



UNIVERSIDAD PRIVADA NORBERT WIENER
Facultad de Ciencias de la Salud
Escuela Académico Profesional De Odontología

Tesis

EFFECTO ANTIMICROBIANO DE PASTAS DENTALES
REMINERALIZANTES FRENTE AL STREPTOCOCCUS MUTANS –
ESTUDIO IN VITRO, LIMA 2020

TÍTULO PROFESIONAL DE CIRUJANO – DENTISTA

LAZARO DIEGO, MIRIAM LUZ

2020

LIMA – PERÚ

**Efecto antimicrobiano de pastas dentales remineralizantes frente al
Streptococcus mutans – estudio *in vitro*, Lima 2020**

Asesor (a):

Dra. Céspedes Porras, Jacqueline

Código ORCID: 0000-0002-7475-8792

DEDICATORIA

A mi Padre Celestial, el que me da fuerzas día a día y siempre me acompaña.

Le dedico con mi amor y cariño a mi esposo Edwin Martínez, por su esfuerzo y por darme una profesión para nuestro futuro, siempre ha estado apoyándome con mis hijos y en los momentos difíciles.

A mi madre, que desde pequeña me enseñó a seguir adelante, ser perseverante y cumplir mis sueños.

A mis hijos Fabrizzio y Brisseth que son la razón de mi vida.

Gracias a todos ustedes.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios por darme la vida, por permitir estar unidos con mi familia. También agradezco a mi madre por estar siempre allí presente. A mi esposo y a mis hijos por darme la fuerza de seguir adelante y siempre cumplir mis sueños.

A mi asesora, la Dra. Jaqueline Céspedes Porras, que con dedicación y paciencia supo transmitir sus conocimientos.

Al Laboratorio clínico PC –ABO SAC – MEDALAB que me abrió sus puertas y me dieron su confianza, gracias a todos los integrantes por su apoyo.

MIEMBROS DEL JURADO

Asesor : Dra. Jaqueline Céspedes Porras

Presidente:Mg. CD. Esp. Jessica Hamamoto Ichikawa

Secretaria : Mg. CD. Esp. Leyla Bamonde Segura

Vocal : Mg. CD. Ingrid Iturria Reategu

INDICE GENERAL

CAPÍTULO I: EL PROBLEMA	1
1.1. Planteamiento del problema	1
1.2. Formulación del problema	3
1.2.1 Problema general.....	3
1.2.2 Problemas específicos.....	3
1.3 Objetivos de la investigación.....	4
1.3.1 Objetivo general	4
1.3.2 Objetivos específicos	4
1.4 Justificación de la investigación	5
1.4.1 Teórica.....	5
1.4.2 Metodológica.....	5
1.4.3 Práctica.....	5
1.5 Limitaciones de la investigación.....	6
1.5.1 Temporal	6
1.5.2 Espacio.....	6
1.5.3 Recursos.....	6
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	7
2.1. Antecedentes	7
2.2. Bases teóricas.....	13
2.2.1 Caries dental.....	13
2.2.2 Biopelícula.....	14
2.2.3 Bacterias cariogénicas.....	15
2.2.4 Control de la biopelícula.....	16
2.2.5 Dentífricos.....	17
2.2.6 Pastas dentales remineralizantes.....	18
2.3. Formulación de hipótesis.....	20
2.3.1 Hipótesis general	20
CAPÍTULO III: ETODOLOGÍA.....	21
3.1 Método de investigación.....	21

3.2 Enfoque investigativo	21
3.3. Tipo de investigación.....	21
3.4 Diseño de la investigación.....	21
3.5 Población, muestra y muestreo	22
3.6 Variables y operacionalización	23
3.7 Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	23
3.7.1 Técnica.....	23
3.7.2 Descripción.....	24
3.7.3 Validación.....	29
3.8 Procesamiento y análisis de datos.....	29
3.9 Aspectos éticos	30
CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS	31
4.1 Resultados descriptivos.....	31
4.1.1 Efecto antimicrobiano de dos pastas dentales remineralizantes y una pasta con flúor frente a la cepa ATCC 25175 de Streptococcus mutans a las 24 horas.....	31
4.1.2 Efecto antimicrobiano de dos pastas dentales remineralizantes y una pasta con flúor frente a la cepa ATCC 25175 de Streptococcus mutans a las 48 horas.....	33
4.1.3 Comparación del efecto antimicrobiano dos pastas dentales remineralizantes y una pasta con flúor frente a la cepa ATCC 25175 de Streptococcus mutans.....	34
4.2 Comprobación de hipótesis	36
4.3 Discusión de resultados	38
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	45
5.1 Conclusiones.....	45
5.2 Recomendaciones	46
REFERENCIAS	48
ANEXOS.....	54
Anexo 1: Matriz de consistencia.....	55
Anexo 2: Matriz de Operacionalización de variables.....	57
Anexo 3: Carta de solicitud de permiso para la recolección de datos	58
Anexo 4: Carta de presentación dirigida al laboratorio.....	59
Anexo 5: Solicitud y compra de la cepa bacteriana	60

Anexo 6: Equipos de laboratorio utilizados	61
Anexo 7: Preparación del agar	62
Anexo 8: Activación de cepa bacteriana	63
Anexo 9: Preparación del inóculo.....	63
Anexo 10: Preparación de sobrenadantes de las pastas dentales	64
Anexo 11: Colocación de los discos en las cajas de Petri	65
Anexo 12: Pruebas del efecto antimicrobiano	67
Anexo 13: Ficha de recolección de datos	69
Anexo 14: Bioseguridad y eliminación de desechos.....	70
Anexo 15: Constancia de servicio de recojo de residuos sólidos del laboratorio	71
Anexo 16: Carta de constancia de recolección de datos.....	72
Anexo 17: Formatos de validación del instrumento.....	73

