina lusitana, considerada la más valiosa, puesto que se decía era la más fuerte del continente (Expósito et al. 2012, p.5)

En un artículo publicado en la web de Curiosfera, también se encuentran datos que contribuyen con esta historia, allí describe que, en la antigua Roma se vendía en frascos la orina lusitana porque tenía fama de ser la más fuerte y efectiva, la usaban a modo de primitiva crema dental, los habitantes restregaban los dientes empapando en ella un pequeño manípulo de algodón; también manifiesta que Dioscórides Pedáneo (botánico griego del siglo I), hablaba en su tratado *Corpus Hipocraticum* de cierto dentífrico hecho con leche de mujer utilizado en Roma. En esta misma publicación se describe que la invención de la primera pasta dental se atribuye al médico latino Escribonius Largus, hace dos mil años, que su fórmula magistral era una mezcla de vinagre, miel, sal y cristal muy machacado; también se menciona que las tribus negras del Alto Nilo emplearon y emplean hoy un peculiar dentífrico compuesto por las cenizas resultantes de la quema del excremento de vaca, con lo que obtienen la reluciente blancura de sus dientes (Acuña 2008 y Curiosfera, p.5)

Haciendo un recuento histórico desde 1800 hacia adelante, allí mencionan que: 1) en 1842 un dentista llamado Peabody fue el primero en agregar jabón a la pasta de dientes, 2) el primer dentífrico comercializado apareció en Gran Bretaña a finales del

Siglo XVIII, 3) en 1850, el doctor Washington Sheffield Wentworth, un cirujano dental y farmacéutico, inventó la primera pasta de dientes y le llamó Creme Dentifrice, en su práctica privada; 4) la investigación del flúor en odontología tuvo su inicio en 1901, el dentista Frederick McKay, en Colorado, inició la investigación al observar que numerosos residentes presentaban manchas de aspecto desagradable y color café en sus dientes, el cual llegó a conocerse como Mancha Café de Colorado, 5) en 1909 el renombrado Dr. G.V. Black, accedió ir a Colorado Springs y colaborar con él en la búsqueda de la causa de la misteriosa enfermedad, 6) tras la Segunda Guerra Mundial, aparecieron detergentes sintéticos que sustituyeron el jabón usado en las pastas dentales, tales como Lauril sulfato de sodio y sulfato de sodio, 7) la pasta dental fluorada aparece en 1914 y es introducida a los países industrializados a finales de los años 60, 8) en 1955, las pastas dentales Crest fueron líderes en el mercado debido al reconocimiento realizado por la American Dental Association (ADA), asociación científica altamente prestigiada. (Acuña 2008 y Curiosfera)

## Xylitol

En cuanto al xylitol afirman que fue descubierto en Diciembre de 1890 por los científicos Fischer y Stahel de Alemania, que lo aislaron a partir de pedazos de madera y que en el año siguiente el científico francés Bertrand también logró aislar ese compuesto a partir de pajas de trigo y avena; en este mismo artículo se afirma que se han desarrollado muchas investigaciones posteriores para determinar las propiedades y encontrar técnicas para su producción, hasta que, en 1977, en EE UU, fue aprobada una patente para la producción de xylitol por vía química. Una alternativa a ese proceso químico (que tiene un elevado costo) y que también está siendo evaluada con resultados satisfactorios, es la tecnología de producción

biotecnológica del xylitol; también se describe, dentro de sus características, el poder edulcorante similar al del azúcar tradicional (sacarosa), superior al del sorbitol o manitol; que posee propiedades que lo destacan en relación al de la sacarosa, como su elevada estabilidad química y microbiológica que ofrece resistencia al crecimiento de microorganismos, prolongando la validez de los productos; destacan que tiene un sabor dulce y refrescante, semejante al de la menta, debido a su elevado calor específico endotérmico (38.4 cal/gr); también refiere que en cuanto a su uso ha sido aprobado por la FDA (Food and Drug Administration) de los EE UU, desde 1963, así como otras entidades incluyendo la FAO/WHO, quienes recomiendan que el consumo diario no debe superar los 60 gr, por su efecto laxante; actualmente su uso es aprobado en más de 40 países, tanto en la industria alimentaria como en la industria farmacéutica (Mussatto y Roberto 2003)

#### Streptococcus mutans

El descubrimiento del microscopio, el desarrollo de la microbiología, la bacteriología, etcétera. y con la profundización posterior de las investigaciones, se logran determinar las causas de muchas enfermedades de origen microbiológico; del mismo modo las enfermedades bucales incluidos la caries dental.

Alrededor de 1924, J. Clarke aisló un organismo de lesiones cariosas y lo llamó Streptococcus mutans, porque pensó que la forma ovalada de las células observadas fueran formas mutantes de estreptococos y que recién a fines de la década de 1950 el S. mutans recibió una mayor atención de la comunidad científica y, a mediados de la década de 1960, se reconoció como una de los principales agentes causales de la caries dental, logrando en las siguientes dos décadas, descubrir la fisiopatología, se

establecieron sus rasgos virulentos como la capacidad de producir grandes cantidades de ácidos orgánicos (acidogenicidad) de carbohidratos metabolizados, la capacidad de sobrevivir a bajo pH (aciduricidad) y la capacidad extracelular de sintetizar glucan-homopolímeros de sacarosa, que desempeñan un papel crítico en la adherencia inicial, la colonización y la acumulación de biopelículas en las superficies de los dientes; también manifiestan que con los avances en las técnicas de genética molecular en los años ochenta y noventa, los científicos comenzaron a comprender más rápidamente cómo las vías metabólicas permitieron que el *Streptococcus mutans* evolucionara hacia un patógeno dental especializado y que, con el lanzamiento del primer genoma completo del *S. mutans*, la comunidad científica aprovechó al máximo las tecnologías que surgió en la era genómica, aplicando genómica funcional, transcriptómica y enfoques proteómicos para una mejor disección de la fisiología, genética y mecanismos de virulencia de *Streptococcus mutans* (Lemus et al. 2013).

## 1.2 Marco teórico

### Caries Dental

Las definiciones han ido cambiando a través del tiempo, según los factores con los que se presumía estaban asociados; actualmente encontramos algunas definiciones que se describen a continuación, como la del Ministerio de Salud del Perú que la define como: “la disolución química localizada en la superficie dentaria que resulta de eventos metabólicos que se producen en la biopelícula que cubre el área afectada” (MINSA, 2017), esta misma entidad, haciendo referencia a la etiología o las causas que generan el desencadenamiento de esta enfermedad y la fisiopatología de la misma, dice: “es una enfermedad multifactorial tal como otras enfermedades como el

cáncer, la diabetes, las enfermedades coronarias, tal vez el factor etiológico que tiene mayor impacto sea principalmente la frecuencia del consumo de azúcar, ya que esta es metabolizada por la presencia de bacterias presentes en la boca (principalmente *Streptococcus mutans*), cuya patogenicidad dependerá de propiedades individuales o su interacción con otras bacterias ( MINSA, 2017)

La World Dental Federation define a la caries dental como una enfermedad multifactorial, causada por la interacción entre la superficie del diente, el biofilm bacteriano (placa dental) y la presencia de azúcares en la dieta, que las bacterias del biofilm metabolizan los azúcares produciendo ácidos los cuales, con el tiempo, van a desmineralizar el esmalte (FDI, 2015).

La Asociación Dental Mexicana se menciona la definición de la Organización Mundial de la Salud (OMS) y dice: “es 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” (ADM, 2009).

El autor en referencia dice que “Caries dental, es una enfermedad dentaria, infecciosa y transmisible, que se caracteriza por la desintegración progresiva de sus tejidos calcificados, debido a la acción de microorganismos sobre los carbohidratos fermentables provenientes de la dieta y como resultado, ocurre la desmineralización de la porción mineral y la subsecuente desintegración de la parte orgánica, fenómenos característicos de la enfermedad” (Henostroza 2008, p.13).

Barbería en su libro sobre odontopediatría manifiesta que “La caries dental es una enfermedad infecciosa bacteriana caracterizada por la destrucción de los tejidos duros dentarios y provocada por la acción de los ácidos producidos por los microorganismos que integran la placa dental. Es una enfermedad multifactorial condicionada tanto en su localización y extensión como en la velocidad de progresión por elementos conocidos como la morfología dentaria, la localización de las acumulaciones bacterianas, la dieta, el factor tiempo, etcétera” y añade que, “para su desencadenamiento es necesario que la acción de los ácidos sobre la superficie dentaria se mantenga durante un tiempo, lo que ocurre con más facilidad en las zonas más retentivas de la corona dentaria. La presencia de bacterias cariogénicas determinará el riesgo microbiológico, al que habría que añadir la susceptibilidad genética y los otros condicionantes biológicos o ambientales” (Barbería 2002, p.173).

Luiz, en su libro “Odontología para el Bebé, haciendo referencia a Keyes (1972) y Newbrun (1988), dice “es una enfermedad bacteriana multifactorial que para su instalación necesita la interacción de factores básicos como el huésped, la micro flora, el substrato y que también participa tiempo” (Luiz 2000, p.95).

En el libro de Pinkham se define a la caries dental como una enfermedad de los tejidos duros dentales, que en un principio se caracteriza por la descalcificación de las porciones inorgánicas del diente y que la pérdida de contenido mineral va seguida de una rotura de la matriz orgánica. Este proceso es el resultado del metabolismo de los carbohidratos por parte de los microorganismos bucales (Pinkham 1996, p.180).

Examinando las definiciones descritas, se encuentra coincidencia en cuanto a los factores relacionados con la caries dental, podemos entender entonces, que se trata de una enfermedad multifactorial, transmisible, que destruye los órganos dentarios, que afecta a las personas de cualquier edad y que se puede prevenir si se adoptan las medidas de control a tiempo.

En el libro sobre “Caries Dental” publicado por la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, se hace una descripción de las teorías que se han desarrollado en su afán de explicar los procesos cariosos, hace referencia a: 1) la teoría quimioparasitaria quien postulaba que la caries dental es causada por los ácidos que producen los microorganismos acidógenos, que producían ácidos al degradar los alimentos en boca, en especial los hidratos de carbono y que esto producía disminución del pH de la placa dentobacteriana y que a su vez, aumentaba la proliferación de microorganismos y la actividad acidógena, y que después descalcificaba la molécula del esmalte y se forman cavidades; 2) la teoría proteolítica que postulaba que el proceso carioso se inicia por la actividad de la placa dentobacteriana, los microorganismos causales son proteolíticos, es decir, causan lisis o desintegración de proteínas; 3) la teoría de la proteólisis-quelación, sus autores ampliaron la teoría proteolítica al agregar la quelación para explicar la destrucción del diente. Su causa se atribuye a dos reacciones interrelacionadas y simultáneas: la destrucción microbiana de los componentes orgánicos del esmalte y la pérdida de apatita por disolución y 4) la teoría endógena. La teoría endógena que sostiene que la caries es resultado de un trastorno bioquímico, el cual comienza en la pulpa y se mantiene en el esmalte y la dentina. En este mismo artículo también se hace referencia a otras teorías como: la teoría del glucógeno, que sostiene que la sensibilidad a la caries se

relaciona con alta ingesta de hidratos de carbono durante el desarrollo del diente, de lo que resulta un depósito excesivo de glucógeno y glucoproteínas en la estructura del diente; la teoría organotrópica, donde se argumenta que la caries, no es la destrucción local de los tejidos dentales, sino un complejo de tejidos duros blandos y saliva; según esta teoría, los tejidos duros actúan como una membrana entre la sangre y la saliva; la teoría biofísica que se basaron en la respuesta de las proteínas fibrosas al esfuerzo de compresión y así desarrollaron la teoría de la carga para la inmunidad a la caries, postularon que las altas cargas de la masticación producen un efecto esclerosante sobre los dientes debido a la pérdida continua del contenido de agua de ellos, combinada con una modificación en las cadenas de polipéptidos y el empaquetamiento de los pequeños cristales fibrilares (Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo 2012).

Actualmente se sabe que influyen muchos factores como se describen en una Guía técnica publicada por el Ministerio de Salud del Perú, allí se afirma que están relacionados con las experiencias pasadas de caries, condiciones sociodemográficas y condiciones socioeconómicas, condición médica, higiene oral, hábitos dietéticos, bacterias orales, presencia de fluorosis, características del huésped, entre otras. Afirma además que al ponderar estos factores podemos determinar el riesgo de padecer la enfermedad de cada niño en particular (MINSA 2017).

Mora, Haciendo referencia a Peñalver y Muller, y que coincide con Luiz, afirma que para la aparición y progresión de la caries dental influyen factores como el bajo nivel socioeconómico, baja escolaridad, hábitos alimentarios e higiénicos inadecuados,

antecedentes médicos y los factores propios de cada individuo pueden condicionar la susceptibilidad para desarrollar la enfermedad (Mora 2000).

En cuanto a la epidemiología de la caries dental, en un conversatorio de sociedades de odontopediatría, llevada a cabo en Brasil, hacen referencia a datos publicados por el Ministerio de Salud del Perú en el 2005, esos resultados mostraron como promedio 90% de prevalencia de caries dental en la población escolar. La prevalencia en el área urbana fue 90,6% y en el rural 88,7% (Cabrera 2014)

### Pastas Dentales (Dentífricos)

Las pastas dentales o dentífricos son insumos usados en la higiene bucal de las personas, según una página de internet (Curiosfera) el término dentífrico hace referencia a todos los productos que se emplean para la limpieza de los dientes, como la pasta dental, así se describe en la página web sobre la Historia de las pastas dentales, allí dice: pasta de dientes o crema dental es un adjetivo referido a cualquier producto como una pasta, crema, agua, polvo o demás elementos de higiene o aseo que se utiliza para limpiar y mantener sanos los dientes. Previniendo a la dentadura ante afecciones y enfermedades bucales. También es empleado como un sustantivo masculino. Refiere también que, en cuanto a la etimología, el término dentífrico está compuesto por dos palabras que provienen del latín: dentis, dens (diente) y el verbo fricare, que significa fregar o frotar.

La historia de las pastas dentales se remonta hace 4000 años atrás, se menciona que en esa época era elaborada en forma casi rudimentaria con elementos básicos del momento; desde esa época hasta la actualidad han sufrido muchos cambios y se han

incorporado diversos insumos en su composición para mejorar sus propiedades y contar con un producto más efectivo para limpieza bucal, la mineralización dentaria, el control de la microbiota bucal, entre otros (Acuña 2008).

En cuanto a la composición de las pastas dentales, los Fluoruros son los que más se han estudiado y está demostrado su eficacia en el los procesos de remineralización dental; la proporción de Fluoruro en las pastas dentales, se ha estandarizado, por la Organización Mundial de la Salud, de acuerdo a las edades una concentración de 500 ppm para niños con dentición decidua, 1000 a 110 ppm par niños con dentición mixta y de 1400 a 1500 ppm para niños con dentición permanente y adultos, este mineral puede estar presente como Fluoruro de sodio, Monofluorfosfato de sodio o Fluoruro Estañoso (Gómez 2010).

En un artículo de revisión publicado por Contreras, se hace un resumen de los componentes de las pastas dentales y en cuanto a los fluoruros concuerda con Gómez, además hace mención a otros componentes como: Humectantes, que ayudan a prevenir el secado de la pasta dentífrica una vez abierto el tubo, humectantes como el sorbitol, xylitol, polietilenglicoles de bajo peso molecular y propilenglicol, cuyas propiedades confieren al dentífrico una mayor humectabilidad al abrasivo, evitando así el secado y endurecimiento del producto, disminuye el punto de congelación, además de mejorar la textura y aroma del dentífrico; detergentes o espumantes como el lauril sulfato sódico, N-lauril sarcosinato sódico, ricinoleato sódico y sulfuricinoleato sódico, que ayudan a crear una suspensión estable del abrasivo en la boca, lo cual permite una limpieza efectiva; conservantes benzoato sódico, metilparabeno, metilparabeno sódico, propilparabeno sódico, mezcla de

parabenos y formalina que son adicionados para proteger la pasta dentífrica del efecto de los microorganismos; edulcorantes como la sacarina sódica, ciclamato sódico, xylitol, glicerato aniónico, esencias de menta piperita, hierbabuena, eucalipto, canela, badiana, mentol, aromas frutales, cola, que le dan sabor a las pastas dentales; aglutinantes o espesantes para mantener la suspensión estable; alginatos, carregenatos, goma xantana, hidroxietilcelulosa sílice, carboximetilcelulosas; agentes abrasivos, como las sílicas, para ayudar eliminar la biopelícula dental; fosfato dicálcico dihidratado, fosfato dicálcico anhidro; el bicarbonato de sodio (Contreras 2014).

### Xylitol

El Xylitol es un edulcorante que actualmente se encuentra en el mercado y que, entre otros, se promociona como sustituto de la sacarosa, tanto a nivel industrial y doméstico; el Xylitol es un polyol de cinco carbonos naturalmente producido, es un hidrato de carbono blanco cristalino conocido desde hace un siglo, se ha estudiado ampliamente durante los últimos 40 años por su efecto sobre la caries dental. Se encuentra naturalmente en las frutas, verduras, y vegetales y es artificialmente manufacturado de los materiales de la planta ricos en xilan como el abedul y haya. Desde que un estudio que se realizó en Turku, Finlandia, donde evaluaron la efectividad de xylitol en la reducción de la placa dental en 1970, el xylitol se ha investigado y aceptado como un dulcificante natural aprobado Administración de Alimentos y Drogas de los EE. UU. (FDA) y la Academia Americana de Odontología Pediátrica (Anand, Prathibha, Ullal y Khandelwal 2014)

La producción, que en décadas anteriores la producción era artesanal, en la actualidad es producido industrialmente por hidrogenación química de la xilosa. El

xylitol tiene casi el mismo poder edulcorante que la sacarosa, pero posee un contenido calórico de 2.4 Kcal/g comparado con 4 Kcal/g de la sacarosa, es utilizado para endulzar gomas de mascar, pastillas, dulces y pastas dentales, el xilitol fue originalmente producido para ser usado como edulcorante para personas diabéticas (González 2011).

Su uso está siendo aceptado oficialmente por diversos países, se sabe que más de 35 los países han aprobado el uso de xylitol en las comidas, farmacéuticos, y los productos de salud orales, principalmente en los chicles, pastas dentífricas, jarabes, y confiterías (Anand (2014),

El consumo diario de xylitol estimado para lograr un efecto anticariogénico varía entre 5–7 g de xylitol tres veces por día. La dosis recomendada para la prevención de caries dental es 6 a10 g/d. Para aquéllos con disfunción temporomandibular y quién tiene la dificultad para masticar debe usar caramelos de xylitol, en lugar del chicle; dosis altas de xylitol puede causar diarrea, en niños con 45 g/d de xylitol y en adultos con 100 g/d de xylitol. La cantidad tolerada varía con la susceptibilidad individual y peso del cuerpo. La mayoría de los adultos puede tolerar 40 g/d (Ahmed 2017).

El xilitol reduce los niveles de *Streptococcus mutans* (MS) en placa y saliva al alterar sus procesos de producción de energía, lo que lleva a un ciclo de energía fútil y muerte celular; reduce la adhesión de estos microorganismos a la superficie de los dientes y también reduce su potencial de producción de ácido; que promueve la mineralización al aumentar el flujo salival cuando se usa como chicle o pastilla grande de xylitol. También se describe cómo actúa el xylitol a nivel del *Streptococcus mutans*, afirman

que esta bacteria transporta el azúcar a la célula en un ciclo de consumo de energía que es responsable del crecimiento o inhibición, el xylitol luego se convierte en xylitol-5-fosfato a través del fosfoenolpiruvato que es un sistema de fructosa fosfotransferasa del *S. mutans*, que resulta en el desarrollo de vacuolas intracelulares y degradación de su membrana celular, la molécula defosforilada es luego expulsada de la célula, esta expulsión ocurre a un costo de energía, con energía no obtenida del metabolismo del xilitol, por lo tanto, el xylitol inhibe el crecimiento de *S. mutans* esencialmente al privar de comida a la bacteria (Anand (2014) y Ahmed (2017)).

Así como se destaca las propiedades beneficiosas, también existen controversias con respecto al uso del xylitol, sobre todo en Europa, donde manifiestan que los estudios realizados con dosis diarias bajas de xylitol, no se muestra efecto anti bacteriano, por lo tanto, no ofrecería ningún efecto preventivo de la caries dental (Söderling 2009)

### Ecología Bucal

El medio bucal es el escenario donde conviven gran cantidad de especies bacterianas, probablemente no se tornan patológicas mientras exista un equilibrio entre ellas, la flora oral es muy diversa, tiene por lo menos alrededor de 350 especies bacterianas cultivables (Shankargouda, Roopa, Amrutha, y Sanketh, 2013).

Con respecto a la flora bacteriana oral, los estudios de la microbiología se originan con las observaciones de Leeuwenhoek, quien mostró una colección de diversos morfotipos bacterianos en la placa dental y que tras el desarrollo de medios de cultivo bacteriano por Koch, Pasteur y otros, la microbiota cultivable de la boca, formó una colección diversa de organismos, incluyendo aerobios estrictos, anaerobios

facultativos y estrictos, con una amplia gama de potencial metabólico, incluyendo la capacidad de degradar azúcares, proteínas y sustratos complejos derivados de ellos. El mismo autor manifiesta que la cavidad oral humana está fuertemente colonizada por microorganismos, incluyendo virus, protozoos y hongos (Astorga 2015).

### Streptococcus mutans

Los Streptococcus del grupo mutans, Lactobacillus spp y Actinomyces spp, son los principales implicado dentro de la patogénesis de la caries dental, siendo el Streptococcus mutans (S. mutans) el agente más importante asociado a ella. A este microorganismo la describen como un coco Gram positivo, dispuesto en cadena, no móvil, catalasa-negativo, productor rápido de ácido láctico con capacidad de cambiar un medio con pH 7 a pH 4.2 en aproximadamente 24 horas, que tiene la capacidad de fermentador la glucosa, lactosa, rafinosa, manitol, inulina y salicina con la producción de ácidos. Refiere que el hábitat natural de S. mutans es la boca y que las colonias se adhieren muy cerca de la superficie del diente e igualmente se puede recuperar en lesiones cariosas (Ojeda 2013).

Gamboa también destaca la responsabilidad del Streptococcus mutans en el proceso carioso, además de describir las características morfológicas y el comportamiento de esta bacteria, menciona también que en la comunidad científica hay consenso en señalar al S. mutans como el microorganismo más importante en la caries dental y que las estrategias de aislamiento, identificación, tipificación, prevención y control están dirigidas hacia este. Morfológicamente la describe como un coco grampositivo que fue aislado e identificado por Clarke en 1924, a partir de lesiones cariosas en humanos y que los denominó S. mutans por las formas mutantes en que se presenta, que tiene

variaciones en su forma, adopta la forma ovalada (cocobacilo) en un medio ácido y forma redonda (coco) en un medio alcalino. En cultivos de agar sangre, las colonias de este microorganismo se diferencian fácilmente: altas, convexas, pulvinadas (en forma de cojín) y mucoides, de 0,5 a 1 mm de diámetro, y opacas con un aspecto que recuerda al vidrio esmerilado. Esta bacteria es anaeróbica facultativa, es decir, que puede o no utilizar el oxígeno para su crecimiento (Gamboa 2014).

## Metabolismo Bacteriano

El metabolismo bacteriano está referido al conjunto de reacciones químicas que se producen en la célula y que tiene tres funciones específicas; la primera es obtener energía química del entorno y almacenarla para luego usarla en diferentes funciones celulares; la segunda es convertir los nutrientes exógenos en unidades precursoras de los componentes macromoleculares de la célula bacteriana y la tercera función es formar y degradar moléculas necesarias para cumplir funciones celulares específicas; que esas funciones se producen en una secuencias de reacciones catalizadas enzimáticamente y se divide en anabolismo (proceso por el cual la célula bacteriana sintetiza sus propios componentes) y catabolismo (conjunto de reacciones degradativas de los nutrientes para obtener energía o para convertirlos en unidades precursoras de la biosíntesis); también dice que en las bacterias se encuentran las tres vías centrales del metabolismo intermedio de los carbohidratos (la vía glucolítica o de Embden Meyerhof Parnas, la de pentosa fosfato o shunt de las pentosas y la de Entner-Doudoroff): a) la vía glucolítica que degrada la glucosa se divide en tres etapas principales; la primera es preparativa, con reacciones que no son de oxidación reducción, sin liberación de energía y con formación de dos intermediarios de tres

átomos de carbono cada uno, en la segunda etapa, sí ocurren reacciones de oxidación reducción con liberación de energía, formación de ATP por fosforilación a nivel del sustrato (el ATP se genera en un paso enzimático específico) y producción de dos moléculas de piruvato y en la tercera etapa, nuevamente ocurren reacciones de oxidación reducción y se generan los productos finales de la fermentación, que varían según la bacteria en cuestión , b) la vía de las pentosas que es una ruta multifuncional para la degradación de hexosas, pentosas y otros hidratos de carbono, c) la vía de Entner-Doudoroff que es la ruta principal para la degradación de la glucosa en las bacterias aerobias estrictas como *Neisseria* y *Pseudomonas*. (Varela 2002, p. 43- 50).

### 1.3 Investigaciones

Ballena et al. (2019) hicieron un estudio “in vitro” para determinar la actividad antimicrobiana de tres pastas dentales sin flúor contra cepas de *Streptococcus mutans*, se sometieron a prueba dos pastas dentales con xylitol, Denture BB (GX1) y Dentito Baby (GX2) y una con Caléndula (GC) pasta dental para bebés; utilizaron cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175, las cuales fueron activadas y cultivadas a 37 °C por 24 horas. Prepararon placas Petri con agar Trypticase Soya donde realizaron una siembra bacteriana e hicieron pocillos de 6mm para la colocación de las pastas dentales y fueron incubados por 48 horas. el control positivo fue hecho con clorhexidina al 0,12% y el control negativo con agua destilada. El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico SPSS versión 15, realizaron pruebas estadísticas de corroboración de distribución gaussiana de Shapiro-Wilk, posteriormente se realizó la prueba de Kruskal-Wallis para comparaciones múltiples

y de Mann-Whitney para comparaciones individuales. Dentro de sus resultados se describen que los halos de inhibición fueron de 6mm para la pasta dental con Xylitol Denture BB (GX1) y 22.93mm para la pasta con xylitol Dentito Baby (GX2), 6mm para la pasta dental con caléndula GC, 6 mm para el agua destilada y 26.69mm para la clorhexidina. Concluyen afirmando que solo una pasta dental con xylitol (GX2) tuvo actividad antimicrobiana contra los *Streptococcus mutans*

Maden et al. (2018) investigación realizada con la finalidad de evaluar el efecto antimicrobiano de pastas dentales con contenido de Fluor, Xylitol y Xylitol-Probiótico, contra *Streptococcus mutans* y *Lactobacilos*, en una muestra formada por 60 niños con edades entre 13 a 15 años que gozaban de buena salud, sin lesiones cariosas activas o no tratadas, ni enfermedad periodontal. La muestra fue dividida aleatoriamente en 3 grupos de 20 participantes cada uno; al grupo I se le entregó pasta dental con flúor, al grupo II pasta dental con xylitol y al grupo III pasta con Xylito-probiótico, además de cepillos dentales; se les indicó que se cepillaran dos veces por día por dos minutos, durante seis semanas. Las muestras de saliva fueron tomadas al inicio y al final del experimento; al realizar las lecturas, después de 6 semanas y compararlas con la basal, encontraron que con las pastas con Xylitol-Probiótico la reducción de *Streptococcus mutans* fue del 75% al 25% y *Lactobacilos* disminuyó del 60% al 30%; en el grupo que usó pasta con Flúor, la reducción de *Streptococcus mutans* fue de 80 a 45% y *Lactobacilos* de 70 a 55%; en el grupo que usó pasta con Xylitol no hubo cambios importantes, los *Streptococcus mutans* disminuyó de 80 a 75% y *Lactobacilos* de 75 a 65%. Con lo cual concluyen afirmando que, con el uso de pastas dentales, con Flúor y xylitol-probiótico, usadas dos veces por día, durante 6

meses, se logra disminuir la población bacteriana salival y que la pasta con xylitol no eficaz contra el *Streptococcus mutans* y los Lactobacilos.

Ackerman, et al (2018) realizaron un estudio, in vitro, con el objetivo de evaluar la efectividad de una pasta de dientes, que contenía en su composición extractos vegetales y xylitol para inhibición de *Streptococcus mutans*; para verificar la actividad bacteriana realizaron ensayos de difusión en agar, basado en la metodología estándar M2A8 Anvisa; el estudio fue realizado con un inóculo de  $10^8$ UFC/mL de cepa de *Streptococcus mutans*; el principio básico fue la difusión de una solución de pasta de dientes Orgánico Natural (que contenía Xylitol) y Colgate total 12, en la superficie de agar de un disco impregnado; utilizaron como control negativo agua ozonizada y control positivo clorhexidina al 0.12%; los resultados fueron analizados a partir de las mediciones de los halos de inhibición (en mm); encontraron que para la pasta dental orgánico natural el promedio fue de  $11.33 \pm 4,35$  y para la pasta de dientes Colgate Total 12 ( $3,93 \pm 4,67$ ) con un nivel de significancia de  $p < 0,05$ . Y concluyen que, la pasta dental que contenía xylitol demostró tener propiedades antimicrobianas.

Chávez (2017), desarrolló una tesis con el objetivo de evaluar el efecto inhibitor, “in vitro,” de 10 pastas dentales frente al *Streptococcus mutans* (ATCC 25175); utilizó la técnica cilindro placa que pertenece a la farmacopea de los estados unidos, en nuestra conformada por 432 cilindros calibrados, por cada pasta en estudio utilizó 6 placas Petris (cada placa Petri contiene 10ml de agar tripticasa de soya, extracto de levadura, sucrosa y bacitracina solidificado e inoculado con el *Streptococcus mutans*) y dentro de cada placa Petri colocó 6 cilindros (cada cilindro tendrá una porción de una misma pasta dental); al hacer las lecturas, 48 horas después, obtuvo como

resultado que la pasta dental Vitis Junior tiene el mayor efecto inhibidor con un promedio de 23.78 mm, seguido de la pasta dental Kolynos con 23.42 mm de inhibición, le sigue la pasta dental Dento 3 con 18,47mm, seguido por Dento con 16,97mm, la pasta Colgate total 12 obtuvo un valor de 16,78mm, seguidamente de la pasta dental Neutrazucar con 16,67mm, la pasta dental Colgate Smile obtuvo 16,58mm, Denture kids 16,31mm, Oral B 15,81mm y por último la pasta dental que obtuvo el menor valor fue Denture Bebe con 1mm.

Eskandarian et. al.(Iran 2017) realizaron un estudio “in vitro” para comparar el efecto antimicrobiano de Tetrafluoruro de Titáneo, Clorhexidina, Xylitol y Fluoruro de Sodio; prepararon 94 muestras con Streptococcus mutans divididos en 4 grupos; después del cultivarlos en medios específicos obtuvieron muestras con  $5 \times 10^4$  UFC (Unidades Formadoras de Colonias), adicionaron discos impregnados con 30µl de Tetrafluoruro de Titánio (TiF<sub>4</sub>), Fluoruro de Sodio (FNa), Clorhexidina (Chx) y Xylitol, en concentraciones de 3.125%, 6.25%, 12.5%, 25% y 50%; después de 24 horas de incubación posterior, realizaron las lecturas. Al analizar sus resultados manifiestan que tanto el Tetrafluoruro de Sodio, Fluoruro de Sodio y Clorhexidina mostraron efecto inhibitorio y bactericida a concentraciones mayores a 6.25%; con respecto al Xylitol refieren que no mostró ningún efecto inhibitorio ni bactericida con ninguna de sus concentraciones.

Ghasemi (Iran 2017) Estudio desarrollado cuyo objetivo fue investigar los efectos del yogur probiótico y chicles con xylitol en la reducción de los niveles de Streptococcus mutans (SM), en 50 estudiantes mujeres con más de 105 unidades formadoras de colonias por ml de saliva. La muestra fue dividida en dos grupos iguales para recibir

yogur probiótico que contiene *Lactobacillus acidophilus* ATCC 4356 y *Bifidobacterium bifidum* ATCC 29521 (200 g diarios) o chicles que contienen xilitol (dos gomas, tres veces al día después de cada comida, contenido total de xilitol: 5.58 g al día) por tres semanas. Tomaron muestras de saliva al inicio del estudio, un día, dos semanas y cuatro semanas después de las intervenciones, los cultivaron e hicieron los recuentos de *S. mutans* salivales. Encontraron que, en ambos grupos, los recuentos de *S. mutans* en el primer día, la segunda semana y la cuarta semana después de la intervención fueron significativamente menores que los valores iniciales ( $P < 0.05$ ). Encontraron, además, que en los consumidores de yogur probiótico la reducción fue mayor, pero no fue estadísticamente significativa con los que consumieron xilitol.