INDICE TABLAS Y GRÁFICOS

TABLAS

Tabla 1. Características y mecanismos de acción de las sustancias remineralizantes.....	20
Tabla 2. Pastas dentales usadas en el experimento	27
Tabla 3. Efecto antimicrobiano de dos pastas dentales remineralizantes y una pasta con flúor frente a la cepa ATTCC 25175 de Streptococcus mutans a las 24 horas.....	32
Tabla 4. Efecto antimicrobiano de dos pastas dentales remineralizantes y una pasta con flúor frente a la cepa ATTCC 25175 de Streptococcus mutans a las 48 horas.....	33
Tabla 5. Comparación del efecto antimicrobiano dos pastas dentales remineralizantes y una pasta con flúor frente a la cepa ATTCC 25175 de Streptococcus mutans.....	35
Tabla 6. Comparación de medias entre los grupos.....	36
Tabla 7. Prueba T Student para muestras emparejadas	37

GRÁFICOS

Figura 1. Efecto antimicrobiano de dos pastas dentales remineralizantes y una pasta con flúor frente a la cepa ATTCC 25175 de Streptococcus mutans a las 24 horas.....	32
Figura 2. Efecto antimicrobiano de dos pastas dentales remineralizantes y una pasta con flúor frente a la cepa ATTCC 25175 de Streptococcus mutans a las 24 horas.....	34
Figura 3. Comparación del efecto antimicrobiano dos pastas dentales remineralizantes y una pasta con flúor frente a la cepa ATTCC 25175 de Streptococcus mutans.....	35.

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo evaluar el efecto antimicrobiano de dos pastas dentales remineralizantes en comparación a una pasta con flúor frente a la cepa ATCC 25175 de *Streptococcus mutans* mediante pruebas microbiológicas. Se utilizó un diseño experimental *in vitro*, en el cual se observó el efecto antimicrobiano de tres pastas dentales [Grupo 1 con nanocomplejo de Fosfopéptido de Caseína-Fosfato de calcio Amorfo (CPP-ACP), Grupo 2 con Hidroxiapatita y Grupo 3 con Flúor] mediante la medición de los halos de inhibición que resultan de la técnica de colocación discos de difusión (método de Kirby-Bauer) en los agaros previamente cultivados con la cepa bacteriana a las 24 y 48 horas. Se analizaron 20 elementos por cada grupo evaluado y los datos fueron registrados en una ficha de recolección previamente validada. Los resultados indican que las dos pastas dentales remineralizantes, Grupo 1 con CPP-ACP y Grupo 2 con Hidroxiapatita, tuvieron efecto antimicrobiano frente a la cepa ATCC 25175 de *Streptococcus mutans* a las 24 horas, con medias de halos de inhibición de 12,60 y 11,65 respectivamente. A las 48 horas, se observó un efecto antimicrobiano en los tres grupos, con medias de halos de inhibición de 12,80 para el Grupo 1, 12,0 para el Grupo 2 y 10,20 para el Grupo 3. Hubo una diferencia significativa con respecto a las dos mediciones para todos los grupos ($p=0,000$, $p<0,05$). En conclusión, las tres pastas dentales evaluadas, tuvieron un efecto antimicrobiano frente a la cepa ATCC 25175 de *Streptococcus mutans* a las 48 horas, siendo ligeramente superior el efecto de las pastas remineralizantes.

PALABRAS CLAVE: CPP-ACP, Efecto antimicrobiano, Halo de inhibición, Hidroxiapatita, Pastas dentales remineralizantes, *Streptococcus mutans*.

ABSTRACT

The aim of this study was to evaluate the antimicrobial effect of two remineralizing toothpastes compared to a fluoride toothpaste against *Streptococcus mutans* strain ATCC 25175 using microbiological tests. An in vitro experimental design was used, to observe the antimicrobial effect of three toothpastes [Group 1 with Casein Phosphopeptide-Amorphous Calcium Phosphate nanocomplex (CPP-ACP), Group 2 with Hydroxyapatite and Group 3 with Fluoride]. The inhibition halos were measured by the technique of placing diffusion discs (Kirby-Bauer method) in the agars previously cultured with the bacterial strain at 24 and 48 hours. Twenty elements were analyzed for each group evaluated and the data were recorded in a previously validated collection sheet. The results indicate that the two remineralizing toothpastes, Group 1 with CPP-ACP and Group 2 with Hydroxyapatite, had an antimicrobial effect against *Streptococcus mutans* strain ATCC 25175 at 24 hours, with means of inhibition halos of 12.60 and 11.65 respectively. At 48 hours, an antimicrobial effect was observed in the three groups, with means of inhibition halos of 12.80 for Group 1, 12.0 for Group 2 and 10.20 for Group 3. There was a significant difference with respect to the two measurements for all groups ($p = 0.000$, $p < 0.05$). In conclusion, the three evaluated toothpastes had an antimicrobial effect against *Streptococcus mutans* strain ATCC 25175 at 48 hours and the effect of remineralizing pastes was slightly higher.

KEY WORDS: Antimicrobial effect, CPP-ACP, Inhibition halo, Hydroxyapatite, Remineralizing toothpastes, *Streptococcus mutans*.

INTRODUCCIÓN

El *Streptococcus mutans* ha sido considerado por mucho tiempo como uno de los principales patógenos asociadas a la aparición y progresión de las lesiones de caries dental y, por lo tanto, su control y disminución en la cavidad oral por medio de dentífricos o colutorios, ha sido un tema de investigación concurrente. El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto antimicrobiano de dos pastas dentales remineralizantes en comparación a una pasta con flúor frente a la cepa ATCC 25175 de *Streptococcus mutans* mediante pruebas microbiológicas, Lima 2020.

En el presente documento se informa toda la secuencia de la investigación experimental *in vitro* realizada. En los capítulos I y II, se hace el planteamiento del problema y se describen las bases teóricas y antecedentes del tema hasta el momento. En el capítulo III, se explica la metodología usada para la recolección de los datos. En el capítulo IV y V, se presentan los resultados, la discusión de los mismos, las conclusiones y recomendaciones.