Lucena (2016) Estudio in vitro para evaluar el efecto antimicrobiano de pastas dentales contra el *Streptococcus Mutans*. Evaluaron 6 pastas dentales infantiles con la presencia o no de Flúor y Xylitol. Las muestras fueron incubadas por 48 horas; al hacer las lecturas, de los halos de inhibición, encontraron: Sin Flúor y sin Xylitol  $17.31 \pm 0.72$ mm, Sin flúor y con xilitol  $19.89 \pm 1.36$ mm, Con Fluor 500ppm sin Xylitol  $19.77 \pm 1.71$ mm, Con flúor 750ppm + Xylitol  $18.36 \pm 0.98$ mm, Con Flúor 1100ppm sin xilitol  $20.03 \pm 1.09$ mm, Con Flúor 1500ppm sin Xylitol  $22.48 \pm 1.59$ mm. encontraron una disminución de la carga bacteriana con todas las pastas dentales, teniendo más efecto las pastas con mayor concentración de flúor y sin Xylitol.

Hernández (México 2016) Investigación titulada: Niveles de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus spp.* en saliva después del consumo de leche con xilitol en niños. Investigación realizada en una muestra de 20 niños a quienes se les suministró 250 ml de leche endulzada con xilitol (0.024 gr/ml), durante 30 días. El conteo de unidades

formadoras de colonias por mililitro (UFC/ml), en saliva se realizó antes y después del consumo de mencionado producto. Concluyen manifestando que sus resultados mostraron una reducción significativa de *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus spp* en la saliva después de 30 días del consumo xylitol ( $p > 0.05$ )

Bocanegra, Villarreal, Espías y Sánchez (Barcelona 2016) estudio titulado “Efecto de una goma de mascar conteniendo xilitol sobre los niveles salivales del *Streptococcus mutans* (SM)”; su objetivo fue comparar el efecto de la goma de mascar con y sin xilitol sobre niveles salivales de SM, en una muestra de 22 estudiantes voluntarios de entre 20 a 25 años de edad, con ausencia de enfermedad periodontal, prótesis dental ni ortodoncia, a los que dividieron en dos grupos; tomaron muestra basales para determinar la Unidades Formadoras de Colonias(UFC), luego a un grupo un grupo entregaron gomas de mascar con Xylitol al 60.4% y al otro grupo entregaron gomas de mascar sin xilitol. Pidieron que masticasen las gomas de mascar durante 5 minutos, una vez por día, durante 3 días. Tomaron muestras a las 24 y 72 horas para realizar el recuento de colonias. Concluyen afirmando que las gomas de mascar con xilitol disminuyeron significativamente los niveles de SM en comparación con las gomas de mascar sin Xylitol.

Haghoo (Iran, 2015) en la investigación titulada “Comparación de la eficacia de las gomas de mascar convencionales y que contienen xilitol para reducir el conteo de *Streptococcus mutans* salivales: un estudio in vivo”. Es un estudio experimental cruzado, donde utilizaron dos tipos de gomas de mascar, uno con Xylitol al 70% (aprobado por la Asociación Dental Iraní), y otra con sacarosa; la muestra estuvo formada por 32 individuos con edades entre 18 a 35 años de edad, separados

aleatoriamente en dos grupos de 16 personas cada una, quienes fueron categorizados con pobre y moderada higiene oral, en función a una tabla de evaluación de riesgo de caries. Instruyeron a todos que masticaran un chicle después de cada comida, durante 15 minutos, por 10 días. Los cultivos se realizaron en agar sangre y agar mitis salivarius-bacitracina (MSBA). Hicieron una medición basal de *Streptococcus mutans* y después de la primera y segunda fases de masticado de chicle y después del período de higiene. Dentro del análisis de datos afirman que en la saliva de las personas que masticaron chicles con xilitol encontraron menores niveles en el conteo de *Streptococcus mutans* y que el efecto mayor fue en los sujetos con pobre higiene oral. Concluyen que los chicles con xilitol son más efectivos en reducir los niveles salivales de *Streptococcus mutans* con pobre higiene oral.

Emamieh (Iran 2015) estudio realizado para comparar el efecto del Recaldent y Xylitol sobre la cantidad de *Streptococcus mutans* salivales; en una muestra de 60 estudiantes, con edades entre 20 a 25 años. Formaron dos grupos, de 30 estudiantes cada uno, a un grupo suministraron gomas de mascar con Recaldent al 10% (Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate (CPP-ACP)) y al otro grupo gomas de mascar con Xylitol al 53.36%; los instruyeron que deberían masticar una goma de mascar, por 20 minutos, 3 veces por día (después de las comidas), por 3 semanas; además los integrantes de la muestra deberían reducir su consumo de carbohidratos y continuar cepillándose con su pasta dental habitual. Las muestras de saliva fueron tomadas antes de iniciar la investigación y un día después de finalizado la fase experimental. Al procesar los resultados comentan que entre los niveles de *Streptococcus mutans* basal no hubo diferencias significativas entre los grupos; al procesar la muestra tomada un día posterior a la fase experimental encontraron

reducción significativa bacteriana en ambos grupos, pero en el grupo que usó gomas de mascar con Recaldent la reducción fue estadísticamente más significativa.

Brdorich (2014) desarrolló una tesis experimental, para determinar el efecto de pastas dentales con xilitol, sobre *Streptococcus*, en niños con Síndrome de Down; al hacer el análisis de las muestra basales de saliva observó un gran número de colonias *Streptococcus mutans* representadas por un 100% de crecimiento bacteriano (+ 100.00 UFC x mm<sup>3</sup>) y después dos meses de haber usado pastas dentales con xilitol los efectos que obtuvo en la segunda muestra se redujo a un 30% de crecimiento de *Streptococcus mutans* (30.000 UFC x mm<sup>3</sup>).

Gamal (Egypto 2014) hicieron un estudio cuyo objetivo fue aislar, caracterizar y controlar el crecimiento de *Streptococcus mutans* (SM) aislados de saliva y caries dental, en 70 muestras de pacientes ambulatorios que acudían a la clínica universitaria Al Azhar de El Cairo. Dentro de este estudio realizan aislamiento de SM, pruebas de sensibilidad a 10 antibióticos; control de crecimiento de SM con extracto de ajo y también se usó sacarosa, glucosa y xilitol como sustituto de azúcar para controlar el crecimiento bacteriano a concentraciones de 0.001%, 0.01% y 1%. Dentro sus conclusiones refieren que el xilitol inhibió el crecimiento de *Streptococcus mutans* y que el porcentaje de inhibición está en relación con la concentración del producto; además no se alteró el PH salival tras las 60 horas de incubación; PH que disminuyó de 7.2 a 4.3 y 3.7 con los otros azúcares.

Padilla, Castillo y Catacora (Perú 2013) desarrollaron una investigación para evaluar el "Efecto de la pasta dental con xilitol sobre el recuento de *Streptococcus mutans* en

niños de 7 a 9 años”, fue un estudio experimental en una población de 12 casos y 4 controles. Los casos utilizaron pasta dental con xylitol con una frecuencia de cepillado de 2 veces por día (en la mañana y en la noche) y los casos utilizaron pasta dental convencional sin xylitol. Hicieron un control de unidades formadoras de colonias de *Streptococcus mutans* antes de iniciado el experimento, al término de la primera, tercera y quinta semanas de uso de las respectivas pastas. Concluyen afirmando que sus resultados muestran que a medida que se va utilizando la pasta dental con xylitol, se observa una reducción de los niveles de SM en saliva a diferencia de la pasta dental convencional.

#### 1.4 Marco conceptual

- Xylitol: edulcorante que, adicionado a las pastas dentales, ayudan a prevenir la Caries Dental.
- Pastas dentales (geles dentales) con xylitol al 10%: Pastas dentales cuyo único principio activo es el xylitol, utilizado para la higiene bucal de niños menores de 3 años.
- Caries Dental: enfermedad infectocontagiosa, transmisible, multifactorial que destruye tejidos dentarios.
- *Streptococcus mutans*: bacteria considerada como la mayor responsable de los procesos de caries dental.
- Inhibir: impedir el crecimiento bacteriano.

## Capítulo II: El Problema, Objetivo, Hipótesis y Variables

### 2.1 Planteamiento del Problema

#### 2.1.1 Descripción de la Realidad Problemática

La caries dental es una enfermedad infectocontagiosa, multifactorial, que produce destrucción de los tejidos dentarios. En el Perú entre el 85 y 95% de niños menores de 70 meses tienen caries dental, con predominio en poblaciones urbano marginales.

Dentro de los factores causantes de caries dental se establece que están involucrados: microorganismos: 1) Streptococcus mutans(MS), lactobacilos, Peptococos, Actinomicetes, Porfiromonas, entre otros; siendo el principal el Streptococcus mutans, este es una bacteria que se alimenta de azúcares simples como la glucosa y la fructosa, pero principalmente glucosa; es una bacteria acidógena, acidúrica y acidófila; es decir es resistente a los ácidos, vive en un medio ácido y produce ácidos, principalmente ácido cítrico que produce descenso del PH salival a nivel que producen pérdida de sales de Calcio del esmalte dentario 2) Una dieta con contenido alto de azúcares simples como la glucosa, la Fructosa y la frecuencia con que esta se ingiere, 3) La falta de una higiene adecuada, en niños, por cuanto este no tiene la capacidad motora para realizarlo recayendo por lo tanto, esta responsabilidad, sobre los padres o cuidadores del niño, 4) Hablamos de un huésped susceptible, es decir con mayor riesgo de desarrollar caries dental, desnutrición, dientes hipoplásicos, etc. A todos estos factores se adiciona el tiempo de exposición de los factores anteriores.

Los esfuerzos encaminados a prevenir la caries dental, están orientados: 1) Al control de la dieta, es decir una dieta baja en azúcares simples y disminución de golpes de azúcar por día, 2) Mejorar la higiene oral, realizando cepillados dentales después de

cada comida y usando pasta dentales con flúor, 3) Se busca incrementar la resistencia del esmalte a la agresión por los ácidos mediante la aplicación de Fluoruros, 4) Se busca además controlar la población de Streptococcus mutans, para lo cual se está usando productos con flúor, clorhexidina, Cetilpiridinio, Xylitol, entre otros.

En cuanto al Xylitol, es un polialcohol de cinco átomos de carbono que proporciona beneficios a la salud, puede ser encontrado en cantidades pequeñas, por ejemplo, en frutas y vegetales. Industrialmente, es producido por hidrogenación química de la xilosa. El xylitol tiene casi el mismo poder edulcorante que la sacarosa, pero posee un contenido calórico de 2.4 Kcal/g comparado con 4 Kcal/g de la sacarosa. Es utilizado para endulzar gomas de mascar, pastillas, dulces y pastas dentales. El xylitol fue originalmente producido para ser usado como edulcorante para personas diabéticas.

Existen investigaciones sobre el uso del Xylitol en el control del Streptococcus mutan, se afirma que esta molécula no puede ser metabolizada por la bacteria (SM) produciéndose una lisis bacteriana disminuyendo consecuentemente la población bacteriana. Se afirma que ha demostrado ser efectivo mediante una administración sistémica en una dosis diaria de 10 gr; se administró en forma de caramelos, gomas de mascar, gomitas gelatinosas y jarabes; la dificultad es que no puede ser administrado indefinidamente; también se han reportado algunos trastornos digestivos.

Otra alternativa es usarlo adicionando a las pastas dentales, en el Perú se comercializan 2 marcas de pastas dentales con xylitol al 10% de concentración, pero

al respecto hay muy pocas investigaciones que demuestren su efectividad y en el Perú son escasas.

### 2.1.2 Antecedentes Teóricos

La caries dental probablemente apareció junto con la humanidad, de la misma forma también surgieron los esfuerzos para controlarla, tal como se describen en los datos históricos descritos en las páginas precedentes; utilizaron todo lo que estuvo a su alcance hasta que finalmente tenemos por ejemplo las pastas dentales con un conjunto de ingredientes que nos ayudan mejorar la higiene oral. Así mismo se buscó entender cómo es que se producen estas lesiones; surgieron muchas teorías tratando de explicar las posibles causas, hasta que finalmente se llegó a determinar que en su generación y evolución intervienen bacterias propias de la ecología bucal. En sintonía con las épocas y los avances científicos las definiciones de caries dental también han variado, hasta que actualmente coinciden en afirmar que es una enfermedad multifactorial, que es transmisible; que está asociado a la presencia de microorganismos, principalmente *Streptococcus mutans* y lactobacilos, sobre todo en los estadios iniciales, a la higiene bucal, a las condiciones del huésped, entre otros. Se entiende también que conociendo los factores intervinientes y controlando estos se podría prevenir o controlar la presencia y evolución de esta enfermedad. Es así que prevenir la enfermedad para por adoptar medidas dirigidas a fortalecer el huésped mediante la nutrición adecuada con bajos golpes de azúcar, administración de fluoruros, entre otros.

Actualmente se busca fortalecer las prácticas de una higiene oral adecuada, para cuyo fin se dispone de pastas dentales con un conjunto de componentes para

mejorar en la limpieza; también se busca controlar los microorganismos productores de caries, principalmente el *Streptococcus mutans*. Uno de los desafíos de la odontología preventiva creo que es el control microbiológico, y ese fin tienen las investigaciones sobre el uso del xylitol; y al respecto se han realizado investigaciones sobre su uso administrando vía sistémica, y adicionando a pastas dentales; con resultados todavía controversiales.

La población crítica sigue siendo la población infantil, es decir menores de 72 meses, pero sobre todo los menores de 36 meses, donde no es del todo posible usar las pastas dentales fluoradas del que se disponen en el mercado.

### 2.1.3 Definición del Problema

#### Problema

¿Cuál es el efecto inhibitorio, in vitro, de las pastas dentales con xylitol al 10% sobre los *Streptococcus mutans*, Lima Octubre del 2019?

#### Problemas secundarios

1. ¿Cuál es el efecto de las pastas dentales con xylitol al 10% sobre *Streptococcus mutans* a las 24 horas?
2. ¿Cuál es el efecto de las pastas dentales con xylitol al 10% sobre *Streptococcus mutans* a las 48 horas?
3. ¿Cuál es el efecto de las pastas dentales con xilitol al 10% sobre *Streptococcus mutans* a las 72 horas?

## 2.2 Finalidad y Objetivos de la Investigación

### 2.2.1 Finalidad

La odontología preventiva en su afán de prevenir enfermedades como la caries dental en niños, busca contar con herramientas necesarias, que hayan demostrado su eficacia, que cuenten con el sustento científicos de su validez, de su aplicabilidad, que sea accesible para ser usados de forma masiva en la población infantil.

Una de las preocupaciones de la odontología preventiva, entre otras, es poder controlar el principal microorganismo involucrado en la producción de caries dental, se trata del *Streptococcus mutans*, del cual se sabe que participa en el proceso carioso y se busca como controlarlo; dentro de este afán por controlarlo se desarrollan investigaciones como los referentes al Xylitol, que tiene evidencia de su efecto inhibitorio administrado por vía sistémica.

Sobre la aplicación tópica de este producto, existen pocas evidencias que sustentan su efectividad y en nuestro medio son escasas, por lo que esta investigación busca evidenciar este efecto, busca contribuir con el esclarecimiento del efecto inhibitorio que podrían tener estos productos sobre este microorganismo; permitirá contar con una evidencia más que sustenten la toma de decisiones futuras en un afán de contribuir con la prevención de caries dental infantil.

### 2.2.2 Objetivo General y Específicos

#### Objetivo General

Comprobar el efecto inhibitorio, in vitro, de las pastas dentales con xylitol al 10% sobre cepas de *Streptococcus mutans*.

### Objetivos Específicos

1. Verificar el efecto inhibitorio de las pastas dentales con xylitol al 10% sobre Streptococcus mutans a las 24 horas
2. Constatar el efecto inhibitorio de las pastas dentales con xylitol al 10% sobre Streptococcus mutans a las 48 horas
3. Evidenciar el efecto inhibitorio de las pastas dentales con xylitol al 10% sobre Streptococcus mutans a las 72 horas.

### 2.2.3 Delimitación del Estudio

- Delimitación temporal: el estudio se realizó en el mes de Octubre del 2019
- Delimitación espacial: el estudio fue realizado en el Centro de control Analítico de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (unmsm)
- Delimitación social: el estudio fue realizado “in vitro”
- Delimitación conceptual: los conceptos vertidos en el trabajo de investigación serán: pasta dental (gel dental), xylitol, efecto inhibitorio, Streptococcus mutans.

### 2.2.4 Justificación e importancia del estudio

Dentro de la odontología preventiva se busca contar con elementos que nos permitan hacer frente a los problemas bucales y que estos elementos tengan la suficiente base científica que demuestren su validez, dentro de este contexto, esta investigación contribuye generando evidencia científica de los efectos del Xylitol sobre los Streptococcus mutans, genera un sustento válido para su aplicación clínica en beneficio de la población infantil; el prevenir una enfermedad en general y las

enfermedades bucales en particular, en perspectiva, trasciende sobre la salud en general y la calidad de vida de las poblaciones beneficiarias.

## 2.3 Hipótesis y Variables

### 2.3.1 Supuestos Teóricos

En las últimas décadas se están generando mayor información científica a cerca del control del *Streptococcus mutans*, con productos a base de xylitol, por cuanto al tratarse de un azúcar que no puede ser metabolizado por la bacteria en mención, este finalmente produce la autólisis, se están utilizando como gomas de mascar, caramelos, como edulcorante de leche, refrescos, entre otros. Existen mayores volúmenes de investigación referente a la administración sistémica del xilitol, recomendando una dosis diaria entre 8 a 10gr.; lo que no está claro aún es en cuanto a los efectos secundarios que podría producir su administración prolongada. Así mismo existen investigaciones que sugieren su uso como aditivo de las pastas dentales; existen investigaciones a favor y en contra del efecto sobre el *Streptococcus mutans* como el de Eskandarian et. al. (Irán 2017) que en su investigación obtuvo un nulo efecto inhibitorio del xylitol; otras investigaciones afirman que si tiene un efecto inhibitorio dependiendo de la dosis de xylitol que contengan los productos. Otro aspecto a tener en cuenta y que todavía no ha sido esclarecido, es si su uso prolongado genera resistencia bacteriana.

En nuestro medio se comercializan productos para la higiene oral de los bebés y que refieren contiene xylitol entre el 10 y 12 %, lo cual quiere decir que si usamos entre 1 ó 2 gramos del producto estaríamos usando entre 100 a 200 mg de xylitol; comparativamente con la dosis sistémica es sumamente baja, aun cuando las vías de suministro son diferentes. Dentro de este sin número de interrogantes, es válido

plantearse problemas e hipótesis como las planteadas que nos permitan esclarecer sus efectos de los productos sujeto de prueba.

### 2.3.2 Hipótesis Principal y Específicos

#### Hipótesis principal

H1: Las pastas dentales con xylitol al 10% inhiben significativamente los niveles de Streptococcus mutans Salivales.

#### Hipótesis Específicas

1. Las pastas dentales con xylitol inhiben significativamente los niveles de Streptococcus Mutan salivales a más de 14mm a las 24 horas.
2. Las pastas dentales con xylitol inhiben significativamente los niveles de Streptococcus mutan salivales a más de 14mm a las 48 horas.
3. Las pastas dentales con xylitol inhiben significativamente los niveles de Streptococcus mutans salivales a más de 14 mm a las 72 horas.

### 2.3.3 Variables e Indicadores

VARIABLE 1: Pastas dentales con Xylitol.

Definición conceptual: Producto destinado a la higiene dental que en su composición destaca la presencia xilitol al 10%

VARIABLE 2: Inhibición del crecimiento de Streptococcus mutans

Definición operacional: Impedir el crecimiento de la bacteria Streptococcus mutans, en un medio de cultivo, mediante la aplicación de pastas dentales con xylitol.

<b>Dimensiones</b>	<b>Indicadores</b>
Inhibición del crecimiento de Streptococcus Mutans a las 24 horas.	Halos de inhibición: Sensible: $\geq 20$ mm Intermedio: 15 - 19 mm Resistente: $\leq 14$ mm
Inhibición del crecimiento de Streptococcus Mutans a las 48 horas.	Halos de inhibición: Sensible: $\geq 20$ mm Intermedio: 15 - 19 mm Resistente: $\leq 14$ mm
Inhibición del crecimiento de Streptococcus Mutans a las 72 horas.	Halos de inhibición: Sensible: $\geq 20$ mm Intermedio: 15 - 19 mm Resistente: $\leq 14$ mm

## Capítulo III: Método, Técnica e Instrumentos

### 3.1 Población y Muestra

Población: La población estuvo conformada por cepas de *Streptococcus mutans* liofilizado ATCC 25175

Muestra: Cepas de *Streptococcus mutans*

Área de estudio:

Laboratorio de la Sección de Microbiología de la Facultad de Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Criterios de inclusión:

- Placas Petri que contenían el medio de cultivo elegido para el crecimiento de la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC25175.
- Placas Petri en óptimas condiciones de esterilización

Criterios de exclusión:

- Placas Petri que no reunían las condiciones de esterilización
- Placas Petri con presencia de bacterias diferentes a *Streptococcus mutans*
- Placas Petri que hayan sufrido deterioro.

Unidad de análisis:

Placa Petri con el cultivo de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 que cumplieron con los criterios de inclusión.

Unidad de muestreo:

Placa Petri con el cultivo de Streptococcus mutans ATCC 25175 que cumplieron con los criterios de inclusión.

Tamaño de muestra:

El cálculo del tamaño de muestra se realizó utilizando la fórmula de comparación de medias:

$$n = \frac{2 * ( Z_{\alpha/2} + Z_{\beta} )^2 * \sigma^2}{(\mu_1 - \mu_2)}$$

n: Número de placas Petri

$Z_{\alpha/2}$ : Nivel de confianza: 1.960, Valor Z al 5% de error tipo I

$Z_{\beta}$  : Potencia de la prueba: 0.8, Valor Z al 20% de error tipo II

$\sigma$  : Desviación estándar de los halos de inhibición con pastas dentales con xilitol al 10%

$\mu_1 - \mu_2$ : diferencias de halos de inhibición entre los dos grupos de pastas dentales

Se asume  $\sigma / \mu_1 - \mu_2 = 1$

Reemplazado se tiene:  $n = 2(1.96+0.80)^2 * 1 = 15.2352$

$n = 16$  placas Petri por tipo de pasta dental

### 3.2 Diseño

Se realizó en estudio experimental, porque hubo manipulación de una de las variables con la intervención de la otra; explicativo por que el resultado permitirá

determinar la incidencia o no de una variable sobre la otra; transversal por que las mediciones se realizaron en un solo momento.

### 3.3 Técnica(s) e Instrumento(s) de Recolección de Datos

Los datos fueron recolectados en una ficha de recolección de datos elaborada previamente.

Para determinar el grado de inhibición de las pastas dentales, sujetas de esta investigación, sobre los *Streptococcus mutans*, se recurrió a uno de los métodos utilizados para la valoración microbiológica de los antibióticos, que es el método de difusión (difusión en Agar) descrito por Kirby-Bauer, este método, tal como lo describen la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM), Cabrera (2015) y Chávez (2017), en sus respectivos trabajos de investigación, haciendo referencia la Farmacopea Americana USP38, también afirman que este método se basa en la difusión del antibiótico desde un cilindro vertical, a través de una superficie con agar inoculado con el microorganismo de prueba. La difusión origina zonas de inhibición del microorganismo cuyo tamaño (diámetro) está en relación con la concentración del antibiótico.

En este trabajo no se utilizaron cilindros de acero, se optó por el método modificado de pozos de Agar, como lo describen Rojas, García, Aura y López (Chile 2005), los investigadores manifiestan que sobre la superficie del agar seleccionado se hace un frotis del inóculo, posteriormente se hacen pozos sobre la superficie de los agares con un sacabocado estéril de 6 mm de diámetro y en cada uno de ellos se vierte el antimicrobiano, se dejan reposar por 30 minutos, posteriormente se incubarán y leen las placas siguiendo el método de Kirby Bauer.

El procedimiento se realizó siguiendo el protocolo del Centro de Control Analítico de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, el mismo que coincide con la descripción que se detalla en el manual de pruebas de Susceptibilidad antimicrobiana, de la Sociedad Americana de Microbiología (Stephen, 2005. pp. 39 – 46.) y la descripción que hace Chávez (2017) en su tesis en el que evalúa el efecto inhibitorio de pastas dentales sobre *Streptococcus mutans*.

### 3.3.1 Materiales e Insumos

#### 3.3.1.1 Materiales

- Vernier digital Caliper Modelo: DC-515
- Placas Petri de vidrio de 90mm de diámetro x 15mm de altura - Asa de Driglasky de vidrio
- Tubos de 150mm con tapa rosca
- Viales de vidrio de 5ml de capacidad
- Puntas para micropipeta de 20-200 ml
- Puntas para micropipeta de 0.5-5ml
- Frascos de vidrio de 500ml de capacidad con tapa rosca - Frascos de vidrio de 200ml de capacidad con tapa rosca - Viales de vidrio de 10ml de capacidad
- Gradilla
- Espátulas
- Sacabocado con diámetro interno de 6mm
- Papel craft
- Asa bacteriológica
- Escala de Mac Farland

- Baguetas de vidrio
- Indicador multiparámetro de esterilización

### 3.3.1.2 Insumos

#### a) Medios de Cultivo

- Caldo Trypticasa Soya (TSB)
- Agar Trypticasa Soya (TSA)
- Agar Mueller Hinton

#### b) Inóculo

- Streptococcus muntans

#### c) Reactivos

- Agua Destilada
- Cloruro de sodio grado bacteriológico
- Alcohol 96°

### 3.3.2 Equipos

- Incubadora 35°C EQ-CCA-026 Labor LP-11 S: 69-6315/4
- Autoclave Vertical Digital EQ-CCA-054 Reles AL/D 50L S: 476-15
- Potenciómetro EQ-CCA-005 Inolab 730 S:10380849
- Baño María EQ-CCA-009 Memmert WNE-10 S: L307.0363
- Balanza Analítica EQ-CCA-037 AND HR 250 AZ S: GA7702480
- Estufa EQ-CCA-001 Memmert UN55 S: B215-2490
- Mechero Bunsen.

### 3.3.3 Procedimientos

#### 3.3.3.1 Fase Pre-analítica

- Las placas Petri fueron envueltas en papel craft y esterilizadas en calor seco en una estufa a 180° por 2 horas
- Las puntas para las micropipetas, los viales de vidrio y los tubos con tapa rosca se esterizaron con calor húmedo en autoclave a 121°C y 15 lb/pg<sup>2</sup> durante 15 minutos.

#### 3.3.3.2 Preparación de los Medios de Cultivo

- Se preparó 10ml de TBS, según las instrucciones del fabricante (30 gramos para 01 litro de agua destilada) en un tubo de ensayo y se esterilizó en autoclave.
- Se preparó 50ml de agar TSA para la fase de activación según las instrucciones del fabricante (52 gramos para 01 litro de agua destilada) en un frasco de vidrio y se esterilizó en autoclave. El agua ya esterilizada se enfrió en baño María a 45-50°C y se vertió en placas Petri estériles.
- Se preparó 900ml de agar Mueller Hinton para la fase analítica en un frasco de vidrio de acuerdo a las instrucciones del fabricante (30 gramos para 01 litro de agua destilada). Se autoclavó el agar a 121°C y 15lb/pg<sup>2</sup> durante 15 minutos. Inmediatamente después de autoclavar se llevó a baño María a 45-50°C. una vez temperado se vertió el preparado fresco y tibio a placas Petri de vidrio estériles, para dar un fondo uniforme de aproximadamente 4 mm, esto corresponde a 25-50 ml para placas de 90 mm de diámetro. El agar ya plaqueado se dejó solidificar a temperatura ambiente. El pH de cada agar Mueller Hinton debe ser entre 7,0-7,6. Esta medición puede hacerse sumergiendo el bulbo del electrodo del potenciómetro en el agar antes de autoclavar.

- Se preparó 10ml de suero fisiológico estéril, para ello se pesó 900mg de cloruro de sodio grado bacteriológico y se completó con agua destilada hasta un volumen de 10mL, se esterilizó en autoclave.

#### 3.3.3.3 Activación de la Cepa

- La cepa se encontraba refrigerada entre 4-8°C en una placa con Agar TSA  
- Se tomó una colonia con el asa bacteriológica y se sembró en un tubo con caldo TBS estéril y se llevó a la incubadora a 35°C por 24 horas. - La turbidez demostró el crecimiento de las cepas. Se sembró del caldo TSB a placas con agar TSA. Se llevó a la incubadora a 35°C por 24 horas.

#### 3.3.3.4 Preparación de las Muestras

- Las pastas dentales Dentito baby y Denture BB estuvieron contenidas en sus respectivos estuches de fábrica

#### 3.3.3.5 Fase Analítica

##### Preparación del Inóculo

- A partir de colonias puras del microorganismo *Streptococcus mutans*, se tomó una cierta cantidad de colonias y se diluyó en un tubo de ensayo conteniendo 10ml de suero fisiológico estéril (Cloruro de Sodio al 9%) de tal manera que la muestra resultante tuvo una turbidez correspondientes al tubo N°1 de la escala de MacFarland (escala turbidimétrica que consiste en una serie de tubos con turbidez creciente que permite hallar la concentración aproximada de una solución bacteriana) el cual corresponde a una concentración de  $3 \times 10^8$  ufc/ml.

- A partir de esta última solución se realizó una dilución de 1 en 3, para ello de esta solución preparada se tomó 3mL y se diluyó en un volumen de 9 ml con suero fisiológico en un tubo con tapa rosca, todos los materiales utilizados deben ser estériles y también el área de trabajo. La solución resultante tuvo una concentración de  $1 \times 10^8$  ufc/ml.

#### Inóculo de las Placas

- Se agregó 100uL de inóculo bacteriano preparado ( $1 \times 10^8$  ufc/ml) a 34 placas con agar Mueller Hinton y con la ayuda de una espátula de Driglasky se esparció el inóculo por todas las placas de tal manera que se obtenga un crecimiento homogéneo, para lo cual se deslizó el asa en la placa en forma paralela y bien compacta abarcando toda la superficie de la misma. Luego se repitió el procedimiento rotando la placa  $60^\circ$  en dos oportunidades más, teniendo cuidado de sembrar las placas de borde a borde, para evitar inconvenientes en el momento de realizar las lecturas.

- Se dejó reposar de 3 a 5 minutos antes de realizar los pocillos.

#### Formación de los pocillos

- Se esterilizó el sacabocado con alcohol y se flameó en el mechero luego con mucho cuidado se hicieron 3 pocillos por placa. - Los pocillos deben estar a más de 15 mm del borde de la placa y deben distribuirse de tal manera que no haya superposición de los halos de inhibición.

#### Sembrado de muestras y controles

- Se usó 32 placas para las pastas(geles) dentales, 16 placas para cada pasta(gel) dental.

- Cada pasta dental se sembró por triplicado añadiendo aproximadamente 80uL en cada pocillo.
- Como control negativo o muestra en blanco. En una placa se sembró 40uL por triplicado.
- Como control positivo se usó Ciprofloxacino 40ug/ml. En una placa se sembró 40ug/ml por triplicado.

#### Incubación

- Las 34 placas de las muestras y los controles se llevaron a una incubadora a 37°C durante 24 horas, 48 horas y 72 horas.

#### Fase Post analítica

- Después de las 24, 48 y 72 horas de incubación, cada placa fue examinada, las zonas de inhibición resultantes fueron uniformemente circulares en una capa homogénea de crecimiento bacteriano. Los diámetros de las zonas de inhibición se midieron en milímetro pasando por el centro de cada pocillo. La medición se realizó por triplicado para cada pocillo con un vernier digital que mide hasta centésima de milímetro. Los valores de las mediciones por triplicados se promediaron para reportarlo como número real.

#### 3.4 Interpretación

La interpretación se realizó de acuerdo a los criterios de interpretación de las pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos (Medina, 2005):

- 1) Categoría de interpretación SENSIBLE: Esta categoría implica que una infección dada por la cepa en estudio se puede tratar apropiadamente con la dosis de

antibiótico recomendada para el tipo de infección y la especie infectante, a menos que hubieran contraindicaciones.