CAPÍTULO I: EL PROBLEMA

1.1. Planteamiento del problema

La caries dental es una enfermedad bucal que se caracteriza por la disolución química localizada de la superficie del diente provocada por la actividad metabólica en un depósito microbiano (biopelícula dental) que cubre la superficie del diente en un momento determinado. La biopelícula dental, también denominada placa bacteriana o placa dental, es una biomasa microbiana compuesta por bacterias residentes de la saliva las cuales metabolizan los azúcares que provienen de la dieta y producen ácidos como productos de desecho. Estos ácidos pueden desmineralizar los tejidos dentales manifestándose en diversas lesiones (1).

Los *Streptococcus* y los *Lactobacillus* son dos grupos de bacterias que han sido asociados a la aparición de lesiones cariosas por sus cualidades, ya que son acidógenos (producen ácidos) y acidúricos (pueden sobrevivir en ambientes ácidos). El *Streptococcus mutans* es uno de los principales patógenos cariogénicos ya que es capaz de metabolizar carbohidratos fermentables y sintetizar una matriz extracelular de polisacáridos que permite la adherencia de más microorganismos a la superficie del diente, y por lo tanto, conducir a la desmineralización de la estructura dental (2).

Una de las principales razones para que exista una lesión de caries es la mala higiene oral que lleva a una acumulación de biopelícula sobre las superficies dentales. La medida más eficaz para prevenir la formación de biopelícula es su eliminación mecánica mediante el cepillado dental pero su eficacia depende en gran medida de la capacidad y cooperación del individuo. Por esta razón, se han desarrollado desde hace varios años diversos agentes químicos para controlar la biopelícula como dentífricos y enjuagues bucales, los cuales sirven como vehículos muy efectivos para suministrar agentes terapéuticos a la cavidad oral (3). Varios agentes químicos como el triclosán, la clorhexidina (CHX), iones metálicos, edulcorantes y aceites esenciales se han agregado a las pastas dentales y al enjuague bucal para proporcionar actividad antimicrobiana. Uno de los agentes más estudiados ha sido el flúor por su acción remineralizante y por su efecto antibacteriano, el cual está bien establecido y depende de la afluencia del hidrógeno fluoruro en células bacterianas y la disociación de los iones de hidrógeno y flúor en el citoplasma. También se sabe que el fluoruro inhibe algunas enzimas bacterianas como la enolasa y la trifosfatasa (4).

Actualmente, existen una gran variedad de pastas dentales para niños que contienen diferentes concentraciones de fluoruros y otros agentes químicos que tiene algún efecto antibacteriano. Además, se han desarrollado otros compuestos que han sido agregados a los dentífricos infantiles que buscan promover la remineralización dental, como es el caso del nanocomplejo de Fosfopéptido de Caseína-Fosfato de calcio Amorfo (CPP-ACP), una forma amorfa de fosfato de calcio (ACP) estabilizado por un fosfopéptido de la caseína de la proteína de la leche (CPP).

La incorporación de CPP en la película salival reduce sustancialmente la adhesión de *Streptococcus mutans*, y esta inhibición selectiva podría disminuir la cariogenicidad de la biopelícula (5). Otra sustancia que también se ha incorporado para promover la remineralización dental es la hidroxiapatita, la cual tiene como función neutralizar los ácidos de la biopelícula y evitar su adhesión al esmalte ya que rellena las lesiones superficiales para mantener una superficie lisa y resistente (6).

Existen pocos estudios in vitro sobre el efecto antimicrobiano de las pastas dentales remineralizantes sobre los *Streptococcus mutans*, por lo que se abre una línea de investigación científica interesante e importante para fortalecer las bases para investigaciones actuales y futuras.

1.2. Formulación del problema

1.2.1 Problema General:

¿Cuál será el efecto antimicrobiano de dos pastas dentales remineralizantes en comparación a una pasta con flúor frente a la cepa ATCC 25175 de *Streptococcus mutans* mediante pruebas microbiológicas, Lima 2020?

1.2.2 Problemas Específicos:

- ¿Cuál será el efecto antimicrobiano de dos pastas dentales remineralizantes y una pasta con flúor frente a la cepa ATCC 25175 de *Streptococcus mutans* a las 24 horas?

- ¿Cuál será el efecto antimicrobiano de dos pastas dentales remineralizantes y una pasta con flúor frente a la cepa ATTCC 25175 de *Streptococcus mutans* a las 48 horas?
- ¿Cuál pasta dental tendrá el mayor efecto antimicrobiano frente a la cepa ATTCC 25175 de *Streptococcus mutans*?

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

Evaluar el efecto antimicrobiano de dos pastas dentales remineralizantes en comparación a una pasta con flúor frente a la cepa ATTCC 25175 de *Streptococcus mutans* mediante pruebas microbiológicas, Lima 2020.

1.3.2 Específicos

- Determinar el efecto antimicrobiano de dos pastas dentales remineralizantes y una pasta con flúor frente a la cepa ATTCC 25175 de *Streptococcus mutans* a las 24 horas.
- Determinar el efecto antimicrobiano de dos pastas dentales remineralizantes y una pasta con flúor frente a la cepa ATTCC 25175 de *Streptococcus mutans* a las 48 horas.
- Comparar el efecto antimicrobiano de dos pastas dentales remineralizantes y una pasta con flúor frente a la cepa ATTCC 25175 de *Streptococcus mutans*.

1.4 Justificación de la investigación

1.4.1 Teórica

A nivel teórico, el presente estudio es relevante e importante para la comunidad académica odontológica ya que busca determinar el efecto antibacteriano de algunas pastas dentales que se están usando para prevenir y controlar a pacientes con alto riesgo de caries dental. Además, los resultados podrán servir como base teórica de futuras investigaciones similares.

1.4.2 Metodológica

A nivel metodológico, el diseño experimental in vitro de este estudio hace que los resultados sean valiosos para la comunidad académica, de manera tal que pueden sumarse a los conocimientos científicos reportados previamente sobre la actividad antimicrobiana de diversas pastas dentales.

1.4.3 Práctica

A nivel práctico, los resultados pueden contribuir al conocimiento sobre el efecto antibacteriano de las pastas dentales remineralizantes disponibles en el mercado, y de esta manera, promover con mejores argumentos su uso para el control y la prevención de la caries en pacientes pediátricos y con alto riesgo de padecer la enfermedad.

1.5 Limitaciones de la investigación

1.5.1 Temporal

Se retrasó un poco la ejecución del experimento *in vitro*, ya que tomó un tiempo la espera a que llegaran algunos productos que debieron ser importados para la realización de esta investigación como la cepa bacteriana y una pasta dental.

1.5.2 Espacio

No se tuvo ninguna limitación con respecto al espacio, ya que se contó todo el tiempo con el acceso al Laboratorio clínico y microbiológico PC –ABO SAC – MEDALAB de la ciudad de Lima.

1.5.3 Recursos

La mayor limitación que se tuvo fue conseguir una de las pastas dentales, específicamente la pasta Remin Pro® VOCO, ya que no se consigue en el país y se tuvo que importar desde España. Esto aumentó ligeramente los costos y retrasó la ejecución del experimento.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la investigación

Guven, et al, (2019). El objetivo de este estudio fue “*evaluar las propiedades antimicrobianas de 6 pastas dentales de nueva formulación y un enjuague bucal*”. Mediante un estudio *in vitro*, se evaluó la actividad antimicrobiana de 6 pastas dentales con diferentes formulaciones y un enjuague bucal contra dos patógenos orales el *S. mutans* (RSKK 07038) y la *C. albicans* (ATCC 10231). Se midieron los diámetros de inhibición en cada caja de Petri a las 48 horas. Los resultados indican que todas las pastas dentales experimentales para adultos mostraron una buena actividad antimicrobiana contra *S. mutans* y *C. albicans* excepto el dentífrico experimental D (que contiene cocamidopropil betaína y lauril sarcosinato de sodio en lugar de lauril sulfato de sodio). La pasta de dientes B mostró la mayor actividad contra *C. albicans* (los ingredientes como dióxido de titanio, goma xantana 20 y el extracto de miswak posee propiedades antifúngicas. En cuanto a los dentífricos para niños, se encontró mejor actividad antimicrobiana en aquellos que contienen ingredientes como el flúor, cocamidopropil betaína y lauril sarcosinato de sodio. Ninguna de las pastas dentales probadas para bebés mostraron efectos antimicrobianos para *C. albicans*. Entre los enjuagues bucales probados, el enjuague bucal Sensodyne mostró los mejores resultados debido a la presencia de cloruro de cetilpiridinio (CPC). Los investigadores concluyen que, aunque las formulaciones experimentales de dentífricos y enjuague bucal tuvieron buenos resultados en términos de actividad antimicrobiana para algunos microorganismos específicos, se requieren más estudios

que involucren más especies bacterianas o analicen la calidad y eficacia de estos productos mediante otras pruebas *in vitro* o *in vivo* (7).

Elgamily, et al., (2019). El objetivo de este estudio fue “*evaluar el potencial antibacteriano y de remineralización de algunas pastas dentales experimentales con fosfopéptidos de nanocaseína (nCPP), fosfato de calcio nano amorfo (nACP), probióticos y nanoglicomacropéptido (nGMP)*”. En un estudio *in vitro*, un total de 100 muestras se prepararon en cinco grupos experimentales de pasta de dientes. Los grupos A1 (CCP), A2 (CCP/ACP), A3 (CCP/ACP/probiótico) y A4 (CPP/ACP/GMP) fueron las pastas dentales experimentales y el grupo (A5) fue el grupo comercial (GC MI Paste Plus). Los cinco grupos se inocularon contra el crecimiento de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175). Los resultados indican que todas las pastas que contienen partículas de nCPP mostraron un potencial antibacteriano contra el crecimiento de *S. mutans* (grupo A1 con 8.10 mm, grupo A2 con 10.4 mm, A3 con 17.1 mm y A4 con 15.9 mm). No hubo halo de inhibición en el grupo control A0 ni en el grupo A5 (GC MI Paste Plus). Se concluye que dos de las pastas experimentales que contienen nCPP-nACP con cepa probiótica o con nGMP demostraron eficacia antimicrobiana (8).

Sanchez, et al., (2019). Esta investigación tuvo como objetivo “*determinar la actividad antibacteriana in vitro de tres dentífricos sin flúor contra el Streptococcus mutans*”. Por medio de un estudio experimental *in vitro*, se evaluó la actividad antibacteriana contra el *Streptococcus mutans* ATCC 25175, midiendo los halos de inhibición a las 48 horas de tres dentífricos no fluorados (con xilitol y extracto de caléndula), y dos grupos control con agua destilada y digluconato de clorhexidina al 0,12 %. Los resultados indican que el diámetro de inhibición del en gluconato de clorhexidina al 0,12 % fue de 26,69 mm en promedio, en el

agua destilada fue de 6 mm y con respecto a los dentífricos a base de xilitol, solo uno mostró actividad antimicrobiana con un puntaje de 22,93 mm en promedio. Se encontró diferencias significativas entre uno de los dentífricos con respecto a los controles ($p < 0,05$). Se concluye que solo uno de los dentífricos para bebés estudiados presenta actividad antimicrobiana contra el *Streptococcus mutans* ATCC 25175 (9).