2) Categoría de interpretación INTERMEDIO: Esta categoría incluye cepas que pueden ser inhibidas por concentraciones de antibiótico más elevadas, siempre que se pueda aumentar la dosis (ej.  $\beta$ -lactámicos) o que la droga concentre fisiológicamente en el tejido infectado (ej. quinolonas y  $\beta$  lactámicos en orina). También nos indica una "zona buffer" que debería evitar que pequeños factores técnicos difíciles de controlar causen mayores discrepancias de interpretación;

3) Categoría de interpretación RESISTENTE: Las cepas resistentes no son inhibidas por las concentraciones séricas normalmente alcanzadas a dosis habituales y/o caen en el rango donde son comunes mecanismos específicos de resistencia microbiana (por ejemplo  $\beta$ -lactamasas) y la eficacia clínica no ha sido comprobada;

4) Categoría de interpretación NO SENSIBLE: esta categoría se utiliza para microorganismos que sólo tienen categoría de interpretación sensible debido a la ausencia o a la rara aparición de cepas resistentes.

Punto de corte / criterio de interpretación: el valor de CIM o el halo de inhibición utilizados para indicar sensible, intermedio y resistente se definen como se explicó anteriormente.

Por ejemplo, para el antimicrobiano X con el siguiente criterio de interpretación:

	CIM ( $\mu\text{g/ml}$ )	Halos de inhibición (mm)
Sensible	$\leq 4$	$\geq 20$
Intermedio	8 - 16	15 – 19
Resistente	$\geq 32$	$\leq 14$

“Punto de corte de sensibilidad” es 4  $\mu\text{g/ml}$  o 20 mm

“Punto de corte de resistencia” es 32  $\mu\text{g/ml}$  o 14 mm

### 3.5 Procesamiento de datos

Los datos se presentan en cuadros estadísticos de distribución de frecuencias, medidas de tendencia central, y se realizan las pruebas de hipótesis para analizar el comportamiento de las variables, con respecto al valor referencia y entre ellas. Los datos fueron utilizando el programa estadístico SPSS versión 24.0

## Capítulo IV: Presentación y Análisis de resultados

### 4.1 Presentación de resultados

**Tabla 1**

Diámetros de los halos de inhibición producidos por Dentito Baby y Denture BB sobre Streptococcus mutans a las 24 horas (medido en mm)

BACTERIAS	CONTROL POSITIVO Ciprofloxacino (40ug/ml)	CONTROL NEGATIVO	DENTITO BABY				DENTURE BB			
			1er. Pocillo	2do. Pocillo	3er. Pocillo	PROMEDIO	1er. Pocillo	2do. pocillo	3er. Pocillo	PROMEDIO
STREPTOCOCCUS MUTANS	33.98	6	23.52	24.05	23.71	23.76	14.26	12.71	13.15	13.37
			24.83	24.57	24.34	24.58	13.17	13.23	13.18	13.19
			24.55	25.67	25.82	25.35	14.21	14.65	15.17	14.68
			23.42	24.13	24.03	23.86	13.15	13.54	12.89	13.19
			23.72	24.67	23.92	24.10	14.15	14.62	14.78	14.52
	34.12	6	24.73	24.02	23.75	24.17	14.01	12.43	12.62	13.02
			24.15	23.43	23.28	23.62	13.62	13.54	12.46	13.21
			23.26	22.89	21.56	22.57	13.35	14.01	13.95	13.77
			24.42	23.91	22.83	23.72	14.72	15.18	13.92	14.61
			24.64	23.93	24.36	24.31	15.17	13.92	15.68	14.92
	35.03	6	21.62	22.75	24.12	22.83	15.03	14.71	16.13	15.29
			21.93	22.87	23.03	22.61	13.52	14.17	13.74	13.81
			23.82	24.62	23.76	24.07	13.95	12.52	13.89	13.45
			21.92	23.63	24.25	23.27	14.52	14.73	13.82	14.36
			24.63	24.44	23.98	24.35	14.17	15.53	12.87	14.19
			24.69	23.6	24.52	24.27	15.01	15.23	15.47	15.24
PROMEDIOS	34.38	6	23.74	23.95	23.83	23.84	14.13	14.05	13.98	14.05

Fuente: Tabla elaborada por el autor en base a Datos obtenidos en el Centro de Control Analítico de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

**Tabla 2**

Diámetros de los halos de inhibición producidos por Dentito Baby y Denture BB sobre Streptococcus mutans a las 48 horas (medido en mm)

BACTERIAS	CONTROL POSITIVO Ciprofloxacino (40ug/ml)	CONTROL NEGATIVO	DENTITO BABY				DENTURE BB			
			1er. Pocillo	2do. Pocillo	3er. Pocillo	PROMEDIO	1er. Pocillo	2do. pocillo	3er. Pocillo	PROMEDIO
STREPTOCOCCUS MUTANS	33.72	6	13.82	14.53	14.17	14.17	10.17	10.21	10.35	10.24
			16.48	16.51	15.35	16.11	9.14	9.52	9.72	9.46
			18.92	19.35	19.54	19.27	9.93	10.35	10.27	10.18
			16.62	17.38	17.15	17.05	8.23	8.91	9.15	8.76
			15.33	16.31	15.29	15.64	9.74	10.52	10.31	10.19
	32.85	6	17.82	16.93	15.89	16.88	10.32	10.17	9.76	10.08
			15.87	14.32	15.27	15.15	9.37	9.72	8.75	9.28
			15.17	14.38	14.51	14.69	9.93	10.37	9.77	10.02
			14.31	14.21	13.82	14.11	9.18	9.53	9.65	9.45
	33.74	6	15.52	16.27	15.65	15.81	8.62	9.15	8.57	8.78
			14.38	15.72	15.75	15.28	8.94	9.43	8.81	9.06
			14.73	12.81	14.35	13.96	10.17	9.52	9.73	9.81
			15.44	14.38	13.85	14.56	9.92	9.87	10.31	10.03
			13.78	14.75	14.76	14.43	10.16	9.44	9.27	9.62
	PROMEDIOS	33.44	6	14.52	13.85	13.21	13.86	9.75	10.33	9.67
15.81				14.46	14.38	14.88	9.52	10.63	9.72	9.96
15.53				15.39	15.18	15.37	9.57	9.85	9.61	9.68

Fuente: Tabla elaborada por el autor en base a Datos obtenidos en el Centro de Control Analítico de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad nacional Mayor de San Marcos

**Tabla 3**

Diámetros de los halos de inhibición producidos por Dentito Baby y Denture BB sobre Streptococcus mutans a las 72 horas  
(medido en mm)

BACTERIAS	CONTROL POSITIVO Ciprofloxacino (40ug/ml)	CONTROL NEGATIVO	DENTITO BABY				DENTURE BB				
			1er. Pocillo	2do. Pocillo	3er. Pocillo	PROMEDIO	1er. Pocillo	2do. pocillo	3er. Pocillo	PROMEDIO	
STREPTOCOCCUS MUTANS	32.89	6	9.72	9.57	9.81	9.70	8.22	9.01	8.03	8.42	
			10.88	9.75	9.57	10.07	8.35	7.92	8.53	8.27	
			11.32	10.57	11.28	11.06	8.37	9.52	9.47	9.12	
			10.62	11.27	10.52	10.80	8.07	8.37	8.27	8.24	
	30.25	6	11.63	12.44	12.56	12.21	7.85	8.03	8.12	8.00	
			13.13	12.55	12.37	12.68	8.52	8.83	9.03	8.79	
			11.82	11.46	11.52	11.60	7.93	7.87	7.85	7.88	
			11.21	10.84	11.27	11.11	9.42	9.03	9.17	9.21	
	30.91	6	10.62	8.97	9.68	9.76	7.95	8.07	8.05	8.02	
			10.72	10.35	9.74	10.27	8.01	8.17	7.89	8.02	
			10.52	11.37	11.54	11.14	7.92	8.08	7.91	7.97	
			10.51	9.87	10.72	10.37	9.25	8.63	8.31	8.73	
			8.92	8.94	8.69	8.85	8.52	8.77	9.65	8.98	
	PROMEDIOS	31.35	6	10.34	11.27	11.35	10.99	8.56	8.33	8.27	8.39
				10.17	9.77	8.15	9.36	8.41	9.32	8.25	8.66
			10.24	9.85	10.72	10.27	8.72	9.24	8.95	8.97	
			10.77	10.55	10.59	10.64	8.38	8.57	8.48	8.48	

Fuente: Tabla elaborada por el autor en base a Datos obtenidos en el Centro de Control Analítico de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad nacional Mayor de San Marcos.

En los cuadros 01, 02 y 03; se presentan las mediciones de los diámetros de inhibición generados por las pastas dentales (geles dentales) Dentito Baby y Denture BB, sobre los Streptococcus mutans, con sus respectivos promedios parciales y totales, tomados a las 24 horas (Tabla 1) a las 48 horas (Tabla 2) y a las 72 horas (Tabla 3)

**Tabla 4:**

Medias de los halos de inhibición por de Dentito Baby y Denture BB sobre Streptococcus mutans (en mm), a las 24, 48 y 72 horas

	A LAS 24 H		A LAS 48 H		A LAS 72 H	
	DENTITO BABY	DENTURE BB	DENTITO BABY	DENTURE BB	DENTITO BABY	DENTURE BB
STREPTOCOCCUS MUTANS	23.76	13.37	14.17	10.24	9.70	8.42
	24.58	13.19	16.11	9.46	10.07	8.27
	25.35	14.68	19.27	10.18	11.06	9.12
	23.86	13.19	17.05	8.76	10.80	8.24
	24.10	14.52	15.64	10.19	12.21	8.00
	24.17	13.02	16.88	10.08	12.68	8.79
	23.62	13.21	15.15	9.28	11.60	7.88
	22.57	13.77	14.69	10.02	11.11	9.21
	23.72	14.61	14.11	9.45	9.76	8.02
	24.31	14.92	15.81	8.78	10.27	8.02
	22.83	15.29	15.28	9.06	11.14	7.97
	22.61	13.81	13.96	9.81	10.37	8.73
	24.07	13.45	14.56	10.03	8.85	8.98
	23.27	14.36	14.43	9.62	10.99	8.39
	24.35	14.19	13.86	9.92	9.36	8.66
24.27	15.24	14.88	9.96	10.27	8.97	
PROMEDIOS	23.84	14.05	15.37	9.68	10.64	8.48
CONTROL POSITIVO (Ciprofloxacino 40ug/ml)	34.38		33.44		31.35	
CONTROL NEGATIVO	6		6		6	

**Fuente:** Tabla elaborada por el autor en base a Datos obtenidos en el Centro de Control Analítico de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la universidad Nacional Mayor de San Marcos.

En este cuadro se presentan los promedios parciales y totales, de los halos de inhibición (medidos en milímetros) por cada placa Petri, medidos a las 24 horas, a las 48 horas, y a las 72 horas, además de los promedios de los controles positivo y negativo tomados en esos mismos períodos de tiempo, producidos por cada gel dental (Dentito baby y Denture BB) usados en el experimento.

Analizando individualmente, (por cada producto usado) se observa que en el caso de DENTITO BABY a las 24 horas. se obtuvo una media de inhibición de 23,84mm con un nivel de confianza del 95% y una desviación estándar de 0,742; a las 48 horas una media de 15,37mm, un nivel de confianza del 95% y una desviación estándar de 1,431. a las 72 horas una media de 10,64mm, nivel de confianza del 95% y una desviación estándar de 1,017.

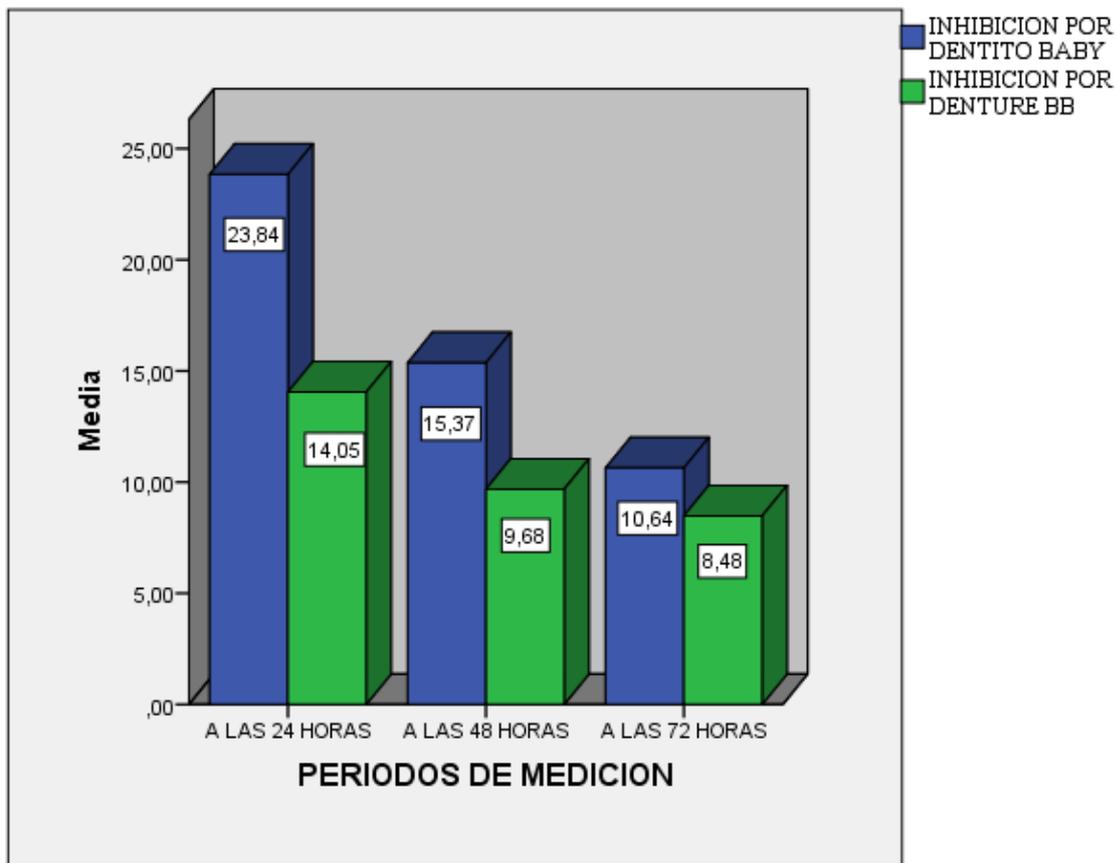
Para el caso de DENTURE BB, a las 24 horas se obtuvo una media de 14,05mm con un nivel de confianza del 95%, una desviación estándar de 0,772; a las 48 horas una media de 9,68mm, un nivel de confianza del 95% y una desviación estándar de 0,495; a las 72 horas se obtuvo una media de 8,48mm con un nivel de confianza del 95% y una desviación estándar del 0,448.

Los halos de inhibición obtenidos por el Ciprofloxacino (control positivo) fue de 34,38 a las 24 horas, 33,44mm a las 48 horas y 31,35mm a las 72 horas. y en cuanto al control negativo fue de 6 mm que vienen a ser los diámetros de los pocillos, realizado sobre el Agar, donde se fueron depositados las muestras de gel dental.

También se observa que los halos de inhibición, para ambos productos, disminuyen en relación al aumento de los períodos de tiempo de lectura; esto es para Dentito Baby, de 23,48mm, 15,37mm y 10,64mm y para Denture BB de 14,05 mm, 9,68mm a 8,48 mm en 24 horas, 48 horas y 72 horas, respectivamente. Lo cual demuestran que van perdiendo su efectividad conforme transcurre el tiempo, al igual que el control

positivo que disminuyó de 34,38mm, 33,34mm a 31,35mm, en los mismos períodos de tiempo mencionados.

### HALOS DE INHIBICION DE STREPTOCOCOS MUTANS PRODUCIOS POR GELES DENTALES-OCTUBRE DEL 2019 (Medidos en mm)



**Figura 1** Promedios de los Halos de inhibición, de Streptococcus mutans, producidos por geles dentales (pastas dentales) con xilitol según los períodos de medición.

**Fuente:** elaborado a partir de la tabla 4

Esta figura nos permite hacer una comparación de los diámetros de los halos de inhibición de ambos productos, y observamos que en todos los períodos de tiempo que se hicieron las lecturas, los diámetros de los halos son mayores para Dentito baby en comparación con los de Denture BB, esto es, a las 24 horas 23.84mm frente a

14,05mm; a las 48 horas 15,37 mm frente a 9,68mm y a las 72 horas 10,64mm frente a 8,48mm para Dentito baby y Denture BB respectivamente.

#### 4.2 Contrastación de Hipótesis

Para hacer las pruebas de hipótesis, primero se realizaron las pruebas de normalidad, para determinar si los datos provienen de una distribución normal y teniendo en cuenta que la muestra estuvo constituida por menos de 50, se optó por la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk. Además, teniendo en cuenta que la Hipótesis nula dice que los productos sometidos a prueba no inhiben el crecimiento del Streptococcus mutans y el diámetro de los pocillos donde se depositaron los geles dentales miden 6mm, los resultados deberían ser mayores a 6mm.

**Tabla 5**

Medias de los halos de inhibición según períodos de medición

	N	Media	Desv. Desviación	Desv. Error promedio
DENTITO BABY 24 HRS	16	23,8400	,74222	,18556
DENTURE BB 24 HRS	16	14,0506	,77247	,19312
DENTITO BABY 48 HRS	16	15,3875	1,43026	,35757
DENTURE BB 48 HRS	16	9,6775	,49533	,12383
DENTITO BABY 72 HRS	16	10,6400	1,01704	,25426
DENTURE BB 72 HRS	16	8,4794	,44801	,11200

Fuente: Datos procesado con SPSS24.0

En esta tabla se muestran los promedios de los halos de inhibición observados, con ambos productos, a las 24 hrs, 48 hrs y 72 hrs. Observándose que en los tres períodos de tiempo Dentito Baby tuvo mayor inhibición respecto a Denture BB

**Tabla 6**

## Prueba para una muestra

Valor de prueba = 14						
	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
					Inferior	Superior
DNETITO BABY 24 HRS	53,030	15	,000	9,84000	9,4445	10,2355
DENTURE BB 24 HRS	,262	15	,797	,05062	-,3610	,4622
DENTITO BABY 48 HRS	3,880	15	,001	1,38750	,6254	2,1496
DENTURE BB 48 HRS	-34,906	15	,000	-4,32250	-4,5864	-4,0586
DENTITO BABY 72 HRS	-13,215	15	,000	-3,36000	-3,9019	-2,8181
DENTURE BB 72 HRS	-49,290	15	,000	-5,52062	-5,7594	-5,2819

**Fuente:** Datos procesados con SPSS 24.0

La prueba de t de Student realizada nos muestra, con un nivel de confianza del 95% ( $p < 0,05$ ) que existen diferencias significativas entre las medias de los halos de inhibición en relación al valor de la prueba (que es 14) para Dentito Baby, a las 24 horas, 48 horas y 72 horas.; para la media de los halos de inhibición con Denture BB a las 24 horas nos muestra que la diferencia no es significativa ( $p > 0,05$ ) con relación al valor de la prueba. Para Denture BB, las medias de los halos de inhibición a las 48 horas y a las 72 horas. nos muestra que existen diferencias significativas.

Según la figura 1, se observa que los diámetros de halos de inhibición son mayores con Dentito Baby en relación a Denture BB, en los tres períodos de tiempo en que se hicieron las lecturas; para saber si estas diferencias son significativas entre ellas sometieron a prueba; para los datos provenientes de una distribución normal, se aplicó la prueba paramétrica de t de Student para muestras.

**Tabla 7**

Prueba de muestras independientes

		Prueba de Levene de igualdad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
		F	Sig.	t	gl	Sig. (bilateral)	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
									Inferior	Superior
INHIBICION A LAS 24 HRS	Se asumen varianzas iguales	,616	,439	36,553	30	,000	9,78938	,26782	9,24242	10,33633
	No se asumen varianzas iguales			36,553	29,952	,000	9,78938	,26782	9,24239	10,33636
INHIBICION A LAS 48 HRS	Se asumen varianzas iguales	7,654	,010	15,090	30	,000	5,71000	,37840	4,93720	6,48280
	No se asumen varianzas iguales			15,090	18,547	,000	5,71000	,37840	4,91669	6,50331
INHIBICION A LAS 72 HRS	Se asumen varianzas iguales	7,516	,010	7,777	30	,000	2,16062	,27784	1,59321	2,72804
	No se asumen varianzas iguales			7,777	20,610	,000	2,16062	,27784	1,58217	2,73908

Fuente: Datos procesado con SPSS 24.0

Al someter a las pruebas descritas en las tablas 7, se observan que el p valor es menor que 0.05 ( $p < 0,05$ ) lo cual significa que las diferencias entre las medias de los diámetros de los halos de inhibición producidos por los geles dentales sometidos a pruebas, son significativas.

Otro análisis que podría pertinente realizar es referente al planteamiento que hizo Medina el 2005, para determinar la sensibilidad de los microorganismos a los antibióticos.

**Tabla 8**

## Análisis de sensibilidad

	Halos de inhibición (mm)	A las 24 horas		A Las 48 horas		A Las 72 horas	
		Dentito	Denture	Dentito	Denture	Dentito	Denture
		Baby	BB	Baby	BB	Baby	BB
Sensible	≥ 20	23.84					
Intermedio	15 – 19		14.05	15.37			
Resistente	≤ 14				9.68	10.64	8.48

Fuente: Elaborado por el autor (teniendo en cuenta la propuesta de Medina-2005).

Si tuviéramos en cuenta estos parámetros, se observa que sólo a Dentito baby sería sensible el *Streptococcus mutans* a las 24 horas. en ese mismo período de tiempo a Denture BB estaría en una categoría intermedia. A las 48 horas Dentito Baby cae a la categoría intermedia y Denture BB a la categoría Resistentes y a las 72 horas ambos productos estarían en la categoría resistente.

Finalmente, teniendo en cuenta que los productos sometidos a prueba no están considerados como antibióticos, podríamos no ser tan rigurosos en adherirnos a este criterio, entre tanto los resultados y las pruebas realizadas demuestran que los productos sometidos a prueba inhiben el crecimiento de bacterias del género *Streptococcus mutans*, siendo más efectivo a las 24 horas y van disminuyendo su efectividad en la medida que transcurre el tiempo.

### 4.3 Discusión de Resultados

En la actualidad se afirma que las bacterias del género *Streptococcus mutans*, son considerados como los responsables del inicio y la progresión de la caries dental, Ojeda (2013), Gamboa (2014) afirman que son varios los microorganismos incluidos en la patogénesis de la caries dental (*Streptococcus* del grupo mutans, *Lactobacillus* spp y *Actinomyces* spp) de los cuales, *Streptococcus Mutans* (*S. Mutans*) es el agente más importante asociado a ella. También es conocido los esfuerzos que se realizan para prevenir y controlar la caries dental; con este propósito se producen pastas dentales, enjuagatorios, cuidados dietéticos, mejora de los procesos de higiene bucal, entre otros. En cuanto a las pastas dentales, se han adicionado una serie de componentes para mejorar su efecto en la higiene dental como, fluoruros, abrasivos, detergentes, preservantes y en los últimos años el xylitol, este último buscando controlar a población bacteriana y específicamente el *Streptococcus mutans*.

Esta investigación se busca generar evidencia sobre la efectividad del xylitol en el control de la mencionada bacteria (cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175) ; para lo cual se sometió a prueba dos pastas dentales (geles dentales: Dentito Baby y Denture BB), que contienen xylitol al 10%, y según las recomendaciones de los fabricantes, deben ser usador para la higiene bucal (dental) de los bebés, en los que no se puede usar las pastas dentales que tienen otra composición, por cuanto estos no están en capacidad de eliminarlos.

Los productos Dentito Baby y Denture BB se sometieron a prueba; el efecto inhibitorio, de estos productos fueron medidos a las 24 horas, 48 horas y 72 horas. Las medias de los halos de inhibición para Dentito Baby a las 24 horas, fue de 23,84mm, a las 48 horas. fue de 15,37mm y a las 72 horas 10,84mm. En cuanto a Denture BB, las

medias de los halos de inhibición a las 24 horas, fue de 14.05mm, a las 48 horas. 9,68mm y a las 72 horas. 8,48mm. Además, se realizó la comparación con las medias de los halos de inhibición de Ciprofloxacino 40ug/ml (control positivo) los cuales fueron a las 24hrs. 34,38mm, a las 48 horas. 33,44 y a las 72 horas. 31,35mm. Para el control negativo se usó agua destilada, depositada en el pocillo de 6mm, cuyo diámetro no varió.

La prueba de t de Student realizada muestra que se puede afirmar, con un nivel de confianza del 95% ( $p < 0,05$ ) que existen diferencias significativas entre las medias de los halos de inhibición en relación al valor de la prueba (que es 14) para Dentito Baby, a las 24 horas, 48 horas y 72 horas.; para la media de los halos de inhibición con Denture BB a las 24 horas nos muestra que la diferencia no es significativa ( $p > 0.05$ ) con relación al valor de la prueba. Para Denture BB, las medias de los halos de inhibición a las 48 horas y a las 72 horas nos muestra que existen diferencias significativas. Este estudio permite concluir que los productos sometidos a prueba inhiben el crecimiento del Streptococcus Mutans, teniendo un mayor efecto a las 24 horas.

Ballena et al. (2019) realizaron un estudio "in vitro", en el que sometieron a prueba dos pastas dentales con xylitol, Denture BB (GX1) y Dentito Baby (GX2) y una con Caléndula (GC), que son utilizadas para la higiene oral de los bebés, para determinar la actividad antimicrobiana contra cepas de Streptococcus mutans ATCC 25175; este estudio tiene similitud con la investigación realizada por el autor, en cuanto a productos sometidos a prueba, a excepción de la Calendula, procedimientos utilizados en el laboratorio, inclusive el mismo laboratorio de la Universidad Nacional mayor de San Marcos, pero sus resultados obtenidos fueron diferentes, ellos encontraron halos de

inhibición de 22.93mm para la pasta con xylitol Dentito Baby (GX2), de 6mm para la pasta dental con Xylitol Denture BB (GX1) y 6mm para la pasta dental con caléndula GC, 6 mm para el agua destilada y 26.69mm para la clorhexidina; es decir los dos últimos productos no tuvieron actividad antibacteriana.

Ackerman, et al (2018) en un estudio “in vitro” con el objetivo de evaluar la efectividad de una pasta de dientes, que contenía en su composición extractos vegetales y xilitol para inhibición de *Streptococcus mutans*; para verificar la actividad bacteriana realizaron ensayos de difusión en agar, basado en la metodología estándar M2A8 Anvisa; el estudio fue realizado con un inóculo de  $10^8$ UFC/mL de cepa de *Streptococcus mutans*; el principio básico fue la difusión de una solución de pasta de dientes Orgánico Natural (que contenía Xylitol) y Colgate total 12, en la superficie de agar de un disco impregnado; en este estudio encontraron que los halos de inhibición con la pasta dental que contenía xilitol fue de 11.33 mm, comparable con Colgate total 12 que fue de 12mm; es decir tuvo actividad antimicrobiana.

Chávez (2017), hizo un estudio “in vitro” donde sometió a prueba 10 pastas dentales (dentro de ellas Denture BB contenía xylitol) para determinar el efecto inhibidos frente a *Streptococcus mutans* (ATCC 25175); utilizó técnicas de laboratorio similares al presente estudio; encontró efectos inhibitorios con todas las pastas dentales sometidas a prueba, encontraron que Vitis Junior tuvo un efecto inhibidor promedio de 23.78 mm, Kolynos 23.42 mm de inhibición, Dento 3 con 18,47mm, Dento con 16,97mm, Colgate total 12 con 16,78mm, Neutrazucar con 16,67mm, Colgate Smile obtuvo 16,58mm, Denture kids 16,31mm, Oral B 15,81mm y por último la pasta dental

que obtuvo el menor valor fue Denture Bebe con 1mm, esta última es la que contiene Xylitol y no tuvo efecto inhibitorio.

Lucena (2016) realizó un estudio "in vitro" donde sometió a prueba 6 pastas dentales infantiles, con la presencia o no de Flúor y Xylitol, para determinar el efecto antibacteriano contra *Streptococcus Mutans*; siguiendo el método de difusión en placa; al hacer las lecturas, de los halos de inhibición, encontraron que las pastas dentales Sin Flúor y sin Xylitol generaron halos de inhibición de  $17.31 \pm 0.72$ mm, Sin flúor y con xilitol  $19.89 \pm 1.36$ mm, Con Fluor 500ppm sin Xylitol  $19.77 \pm 1.71$ mm, Con flúor 750ppm + Xylitol  $18.36 \pm 0.98$ mm, Con Flúor 1100ppm sin xilitol  $20.03 \pm 1.09$ mm, Con Flúor 1500ppm sin Xylitol  $22.48 \pm 1.59$ mm. y concluyen manifestando que encontraron una disminución de la carga bacteriana con todas las pastas dentales, teniendo más efecto las pastas con mayor concentración de flúor y sin Xylitol; es decir que la presencia del xilitol, al parecer, no contribuyó a aumentar el efecto inhibitorio.

Gamal (Egypto 2014) hicieron un estudio "in vitro" para determinar el efecto antibacteriano de 10 productos (dentro de ello el xylitol), en distintas concentraciones sobre el crecimiento de *Streptococcus Mutans* (SM) aislados de saliva y caries dental, en 70 muestras de pacientes ambulatorios que acudían a la clínica universitaria Al Azhar de El Cairo. Dentro de los productos empleados se describe el extracto de ajo, sacarosa, glucosa y xilitol como sustituto de azúcar para controlar el crecimiento bacteriano a concentraciones de 0.001%, 0.01% y 1%; Dentro sus conclusiones destacan que el xylitol inhibió el crecimiento de *Streptococcus Mutans* y que el porcentaje de inhibición estuvo en relación con la concentración del producto;

Maden et al. (2018) investigó el efecto antimicrobiano de pastas dentales con contenido de Fluor, Xylitol y Xylitol-Probiótico, contra *Streptococcus mutans* y *Lactobacilos*, en una muestra formada por 60 niños con edades entre 13 a 15 años, en los cuales tomaron muestras de saliva al inicio y al final del experimento; al realizar las lecturas, después de 6 semanas y compararlas con las mediciones basales, encontraron que con las pastas con Xylitol-Probiótico la reducción de *Streptococcus mutans* fue del 75% al 25% y *Lactobacilos* disminuyó del 60% al 30%; en el grupo que usó pasta con Fluor, la reducción de *Streptococcus mutans* fue de 80 a 45% y *Lactobacilos* de 70 a 55%; en el grupo que usó pasta con Xylitol no hubo cambios importantes, los *Streptococcus mutans* disminuyó de 80 a 75% y *Lactobacilos* de 75 a 65%, concluyen, refiriéndose al xylitol que no fue eficaz contra el *Streptococcus mutans* y los *Lactobacilos*.

Brdorich (2014) es su tesis, en el que investigó, el efecto de pastas dentales con xylitol, sobre *Streptococcus*, en niños con Síndrome de Down; encontró, después de tres semanas de uso de pastas dentales con xilitol, una disminución del crecimiento bacteriano de + 100.00 UFC x mm<sup>3</sup> a 30.000 UFC x mm<sup>3</sup>; es decir disminuyeron del 100 a 30%, comparados entre las mediciones basales y después de uso de las respectivas pastas dentales

Padilla, Castillo y Catacora (Perú 2013) hicieron una investigación donde evaluaron el efecto de la pasta dental con xilitol sobre el recuento de *Streptococcus mutans*, en niños de 7 a 9 años”; hicieron mediciones basales y controles al término de la primera, tercera y quinta semanas de uso de las respectivas pastas, encontraron resultados

donde se mostraron que a medida que se utilizaban las pasta dental con xylitol, se reducían los niveles de SM en saliva a diferencia de la pasta dental convencional.

Al hacer un análisis de los resultados, encontrados en los estudios “in vitro”, que forman parte de la presente investigación, se encuentra resultados controversiales, en algunos se evidencian los efectos antibacterianos frente al *Streptococcus mutans* y en otros no, de la misma forma que con los estudios donde se realizan recuentos de unidades formadoras de colonias post administración de pastas dentales con xylitol.

## Capítulo V: Conclusiones y Recomendaciones

### 5.1 Conclusiones

1. Las medias de las medidas de los halos de inhibición, medidos a las 24 horas, fue de 23.84mm para Dentito Baby y 14,05mm para Denture BB
2. Las medias de las medidas de los halos de inhibición, medidos a las 48 horas, fue de 15,37mm para Dentito Baby y 9,68mm para Denture BB
3. Las medias de las medidas de los halos de inhibición, medidos a las 72 horas, fue de 10,64mm para Dentito Baby y 8,48mm para Denture BB
4. Hecho el análisis de sensibilidad, sólo Dentito Baby, cuya media fue de 23,84 mm a las 24 horas, estaría en la categoría de interpretación sensible.
5. La media de las medidas de los halos de inhibición de Dentito Baby tomada a las 48 horas. que fue de 15,37mm y de Denture BB tomadas a las 24hrs. que fue de 14,05mm, estarían en la categoría de interpretación intermedio.
6. Las medias de las medidas de los halos de inhibición de Dentito Baby tomadas a las 72 horas (10,64mm) y de Denture BB tomadas a las 48 horas (9,68mm) y a las 72 horas (8,48mm), estarían en la categoría de interpretación Resistente.
7. Las pasteas dentales con xylitol fueron efectivas sobre la cepa bacteriana que fue sujeta de este estudio.