Trujillo, (2018). Este estudio tuvo como objetivo “*determinar la actividad antimicrobiana de las pastas dentales con y sin triclosán sobre el Streptococcus mutans*”. Se realizó un estudio *in vitro* experimental, en el cual se usaron cuatro pastas dentales, 3 sin triclosán y 1 con triclosán. Se inoculó la cepa de *Streptococcus mutans* ATCC 25175 en 40 placas de Petri y después se colocaron muestras de las cuatro pastas dentales en cada caja. Se evaluaron los halos de inhibición de cada pasta a las 24 y 48 horas. Los resultados indican que la pasta que contenía triclosán presentan una actividad antimicrobiana ligeramente mayor (41.05 ± 3.58 mm a las 24 horas y 39.75 ± 3.32 mm a las 48 horas) comparada a las pastas sin triclosán (39.00 ± 4.05 , 37.8 ± 5.15 , y 39.15 ± 3.87 mm a las 24 horas y 36.80 ± 4.14 , 35.85 ± 4.84 y 37.45 ± 3.72 mm a las 48 horas). No hubo diferencias estadísticas entre la actividad antimicrobiana de las pastas. En conclusión, las pastas dentales estudiadas con y sin triclosán muestran efectividad antimicrobiana contra el *Streptococcus mutans* (10).

Eskandarian, et al. (2017). El objetivo de este estudio fue “*determinar los efectos antimicrobianos del Tetrafluoruro de Titanio (TiF₄) sobre el Streptococcus mutans comparado con clorhexidina (CHX), fluoruro de sodio (NaF) y xilitol*”. En este estudio *in vitro* se evaluaron la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB) del TiF₄, CHX, NaF y xilitol mediante un ensayo de microdilución en

caldo y métodos de difusión por disco. Se hicieron un total de 96 pocillos en las placas de Petri y se incubaron durante 48 horas. Después se midieron los halos de inhibición. En los resultados, al determinar la CMI de TiF₄, NaF, CHX y xilitol usando el ensayo de microdilución en caldo, se encontró que la CIM de la solución de TiF₄ para *S. Mutans* fue similar a la de NaF (12,5%). La Clorhexidina tuvo el CMI más bajo (6.25%) en comparación con el TiF₄ y el NaF. En cuanto a la CMB, usando el método de difusión de disco, se encontró que el CMB del NaF para el *S. Mutans* era similar al de la clorhexidina (12,5%), mientras que la solución de TiF₄ tuvo un mayor CMB (25%). Como era de esperar, el xilitol no mostró ningún efecto bactericida. En conclusión, las soluciones de TiF₄ tienen efectos antimicrobianos sobre el *S. Mutans*, comparable con la clorhexidina y el NaF, lo que indica el posible uso de esta solución en la práctica odontológica como agente anticariogénico para el tratamiento de la caries (11).

Neira, (2016). El objetivo de esta investigación fue “*determinar si los agentes antibacterianos añadidos a dentífricos inhiben al Streptococcus mutans y al Lactobacillus acidophilus*”. En un estudio *in vitro*, se sembraron cepas de *Streptococcus mutans* y de *Lactobacillus acidophilus* en 96 cajas de Petri a los cuales se inocularon 3 dentífricos con componentes de extracto de Aloe vera, Arginina 8% y Monofluorofosfato de sodio 0,76%, y un grupo control con agua destilada. Se midieron los halos de inhibición a las 24 horas. En los resultados se encontró que la Arginina resulta efectiva contra los *Streptococcus mutans* en diluciones de 1:2 (13.5 mm) y 1:4 (11.3 mm) y para *Lactobacillus acidophilus* solo en dilución de 1:2 con un halo de 10.8mm. Un similar resultado los obtuvo el Aloe vera, con una efectividad en las diluciones de 1:2 (12.5mm) y de 1:4 (10.5 mm). Por su lado, el monofluorofosfato de sodio solo fue efectivo para *Streptococcus mutans* en la dilución 1:2

(10.8mm). En conclusión, todos los dentífricos estudiados que contienen diferentes agentes antibacterianos mostraron actividad antimicrobiana frente al *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus acidophilus*, siendo mayor la efectividad de la pasta con contenido de arginina (12).

Tovar, (2016). El objetivo de este estudio fue “demostrar la actividad antimicrobiana de la Stevia en comparación con el Xilitol frente al *Streptococcus mutans*”. Se realizó una investigación *in vitro*, en la cual se utilizó la técnica de agar difusión con bacterias y perforación en placa. Se utilizaron 25 cajas de Petri en donde fueron sembradas las cepas de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y después fueron inoculadas con diluciones de cada extracto (Stevia y Xilitol) y de las soluciones de control. Se midieron los halos de inhibición a las 24 y 48 horas. Se encontró que la Stevia tiene alta inhibición de la actividad microbiana frente a los *Streptococcus mutans* (13.2 mm a las 24 horas y 14.6 a las 48 horas). Por su parte, el Xilitol presenta actividad antimicrobiana ya que los halos encontrados fueron de 8.6 mm a las 24 horas y de 9.51 a las 48 horas. Se concluyó que tanto la Stevia y como el Xilitol son edulcorantes que presentan alta actividad antimicrobiana frente al *Streptococcus mutans* (13).

Randall, et al., (2015). Este estudio tuvo como objetivo “comparar la actividad antimicrobiana de una serie de dentífricos a base de hierbas que contienen flúor y sus componentes contra el *S. mutans*”. Se realizó una investigación experimental *in vitro*, en la cual se utilizó un método de difusión con agar Mueller-Hinton. Los pozos se llenaron con 10 dentífricos con fluoruro y 6 dentífricos a base de hierbas, o con soluciones de varios compuestos de fluoruro, lauril sulfato de sodio, benzoato de sodio, digluconato de clorhexidina o triclosán. Se midieron los diámetros de los halos de inhibición a las 24 horas.

En los resultados se encontraron diferencias significativas para la inhibición del crecimiento bacteriano entre los 10 dentífricos fluorados ($p < 0,0001$), teniendo el mayor efecto antibacteriano la pasta Colgate Total. No hubo una correlación directa con el tipo de fluoruro o la concentración de fluoruro. Las actividades antibacterianas de las 6 pastas dentales a base de hierbas fueron bajas y variaron, siendo Herbal Fresh la más fuerte. El laurilo sulfato de sodio y el triclosán, mostraron una gran actividad antibacterina contra el *S. mutans*. Se concluye que la actividad antimicrobiana de los dentífricos comerciales contra *S. mutans* puede ser ejercida por otros componentes diferentes al fluoruro. Los ingredientes como el triclosán y el lauril sulfato de sodio tienen mayores efectos antimicrobianos que los fluoruros en este modelo de investigación (14).

De Lama, (2015). Esta investigación tuvo como propósito “*evaluar la capacidad antimicrobiana de dos probióticos frente a la bacteria cariogénica Streptococcus mutans y su antagonista Streptococcus sanguinis*”. Mediante un estudio experimental *in vitro*, se utilizaron cepas de 4 bacterias diferentes: *S. mutans* (ATCC 27175), *S. sanguinis* (ATCC10556), *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) y *Bifidobacterium bifidum* (ATCC 11863). Todas fueron cultivadas en sus agares específicos y se incubaron por 72 horas en condiciones de anaerobiosis a 37° C de temperatura. Las muestras fueron preparadas en cuatro grupos diferentes y el efecto inhibitorio fue evaluado con la prueba de difusión con pocillos. El control positivo fue clorhexidina para los cultivos en agar y las bacterias periopatógenas para los probióticos. En los resultados se encontró que las cepas de probióticos estudiados no poseen efecto antibacteriano frente a las cepas de *S. mutans* (ATCC 25175) y *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556). La investigadora concluye que los probióticos *Lactobacillus rhamnosus* GG (ATCC 53103) y *B. bifidum* (ATCC 11863) no

poseen un efecto inhibitorio *in vitro* contra el *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) ni contra el *Streptococcus sanguinis* (ATCC 10556) al ser cultivados simultáneamente (15).

Gualli, (2014). Este estudio *in vitro* tuvo como objetivo “*evaluar la actividad antimicrobiana de seis pastas dentales infantiles frente a la cepa ATCC 25175 de Streptococcus mutans*”. Se realizó un estudio experimental *in vitro* con 6 pastas dentales para niños que fueron diluídas en siete proporciones diferentes (1:2, 1:4, 1:8, 1:16; 1:32; 1:64; 1:128) las cuales fueron puestas en discos de papel estériles y posteriormente colocadas en el agar BHI previamente inoculado con *Streptococcus mutans*. Se midieron los halos de inhibición de cada muestra a las 48 horas. Los resultados indican que la eficacia antimicrobiana es evidente únicamente cuando la dilución es hasta de 1:8 en la mayoría de las pastas analizadas. La pasta dental que presentó un mayor efecto inhibitorio fue Denti fresh con 900 ppm de Flúor (29 mm en dilución de 1:2 y 21,6 mm en dilución de 1:4); seguida de la pasta dental Oral B Stages con 500 ppm Flúor (27,5 mm en dilución de 1:2 y 19,8 mm en dilución de 1:4) y la pasta dental Blendy con xilitol y 500 ppm de Flúor (24,5 mm en dilución de 1:2 y 14,5mm en dilución de 1:4). En conclusión, todos los dentífricos analizados mostraron actividad antimicrobiana frente al *Streptococcus mutans*, siendo mejor en las diluciones de 1:2 y de 1:4. No existe diferencia significativa en cuanto al poder inhibitorio entre las seis pastas dentales evaluadas (16).

2.2. Bases teóricas

2.2.1 Caries dental

El término caries dental se utiliza para describir los signos y síntomas que resultan de la disolución química localizada de la superficie del diente causada por eventos metabólicos que tienen lugar en la biopelícula (placa dental) que cubre el área afectada. Esta destrucción puede afectar al esmalte, la dentina y el cemento y las lesiones pueden manifestarse clínicamente de

muchas formas. Las lesiones de caries dental se desarrollan en las zonas donde se acumula y madura la biopelícula por la dificultad que pueda existir para retirarla, como es el caso de las fosas y fisuras en las superficies oclusales (especialmente durante la erupción dental) y las superficies proximales cervicales (en los puntos o áreas de contacto y a lo largo del margen gingival). También pueden ser puntos susceptibles a la caries aquellos en donde hay inserción de objetos extraños como por ejemplo la aparatología ortodóntica, obturaciones desbordantes y prótesis dentales (17).

Las lesiones de caries se desarrollan cuando existen una serie de eventos metabólicos en los cuales baja el pH salival y como resultado existe una pérdida de minerales en el tejido dental. Por lo tanto, las lesiones de caries dentales son el resultado de un desbalance en el equilibrio fisiológico entre el mineral del diente y el fluido de la biopelícula, asociado a un cambio en la ecología. Existen dos procesos de intercambio iónico que se dan constantemente en la interfaz entre la biopelícula y la superficie dental varias veces durante el día: la Desmineralización que ocurre cuando cae el pH de la biopelícula y hay pérdida de minerales (fosfato y calcio), y la Remineralización que ocurre cuando el pH de la biopelícula aumenta y estos minerales son repuestos. En condiciones fisiológicas (pH 7,4) la saliva y los fluidos orales están sobresaturados con respecto a hidroxiapatita y fluorapatita del esmalte, por lo tanto, existe una homeostasis que es necesaria para el mantenimiento del mineral dental en la boca (1,17).