## 5.2 Recomendaciones

1. Se recomienda continuar con estudios que nos permitan precisar y estandarizar la dosis de Xylitol, por cuanto los resultados continúan siendo controversiales.
2. Propiciar estudios “in vivo” a fin de determinar su efectividad, frecuencia de uso, efectos secundarios, resistencia bacteriana, entre otros.
3. Fomentar el uso racional de los productos de higiene bucal que contengan xylitol y otros componentes a fin de garantizar la inocuidad de los mismos para la salud general de los usuarios
4. Desarrollar programas de intervención preventivos para mejorar la salud bucal infantil.

## BIBLIOGRAFIA

1. Acuña Cepeda Liliana (2008). El Siglo Del Torreon, Su Salud Bucal / La Historia de la Pasta Dental.  
Disponible en: <https://www.Elsiglodetorreon.Com.Mx/Noticia/393956>
2. Mohamed Ahmed, Abdo Fuad, Gamal Shukry and Mohamed Labib (2017). Anti-Cariogenic Effect of Five-Carbon Sugar: Xylitol. *Journal of Dental and Oral Health*. Volume 3. Issue 6. 081.  
Disponible en: <https://scionline.org/open-access/anti-cariogenic-effect-of-five-carbon-sugar-xylitol.pdf>
3. Ackermann Bruna, Cioba Carolina, Weber Luisa and Henz Sandra (2018). Effectiveness of a non-fluoridated dentifrice in control of *Streptococcus mutans* in vitro. *RFO UPF*, Passo Fundo, v. 23, n. 3, p. 268-273.  
Disponible en: <http://dx.doi.org/10.5335/rfo.v23i2.8430>
4. Nayak Prathibha Anand, NayaK Ullal Anand and Vishal Khandelwal (2014). The effect of xylitol on dental caries and oral flora. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dentistry*: 6 89–94  
DOI: <http://dx.doi.org/10.2147/CCIDE.S55761>
5. Asociación Dental Mexicana (2009). Epidemiología de la caries dental y factores de riesgo asociados a la dentición primaria en preescolares. *ADM*, Vol. LXV, No. 3. Mayo-Junio.

Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/adm/od-2009/od093b.pdf>

6. Astorga Bárbara et. al. (2015). Avances en el Estudio de la Diversidad Bacteriana Oral Asociada a Caries Dental Mediante el Estudio. *International Journal of Odontostomatology*. 9(3):349-356.

DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-381X2015000300002>

7. Barbería Leache, Elena (2002). Odontopediatría. Editorial Masson Segunda Edición. Barcelona-España.

8. Ballena Sanchez Sally, Elías Podestá Mario, Arellano Sacramento César y Diéguez Pérez Montserrat (2019). Antibacterial activity of fluoride-free toothpastes against *Streptococcus mutans* strains. *Revista Cubana de Estomatología*; 56(3): e2012.

Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/est/v56n3/1561-297X-est-56-03- e2012.pdf>

9. Bocanegra Maldonado Yuliana Andrea, Villarreal Becerra Einer, Espías Gómez Angel, Sánchez Soler Luis Alberto (2016). Efecto de una goma de mascar conteniendo xilitol sobre los niveles salivales del *Streptococcus mutans*. *Dentum*;14(1):31-36.

Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/308154762>

10. Brborich Cortés Katherine (2014). “Efecto del uso de productos dentales que contienen xilitol, durante dos meses, en el número de unidades formadoras de colonias de *Streptococos* del grupo *mutans* en saliva en niños con síndrome de Down de la escuela “Juan Francisco Montalvo” del Cantón Píllaro provincia de Tungurahua.” (tesis de pregrado). Universidad Regional Autónoma de Los Andes

“UNIANDES” Facultad de Ciencias Médicas Carrera de Odontología. Ambato – Ecuador.

Disponible en: <http://dspace.uniandes.edu.ec/handle/123456789/2851>

11. Cabrera Pazmiño Carolina (2015). Tesis, Validación De Método Microbiológico Cilindro en Placa para determinación de la Potencia de Neomicina en Producto Farmacéutico Triconjugado (Tesis de grado). Universidad Católica de Manizales. Colombia.

Disponible en: <http://hdl.handle.net/10839/1244>

12. Chávez Hidalgo, Diego Andrés (2017) Tesis: “Evaluación Del Efecto Inhibidor de Pastas Dentales Frente al Streptococcus Mutans Estudio In Vitro (Tesis de pregrado). Universidad Privada Norbert Wiener Facultad de Ciencias de la Salud. Escuela Académico Profesional de Odontología. Lima 2017”.

Disponible en: <http://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/123456789/1027>

13. Cabrera Matta Ailin (2014). Epidemiología de la caries dental en América Latina. Relatorio de la mesa de representantes de sociedades de Odontopediatría de los países Latinoamericanos, São Paulo 2014. Revista de Odontopediatría Latinoamericana, Vol 4 N° 2, 13-18.

Disponible en: <https://odontopediatria.cl/wp-content/uploads/2015/08/ALOP-2014-2.pdf>

14. Celdran Gomariz, Pancraccio. (2009) Madrid – España. El Gran Libro de la Historia de la Cosas.

Disponible en: [www.librosmaravillosos.com](http://www.librosmaravillosos.com)

15. Contreras Rosales Jessica, De la Cruz Cardoso Dolores, Castillo Chaires Irene, Arteaga Mejía Maricela (2014). Dentífricos fluorados: composición. Vertientes. Revista Especializada en Ciencias de la Salud, 17(2):114-119.  
Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/vertientes/vre-2014/vre142g.pdf>
16. Curiosfera. Historia de la pasta de dientes. Disponible en: [Htp://www.curiosfera.com/historia de la pasta de dientes.](http://www.curiosfera.com/historia-de-la-pasta-de-dientes)
17. Chávez Hidalgo Diego (2017). "Evaluación del efecto inhibitor de pastas dentales frente al streptococcus mutans, estudio in vitro" (Tesis de pregrado). Universidad Privada Norbert Wiener Facultad de Ciencias de la Salud Escuela Académico Profesional de Odontología. Lima – Perú.  
URI: <http://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/123456789/1027>
18. Emamieh Shila, Goudarzi Hossein, Akbarzadeh-Baghban Alireza, Khaterizadeh Yosra (2015). Comparison of the Effect of Recaldent and Xylitol on the Amounts of Salivary Streptococcus Mutans. Novelty in Biomedicine; 1, 33-7.  
DOI: <https://doi.org/10.22037/nbm.v3i1.7176>
19. Eskandarian Tahereh, Motamedifar Mohammad, Arasteh Peyman, Sajad Eghbali Seyed, Adib Ali, Abdoli Zahra (2017). Comparison of antimicrobial effects of titanium tetrafluoride, chlorhexidine, xylitol and sodium fluoride on streptococcus mutans: An in-vitro study. Electronic Physician. Volume: 9, Issue: 3, Pages: 4042-4047.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.19082/4042>

20. Expósito González Raúl, Rubio Pilarte Jesús, Solórzano Sánchez Manuel (2012). Historia de un “Flechazo”: El Cepillo de Dientes y la Pasta Dentífrica. *Enfermería Avanza*.  
Disponible en: <http://enfeps.blogspot.com.es/2012/05/historia-de-un-flechazo-el-cepillo-de.html>
21. Farmacología de los Estados Unidos Mexicano (FEUM). Disponible en: <http://www.farmacopea.org.mx/Repositorio/Documentos/2.pdf>
22. Ghasemi Elnaz, Mazaheri Romina, and Tahmourespour Arezoo (2017). Effect of Probiotic Yogurt and Xylitol-Containing Chewing Gums on Salivary S Mutans Count. *Journal of Clinical Pediatric Dentistry*. Vol. 41, No. 4, pp. 257-263.  
Disponible en: <https://doi.org/10.17796/1053-4628-41.4.257>
23. Hernández Morales Cecilia et. al (2016). Niveles de Streptococcus mutans y Lactobacillus spp. en saliva después del consumo de leche con xilitol en niños. *Oral*; 17(54): 1370-1373.  
Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/oral/ora-2016/ora1654e.pdf>
24. Gamal M. El-Sherbiny (2014). Control of growth Streptococcus mutans isolated from saliva and dental caries. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci*; 3(10) 1-10.  
Disponible en: <https://www.ijcmas.com/vol-3-10/Gamal%20M.%20El-Sherbiny.pdf>

25. Gamboa Jaimes Fredy Omar (2014). Identificación y caracterización microbiológica, fenotípica y genotípica del *Streptococcus mutans*: experiencias de investigación. *Universitas Odontológica*; 33(71): 65-73.  
DOI:10.11144/Javeriana.uo33-71.icmf
26. Gómez Soler, Santiago (2010); Fluoroterapia en Odontología. Fundamentos y Aplicaciones Clínicas. Cuarta Edición.
27. González Hernández Juan Carlos y Cols. (2011). Producción y Aplicaciones Biotecnológicas del Xilitol. *Revista de la Sociedad Mexicana y Bioingeniería*, Vol. 15 No.2  
Disponible en: [https://smbb.mx/wpcontent/uploads/2017/10/Biotecnologia2011\\_Vol-15\\_No-2.pdf](https://smbb.mx/wpcontent/uploads/2017/10/Biotecnologia2011_Vol-15_No-2.pdf)
28. Haghgoo Rosa, Afshari Elahe, Ghanaat Tahere, and Aghazadeh Samaneh (2015). Comparing the efficacy of xylitol-containing and conventional chewing gums in reducing salivary counts of *Streptococcus mutans*: An in vivo study *Journal of International Society of Preventive & Community Dentistry*; 5(Suppl 2): S112–S117.  
DOI: 10.4103/2231-0762.172947
29. Henostroza, Gilberto (2008). *Caries Dental principios y procedimientos para el diagnóstico*. Editorial Médica Ripano, 1ª ed. Madrid- España.

30. Lemus José, Quivey Robert, Hyun Koo, Abranches Jaccqueline (2013). Estreptococos Mutans: a new Gram-positive paradigm? *Microbiology*; 159, 436.  
DOI: 10.1099.0.066134-0
31. Luiz Reynaldo de Figueredo Walter (2000), Odontología para el Bebé - Odontopediatría desde el nacimiento hasta los 3 años. Actualidades Medico odontológicas Latinoamérica, C. A. primera edición.
32. Mäkinen KK, Järvinen KL, Anttila CH, Luntamo LM, Vahlberg T (2013). Topical xylitol administration by parents for the promotion of oral health in infants: a caries prevention experiment at a Finnish Public Health Centre. *International Dental Journal*;63(4):210-24.  
DOI: 10.1111/idj.12038.
33. Medina A Rosalba. Moreno C Luis Carlos. Velasco R Constanza. Gutiérrez C Sonia Jakelin (2015). Estudio comparativo de medios de cultivo para crecimiento y recuperación del Streptococcus mutans ATCC 25175 "in vitro". NOVA – Publicación científica en Ciencias Biomédicas ISSN:1794-2470 vol.3 no. 3 :1-120.  
DOI: 10.22490/24629448.15
34. Maden EA., Altun C., Ozmen B., Basak F. (2018) Antimicrobial Effect of Toothpastes Containing Fluoride, Xylitol, or Xylitol-Probiotic on Salivary Streptococcus mutans and Lactobacillus in Children. *Nigerian Journal of Clinical Practice*; 21:134-8.  
DOI: 10.4103/njcp.njcp\_320\_16

35. Ministerio de Salud (MINSA), Guía Técnica: guía práctica clínica para la prevención, diagnóstico y tratamiento de la caries dental en niños y niñas. Marzo del 2017.
36. Mora León L. y Martínez Olmos J (2000). Prevalencia de caries y factores asociados en niños de 2-5 años de los Centros de Salud Almanjáyar y Cartuja de Granada capital. *Atención Primaria*. Vol. 26. Núm. 6.  
Disponible en: <http://www.ugr.es/~cts131/documentos/DOC0070.PDF>
37. Mussatto Solange Inês, Roberto Conceição, Inês (2003). Xilitol: Una Gran Alternativa en el Mercado de Edulcorantes. *Revista Industrial de Alimentos*. Vol. 6. Nº.25.  
Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/271474044>
38. Lucena GM, França RS, Oliveira VA, Carlo HL, Carvalho FG (2016). Effects of Fluorine and Xylitol in the Antimicrobial Activity of Child Dentifrices. *REFACS* (online); 5 (Supl. 1):101-107.  
DOI: <http://dx.doi.org/10.18554/refacs.v5i0.1978>
39. Ojeda-Garcés Juan Carlos, Oviedo-García Eliana, Salas Luis Andrés. Streptococcus mutans y caries dental. *Revista CES Odontológica*. 2013; 26(1) 44-56.  
Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/ceso/v26n1/v26n1a05.pdf>

40. Padilla Cáceres Tania Carola, Castillo Cevallos Jorge Luis, Catacora Padilla Paula Olenska (2013). Efecto de la Pasta Dental con Xylitol en el recuento de Streptococcos Mutans en Niños de 7 A 9 Años. Estudio Piloto. *Revista Investigación Altoandina*; Vol 15 Nro 1: 75 – 86.  
DOI: 10.18271/ria.2013.18
41. Pinkham, Odontología Pediátrica (1996). Nueva Editorial Interamericana. Segunda Edición. México
42. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo (2012). Caries Dental. México. Primera Edición. pp 28 -30.
43. Rojas, Jhon J.; García, Aura M.; López, Alvin J (2005). Evaluación de dos metodologías para determinar la actividad antimicrobiana de plantas medicinales. *BLACPMA*, vol. 4, núm. 2, marzo, pp. 28-32. Santiago de Chile.  
Disponible en: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85640204>
44. Shankargouda Patil, Roopa S Rao, N Amrutha, DS Sanketh (2013). Oral Microbial Flora in Health. *World Journal of Dentistry, October-December*,4(4):262-266.  
DOI: 10.5005/jp-journals-10015-1242
45. Söderling Eva (2009). Controversies around Xylitol, *European Journal of Dentistry*. Vol.3N.  
DOI: 10.1055/s-0039-1697411

46. Stephen J. Cavalieri et al. (2005). Manual de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana; editora coordinadora, Marie B. Coyle. *American Society for Microbiology*, pp. 39 – 46.
47. Varela Gustavo, Fisiología y metabolismo bacteriano (2011).  
Disponible en: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/Libro2002/Cap%2011.pdf>
48. Worl Dental Federation (2015), El Desafío de las Enfermedades Bucodentales, Una llamada a la acción global. Atlas de Salud Bucodental. Segunda Edición. Brighton, RU.

## ANEXOS

	<b>TÉCNICA ANALÍTICA</b>	Versión : Técnica para el cliente Página : 3 de 9
<b>EFICACIA ANTIMICROBIANA EN PASTAS DENTALES</b>		

- Se preparó 50mL de agar TSA para la fase de activación según las instrucciones del fabricante (52 gramos para 1 litro de agua destilada) en un frasco de vidrio y se esterilizó en autoclave. El agar ya esterilizado se enfrió en baño María a 45-50°C y se vertió en placas Petri estériles.

- Se preparó 900 mL de agar Mueller Hinton para la fase analítica en un frasco de vidrio de acuerdo a las instrucciones del fabricante (34 gramos para 1 litro de agua destilada). Se autoclavó el agar a 121°C y 15 lb/pg<sup>2</sup> durante 15 minutos. Inmediatamente después de autoclavar se llevó a Baño María a 45 - 50°C. Una vez templado se vertió el preparado fresco y tibio a placas Petri de vidrio estériles, para dar un fondo uniforme de aproximadamente 4 mm, esto corresponde a 25-30 ml para placas de 90 mm de diámetro. El agar ya plaqueado se dejó solidificar a temperatura ambiente. El pH de cada lote de agar Mueller Hinton debe tener un pH entre 7,0-7,6. Esta medición puede realizarse sumergiendo el bulbo del electrodo del potenciómetro en el agar antes de autoclavar.

- Se preparó 10mL de suero fisiológico estéril, para ello se pesó 900 mg de cloruro de sodio grado bacteriológico y se completó con agua destilada hasta un volumen de 10mL, se esterilizó en autoclave.