2.2.2 Biopelícula

En la cavidad bucal de los seres humanos se han detectado más de 700 especies bacterianas diferentes, encontrándose alrededor de 10^8 a 10^9 bacterias por mililitro de saliva. Algunas de estas bacterias se adhieren a los dientes e inician la formación de una biopelícula dental, antes

denominada placa dental o placa bacteriana. La adherencia inicial de bacterias a las superficies dentales limpias está precedida por la formación de una película de glicoproteínas salivales, la llamada “película adquirida”. Algunas especies bacterianas se adhieren inicialmente a esta película por medio de fuerza débiles fisicoquímicas y posteriormente esta adherencia aumenta gracias a la formación de puentes entre las adhesinas de la superficie bacteriana y los receptores de glicoproteínas de la película adquirida. Los colonizadores iniciales son los estreptococos orales, principalmente del grupo *Streptococcus mitis*, seguidos por algunos bacilos grampositivos como algunas especies de *Actinomyces* (18).

2.2.3 Bacterias cariogénicas

El desarrollo de la caries dental se debe a un cambio en la homeostasis local de la microflora residente, lo cual se ve potenciado por algunos factores como el aumento en la ingesta de carbohidratos fermentables, una higiene bucal deficiente o la disminución del flujo salival por medicamentos. Estudios recientes han revelado que la microflora asociada a la caries dental es mucho más compleja de los que se había reportado. Aunque se consideran que los principales responsables de la caries son los *Streptococcus mutans*, los *Actinomyces* y algunas especies de *Lactobacillus*, actualmente la lista de bacterias asociadas a la caries ha aumentado e incluye especies del género *Actinomyces*, *Lactobacillus*, *Dialister*, *Eubacterium*, *Olsenella*, *Bifidobacterium*, *Atopobium*, *Propionibacterium*, *Scardovir*, *Abiotrophia*, *Selenomonas* y *Veillonella*, además de *Streptococcus* orales fermentadores de carbohidratos (19).

El *Streptococcus mutans* (*S. mutans*) ha sido asociado a la caries dental desde mediados del siglo XX ya que se ha encontrado que su hábitat natural es la cavidad bucal humana, más específicamente, la biopelícula dental. En múltiples estudios, se ha aceptado ampliamente que

el potencial cariogénico del *S. mutans* reside en tres atributos principales: 1) la capacidad de sintetizar grandes cantidades de glucanos a partir de la sacarosa, los cuales ayudan en la colonización permanente de los tejidos duros dentales y en el desarrollo de la matriz polimérica extracelular in situ; 2) la capacidad de metabolizar y transportar una gran variedad de carbohidratos en ácidos orgánicos, lo que se le conoce como acidogenicidad; y 3) la capacidad de sobrevivir y crecer en condiciones adversas, particularmente en ambientes con pH muy bajo (19). En muchos estudios, se ha demostrado que el *S. mutans* no solo se ha asociado con el desarrollo de la caries dental, sino que también puede alterar el entorno local al producir una matriz extracelular rica en polisacáridos y un pH bajo, creando de esta manera un nicho favorable para que prosperen otras especies acidógenas y acidúricas. También se ha implicado esta especie con la endocarditis bacteriana subaguda, una inflamación de las válvulas cardíacas potencialmente mortal, y con otras patologías extraorales como la nefropatía por Inmunoglobulinas, la aterosclerosis y microhemorragias cerebrales (20).

De esta manera, los principales factores de virulencia del *S. mutans* son su capacidad para utilizar sacarosa para promover la adhesión y acumulación de más bacterias a la biopelícula, su acidogenicidad y su tolerancia a los ácidos. Como sucede en la mayoría de las interacciones microbio-huésped, estos atributos solo proporcionan al microorganismo un potencial patógeno; depende de la fisiología del huésped y de la ecología de la flora bacteriana general, que ese potencial sea o no suprimido (21).

2.2.4 Control de la biopelícula

Para prevenir la aparición de la caries dental es de suma importancia el establecimiento de hábitos de higiene bucal con el objetivo de controlar la microbiota oral y mantener la salud. El

aprendizaje de estos hábitos se da en la niñez y en la adolescencia, por lo que es una tarea de padres, educadores y odontólogos enseñar las técnicas de cepillado adecuadas según la edad en conjunto con el uso de pastas dentales o dentífricos que contengan fluoruros y otros componentes que permitan controlar la formación y maduración de la biopelícula (17, 22).

El control de la biopelícula dental es uno de los pasos principales en el tratamiento de la caries dental y otras enfermedades asociadas. Este manejo se rige por varios factores: el microambiente dentro de una biopelícula, la unión entre la biopelícula y la superficie, la ubicación de la biopelícula, y el posible acceso para eliminarla. El uso de productos químicos para complementar el retiro biomecánico de la biopelícula o para evitar su adhesión, ha sido un tema de investigación clave en los últimos años. Los vehículos más comunes son los dentífricos, enjuagues bucales, hilos dentales y biomateriales restaurativos (23).

2.2.5 Dentífricos

Una de las recomendaciones más importantes para la prevención de la caries dental y el control de la biopelícula es cepillarse dos veces al día durante al menos 2 minutos con un dentífrico fluorado. La palabra dentífrico es un término usado para describir las pastas o geles que se preparan con el propósito de limpiar y pulir las superficies dentales. Tradicionalmente, el dentífrico contiene abrasivos para ayudar a eliminar la biopelícula y es un vehículo ideal para los principios activos empleados como medida preventiva de la salud bucal. Los dentífricos con flúor se han utilizado ampliamente durante décadas y siguen siendo una intervención de referencia para la prevención de la caries dental. En el mercado, se comercializan varias formulaciones con agentes químicos específicos como enzimas, alcoholes de amina, productos herbales o naturales, compuestos de amonio cuaternario

(cloruro de cetilpiridinio), triclosán Tcs), bisbiguanidas (clorhexidina [CHX]), diferentes sales metálicas (sales de zinc), diversos fluoruros y otros compuestos con potencial remineralizante (24, 25).