#### 5.1.3 Activación de la Cepa

- La cepa se encontraba refrigerada entre 4-8°C en una placa con agar TSA.

- Se tomó una colonia con el asa bacteriológica y se sembró en un tubo con caldo TSB estéril y se llevó a la incubadora a 35°C por 24 horas.

- La turbidez demostró el crecimiento de las cepas. Se sembró del caldo TSB a placas con agar TSA. Se llevó a la incubadora a 35°C por 24 horas.

#### 5.1.4 Preparación de las Muestras

- Las pastas dentales Dentito baby y Denture BB

### 5.2 Fase Analítica

#### 5.2.1 Preparación del Inóculo

- A partir de colonias puras del microorganismo *Streptococcus mutans* se tomó una cierta cantidad de colonias y se diluyó en un tubo de ensayo conteniendo 10 mL de suero fisiológico estéril (cloruro de sodio 0.9%) de tal manera que la solución resultante tuvo una turbidez correspondiente al tubo N°1 de la escala de MacFarland (escala turbidimétrica que consiste en una serie de tubos con turbidez creciente que permite hallar la concentración aproximada de una solución bacteriana) el cual corresponde a una concentración de  $3 \times 10^8$  ufc/mL.

- A partir de esta última solución se realizó una dilución de 1 en 3, para ello de esta solución preparada se tomó 3 mL y se diluyó a un volumen total de 9 mL con suero fisiológico en un tubo con tapa rosca, todos los materiales usados deben ser estériles y también el área de trabajo. La solución resultante tuvo una concentración de  $1 \times 10^8$  ufc/mL.



	<b>TÉCNICA ANALÍTICA</b>	Versión : Técnica para el cliente Página : 2 de 9
<b>EFICACIA ANTIMICROBIANA EN PASTAS DENTALES</b>		

- Baguetas de vidrio
- Indicador multiparámetro de esterilización.

#### 4.2 Insumos

##### a) Medios de cultivo

- Caldo Trypticasa Soya (TSB)
- Agar Trypticasa Soya (TSA)
- Agar Mueller Hinton

##### b) Inóculo

- *Streptococcus mutans*

##### c) Reactivos

- Agua destilada
- Cloruro de sodio grado bacteriológico
- Alcohol 96°

#### 4.3 Equipos

- Incubadora 35°C EQ-CCA-026 Labor LP-11 S: 69-6315/4
- Autoclave Vertical Digital EQ-CCA-054 Reles AL/D 50L S: 476-15
- Potenciometro EQ-CCA-005 Inolab 730 S: 10380849
- Baño María EQ-CCA-009 Memmert WNE-10 S: L307.0363
- Balanza analítica EQ-CCA-037 AND HR 250 AZ S: GA7702480
- Estufa EQ-CCA-001 Memmert UN55 S: B215-2490
- Mechero Bunsen

### 5. DESARROLLO

#### 5.1 Fase Pre analítica

##### 5.1.1 Preparación de Materiales

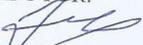
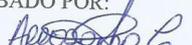
- Las placas Petri se envolvieron en papel craft y se esterilizaron por calor seco en una estufa a 180°C por 2 horas.
- Las puntas para las micropipetas, los viales de vidrio y los tubos con tapa rosca se esterilizaron con calor húmedo en autoclave a 121°C y 15 lb/pg<sup>2</sup> durante 15 minutos.

##### 5.1.2 Preparación de los Medios de Cultivo

- Se preparó 10mL de caldo TSB según las instrucciones del fabricante (30 gramos para 1 litro de agua destilada) en un tubo de ensayo y se esterilizó en autoclave.



**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**  
**(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)**  
**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUIMICA**  
**CENPROFARMA - CCA**

	<b>TÉCNICA ANALÍTICA</b>	Versión : Técnica para el cliente Página : 1 de 9
<b>EFICACIA ANTIMICROBIANA EN PASTAS DENTALES</b>		
ELABORADO POR:  ANALISTA DE ÁREA	REVISADO POR:  RESPONSABLE DE ÁREA	APROBADO POR:  RESPONSABLE DE ÁREA

**1. OBJETIVO**

Evaluar la respuesta de un microorganismo a una muestra con propiedades antimicrobianas.

**2. PRINCIPIOS**

La técnica de eficacia antimicrobiana se realiza mediante el método de difusión en placa o método de Kirby Bauer el cual define la actividad in vitro de un antibiótico frente a un microorganismo determinado y refleja su capacidad para inhibir el crecimiento de una bacteria o población bacteriana. Este método ha sido adaptado para evaluar la eficacia de una muestra vegetal con propiedades antimicrobianas frente a determinados microorganismos.<sup>1, 2 y 3</sup>

**3 AREAS INVOLUCRADAS**

Área de Microbiología.

**4. MATERIALES, INSUMOS Y EQUIPOS**

**4.1 Materiales**

- Vernier digital Caliper Model: DC-515
- Placas Petri de vidrio 90mm de diámetro x 15mm de altura
- Asa de Drigalsky de vidrio
- Tubos 150mm con tapa rosca
- Viales de vidrio de 5mL de capacidad
- Puntas para micropipeta de 20-200 µL
- Puntas para micropipeta de 0.5-5mL
- Micropipeta calibrada de 20-200µL
- Micropipeta calibrada de 0.5-5mL
- Frascos de vidrio de 500mL de capacidad con tapa rosca
- Frascos de vidrio de 200mL de capacidad con tapa rosca
- Viales de vidrio de 10mL de capacidad.
- Gradilla
- Espátulas
- Sacabocado con diámetro interno de 6mm
- Papel craft
- Asa bacteriológica
- Escala de Mac Farland





UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)  
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA  
CENPROFARMA  
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA



## PROTOCOLO DE ANÁLISIS N.º00401-CPF-2019

ORDEN DE ANÁLISIS : 005513/2019  
SOLICITADO POR : EMERSON AGUIRRE CALDAS  
MUESTRA : PASTAS DENTALES  
NÚMERO DE LOTE : ----  
CANTIDAD : 8  
FECHA DE RECEPCIÓN : 24 de Setiembre del 2019  
FECHA DE FABRICACIÓN : ---  
FECHA DE VENCIMIENTO : ---

Microorganismo	Halos de Inhibición (mm) a 24 h								
	40	Blanco	Dentito baby			Denture BB			
<i>Streptococcus mutans</i>	33.98	6	23.52	24.05	23.71	14.26	12.71	13.15	
			24.83	24.57	24.34	13.17	13.23	13.18	
			24.55	25.67	25.82	14.21	14.65	15.17	
	34.12	6	23.92	24.13	24.03	13.15	13.54	12.89	
			23.72	24.67	23.92	14.15	14.62	14.78	
			24.73	24.02	23.75	14.01	12.43	12.62	
			24.15	23.43	23.28	13.62	13.54	12.46	
			23.26	22.89	21.56	13.35	14.01	13.95	
			24.42	23.91	22.83	14.72	15.18	13.92	
	35.03	6	24.64	23.93	24.36	15.17	13.92	15.68	
			21.62	22.75	24.12	15.03	14.71	16.13	
			21.93	22.87	23.03	13.52	14.17	13.74	
			23.82	24.62	23.76	13.95	12.52	13.89	
			21.92	23.63	24.25	14.52	14.73	13.82	
			24.63	24.44	23.98	14.17	15.53	12.87	
				24.69	23.60	24.52	15.01	15.23	15.47

\* El tamaño de los pocillos es de 6mm, por lo tanto, cuando se reporta esta medida indica que no hay formación de halo de inhibición.

\*Concentración del inóculo:  $1 \times 10^8$  UFC/mL

Lima, 09 de Octubre del 2019

Q.F. Gustavo Guerra Brizuela  
Director del Centro de Control Analítico



"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Jr. Puno N° 1002 Jardín Botánico Lima 1 - Perú  
☎ (511) 619-7000 anexo 4824 ✉ Ap. Postal 4559 - Lima 1  
E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>

ISO 9001

BUREAU VERITAS  
Certification

N° BR233265





UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA  
CENPROFARMA

CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA



## PROTOCOLO DE ANÁLISIS N.º00402-CPF-2019

ORDEN DE ANÁLISIS : 005513/2019  
SOLICITADO POR : EMERSON AGUIRRE CALDAS  
MUESTRA : PASTAS DENTALES  
NÚMERO DE LOTE : ---  
CANTIDAD : 8  
FECHA DE RECEPCIÓN : 24 de Setiembre del 2019  
FECHA DE FABRICACIÓN : ---  
FECHA DE VENCIMIENTO : ---

Microorganismo	Halos de inhibición (mm) x 48 h							
	Control	Blanco	Dentito baby			Denture BB		
<i>Streptococcus mutans</i>	33.72	6	13.82	14.53	14.17	10.17	10.21	10.35
			16.48	16.51	15.35	9.14	9.52	9.72
			18.92	19.35	19.54	9.93	10.35	10.27
			16.62	17.38	17.15	8.23	8.91	9.15
			15.33	16.31	15.29	9.74	10.52	10.31
			17.82	16.93	15.89	10.32	10.17	9.76
	32.85	6	15.87	14.32	15.27	9.37	9.72	8.75
			15.17	14.38	14.51	9.93	10.37	9.77
			14.31	14.21	13.82	9.18	9.53	9.65
			15.52	16.17	15.65	8.62	9.15	8.57
			14.38	15.72	15.75	8.94	9.43	8.81
			14.73	12.81	14.35	10.17	9.52	9.73
	33.74	6	15.44	14.38	13.85	9.92	9.87	10.31
			13.78	14.75	14.76	10.16	9.44	9.27
			14.52	13.85	13.21	9.75	10.33	9.67
			15.81	14.46	14.38	9.52	10.63	9.72

\* El tamaño de los pocillos es de 6mm, por lo tanto, cuando se reporta esta medida indica que no hay formación de halo de inhibición.

\*Concentración del inóculo:  $1 \times 10^8$  UFC/mL

Lima, 09 de Octubre del 2019

  
Q.F. Gustavo Guerra Brizuela  
Director del Centro de Control Analítico



**"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"**

Jr. Puno N° 1002 Jardín Botánico Lima 1 - Perú  
☎ (511) 619-7000 anexo 4824 ✉ Ap. Postal 4559 - Lima 1  
E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>

ISO 9001

BUREAU VERITAS  
Certification

N° BR233265





UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA  
CENPROFARMA

CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA



## PROTOCOLO DE ANÁLISIS N.º00403-CPF-2019

ORDEN DE ANÁLISIS : 005513/2019  
SOLICITADO POR : EMERSON AGUIRRE CALDAS  
MUESTRA : PASTAS DENTALES  
NÚMERO DE LOTE : ---  
CANTIDAD : 8  
FECHA DE RECEPCIÓN : 24 de Setiembre del 2019  
FECHA DE FABRICACIÓN : ---  
FECHA DE VENCIMIENTO : ---

Microorganismo	Halos de inhibición (mm) x 72 h							
	Control	Blanco	Dentito baby			Denture BB		
<i>Streptococcus mutans</i>	32.89	6	9.72	9.57	9.81	8.22	9.01	8.03
			10.88	9.75	9.57	8.35	7.92	8.53
			11.32	10.57	11.28	8.37	9.52	9.47
			10.62	11.27	10.52	8.07	8.37	8.27
			11.63	12.44	12.56	7.85	8.03	8.12
			13.13	12.55	12.37	8.52	8.83	9.03
	30.25	6	11.82	11.46	11.52	7.93	7.87	7.85
			11.21	10.84	11.27	9.42	9.03	9.17
			10.62	8.97	9.68	7.95	8.07	8.05
			10.72	10.35	9.74	8.01	8.17	7.89
			10.52	11.37	11.54	7.92	8.08	7.91
			10.51	9.87	10.72	9.25	8.63	8.31
	30.91	6	8.92	8.94	8.69	8.52	8.77	9.65
			10.34	11.27	11.35	8.56	8.33	8.27
			10.17	9.77	8.15	8.41	9.32	8.25
			10.24	9.85	10.72	8.72	9.24	8.95

\* El tamaño de los pocillos es de 6mm, por lo tanto, cuando se reporta esta medida indica que no hay formación de halo de inhibición.

\*Concentración del inóculo:  $1 \times 10^8$  UFC/mL

Lima, 09 de Octubre del 2019



Q.F. Gustavo Guerra Brizuela  
Director del Centro de Control Analítico

**"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"**

Jr. Puno N° 1002 Jardín Botánico Lima 1 - Perú  
☎ (511) 619-7000 anexo 4824 ✉ Ap. Postal 4559 - Lima 1  
E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>

ISO 9001

BUREAU VERITAS  
Certification

N° BR233265



**EFICACIA ANTIMICROBIANA EN PASTAS DENTALES**

**8. Anexos**

**8.1 Certificado del agar Mueller Hinton**



**Certificate of Analysis**

1.05437.0500 MUELLER-HINTON agar for testing the sensitivity of clinically important pathogens  
 Batch VM844637

	Spec. Values	Batch Values
Appearance (clearness)	clear to opalescent	clear
Appearance (color)	yellowish-brown	yellowish-brown
pH-value (25 °C)	7.2 - 7.6	7.4
Solidification behaviour (2 hrs., 40 °C)	liquid	liquid

	Spec. Values	Batch Values
Inhibition zone diameter/Ampicillin 10 µg (Escherichia coli ATCC 25922 (WDCM 00013))	16 - 22 mm	16 mm
Inhibition zone diameter/Tetracyclin 30 µg (Escherichia coli ATCC 25922 (WDCM 00013))	18 - 25 mm	20 mm
Inhibition zone diameter/Gentamicin 10 µg (Escherichia coli ATCC 25922 (WDCM 00013))	19 - 25 mm	23 mm
Inhibition zone diameter/Polymyxin B 300 U/IE (Escherichia coli ATCC 25922 (WDCM 00013))	12 - 17 mm	13 mm
Inhibition zone diameter/SXT 1.25 µg + 23.75 µg (Escherichia coli ATCC 25922 (WDCM 00013))	24 - 32 mm	24 mm
Inhibition zone diameter/Ampicillin 10 µg (Staphylococcus aureus ATCC 25923 (WDCM 00034))	27 - 35 mm	35 mm
Inhibition zone diameter/Tetracyclin 30 µg (Staphylococcus aureus ATCC 25923 (WDCM 00034))	19 - 28 mm	25 mm
Inhibition zone diameter/Gentamicin 10 µg (Staphylococcus aureus ATCC 25923 (WDCM 00034))	19 - 27 mm	22 mm
Inhibition zone diameter/Polymyxin B 300 U/IE (Staphylococcus aureus ATCC 25923 (WDCM 00034))	7 - 13 mm	8 mm
Inhibition zone diameter/SXT 1.25 µg + 23.75 µg (Staphylococcus aureus ATCC 25923 (WDCM 00034))	24 - 32 mm	29 mm
Inhibition zone diameter/Gentamicin 10 µg (Pseudomonas aeruginosa ATCC 27953 (WDCM 00025))	16 - 23 mm	23 mm
Inhibition zone diameter/SXT 1.25 µg + 23.75 µg (Enterococcus faecalis ATCC 33186)	≥ 20 mm	21 mm

incubation: 24 hrs., 35 °C, aerobic.

Merck KGaA, Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt (Germany); +49 6151 72-0  
 EMD Millipore Corporation - a subsidiary of Merck KGaA, Darmstadt, Germany  
 290 Concord Road, Billerica, MA 01821, USA, Phone: (978) 715-4321

Page 1 of 2



 <p><b>CENPROFARMA</b> <b>CCA</b> Centro de Control Analítico</p>	<p><b>TÉCNICA ANALÍTICA</b></p>	<p>Versión : Técnica para el cliente Página : 9 de 9</p>
<p><b>EFICACIA ANTIMICROBIANA EN PASTAS DENTALES</b></p>		

## Certificate of Analysis

1.05437.0500 MUELLER-HINTON agar for testing the sensitivity of clinically important pathogens  
Batch VM844637

Date of release (DD.MM.YYYY) 21.06.2018  
Expiry date (DD.MM.YYYY) 23.05.2023

Stefanie Fischer  
Responsible laboratory manager quality control

This document has been produced electronically and is valid without a signature

Merck KGaA, Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt (Germany): +49 6151 72-0  
EMD Millipore Corporation - a subsidiary of Merck KGaA, Darmstadt, Germany  
290 Concord Road, Billerica, MA 01521 USA, Phone: (978) 715-4321  
SALBA Version 736718 - 0902005964607 - Date: 21.06.2018

Page 2 of 2