2.2.6 Pastas dentales remineralizantes

Con el propósito de promover la remineralización dental, se han desarrollado diversos compuestos que han sido agregados a los dentífricos de uso infantil. Estos preparados son denominados pastas remineralizantes y existen varias en el mercado, como es el caso la pasta MI Paste® - GC América, que contiene un nanocomplejo de Fosfopéptido de Caseína-Fosfato de calcio Amorfo (CPP-ACP), una forma amorfa de fosfato de calcio (ACP) estabilizado por un fosfopéptido de la caseína de la proteína de la leche (CPP), el cual se denomina RECALDENT®. (5). El objetivo del uso de nanopartículas de ACP es ayudar a restaurar el equilibrio de desmineralización / remineralización, imitando el proceso de biomineralización de la dentina y remineralizando de esta manera las lesiones de caries dental. En comparación con las partículas de tamaño micro, las nanopartículas de ACP tienen mejores perfiles de liberación de iones y se transforman más fácilmente en fases cristalinas, como el fosfato octacálcico y la apatita como resultado del crecimiento microcristalino (26). La incorporación de CPP en la película salival reduce sustancialmente la adhesión y el crecimiento del *Streptococcus mutans* y del *Streptococcus sobrinus*, y esta inhibición selectiva podría disminuir la cariogenicidad de la biopelícula. Además, si se combina con fluoruro, se potencia su efecto anticariogénico (27).

Otra sustancia que también se ha incorporado para promover la remineralización dental es la hidroxiapatita contenida en la pasta dental Remin Pro® - VOCO. Este es un material bioactivo

y biocompatible con amplias aplicaciones, se utiliza actualmente como nanocristales incluidos en dentífricos y enjuagues bucales en concentraciones variables para la prevención de la caries dental (6). Los nanocristales de hidroxiapatita carbonatada son compatibles en tamaño, morfología, composición química y estructura cristalina con el esmalte y la dentina, y pueden penetrar y obliteran los defectos en el esmalte y los túbulos dentinarios expuestos. En algunos estudios, incluso se ha comprobado que su eficacia en remineralizar lesiones de caries iniciales es similar a la de los dentífricos que contienen alrededor de 1400 ppm de fluoruro (28). Con respecto a su potencial antimicrobiano, se ha comprobado que la hidroxiapatita tiene como función neutralizar los ácidos de la biopelícula y evitar su adhesión al esmalte ya que rellena las lesiones superficiales para mantener una superficie lisa y resistente (6, 27).

Por su parte, los fluoruros adicionados a los dentífricos tienen como objetivo mantener el balance en los procesos de desmineralización y remineralización. Se han sugerido muchos mecanismos para que el fluoruro logre el efecto anticaries, como lo es la formación de fluorapatita la cual es más resistente a los ácidos que la hidroxiapatita, la mejora de la remineralización, la interferencia de la adhesión iónica durante la formación de la biopelícula, y la inhibición del crecimiento y metabolismo bacteriano. Los fluoruros más usados en dentífricos pueden estar disponibles como el fluoruro de sodio (NAF), el fluoruro estañoso (SNF₂), el fluoruro amino (AmF) o el Monofluorofosfato de sodio (NaMFP). La adición de edulcorantes como el xilitol a los dentífricos mejora la remineralización al igual que concentraciones por encima de 1400 ppm (27). Algunos ensayos clínicos que buscan demostrar la efectividad de las pastas dentales con en la incidencia de caries en población infantil han descrito una ligera reducción de las tasas, pero no son concluyentes (29).

La composición, características y mecanismos de acción de las sustancias remineralizantes presentes en las pastas dentales se detallan a continuación en la tabla 1.

Sustancia	Características
Hidroxiapatita (HA)	<ul style="list-style-type: none"> -Fórmula: $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$ -Elemento mineral de la estructura de los tejidos duros dientes y huesos. -Puede promover la formación ósea (osteoconducción). -Excelente biocompatibilidad con los tejidos duros - No es citotóxico -Usos: cirugías maxilofaciales, defectos óseos, revestimiento de implantes dentales prevención de caries y tratamiento de hipersensibilidad dentinaria (30). - Mecanismo: sellado de túbulos dentinarios y el relleno de esmalte erosionado. Prevención de la desmineralización en áreas subsuperficiales en lesiones de esmalte (31).
Nanocomplejo de Fosfopéptido de Caseína-Fosfato de calcio Amorfo (CPP-ACP)	<ul style="list-style-type: none"> -Forma amorfa de fosfato de calcio (ACP) estabilizado por un fosfopéptido de la caseína de la proteína de la leche (CPP) -Propiedades: biodisponibilidad, biocompatibilidad, osteoconductividad, solubilidad, no es citotóxico. - Si se adiciona con flúor (CPP-ACPF) puede ayudar a potenciar la remineralización -Mecanismo: El CPP-ACP, por la acción de los fosfopéptidos de caseína, se mantiene estable. Si baja el pH, el medio se carga negativamente, se disocian los complejos y se liberan compuestos de fosfato y calcio que sobresaturan la saliva. Esto permite mejorar la capacidad amortiguadora y hay una inhibición bacteriana. También, al entrar en contacto con el diente, promueve un intercambio de iones de CPP-ACP con la superficie dañada del esmalte y se produce la recristalización de hidroxiapatita. - Efecto bioactivo: Inhibe la desmineralización y promueve la remineralización (32).

Tabla 1. Características y mecanismos de acción de las sustancias remineralizantes

2.3. Formulación de Hipótesis

2.3.1 Hipótesis General

Las pastas dentales remineralizantes tendrán un mayor efecto antimicrobiano que la pasta con flúor frente a la cepa ATCC 25175 de *Streptococcus mutans*.

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1. Método de investigación

El método usado fue el deductivo explicativo ya que se tenía como objetivo dar respuesta a la hipótesis de la investigación, tratando de contrastar los hallazgos de estudios previos con lo observado en la experimentación (33).

3.2. Enfoque investigativo

El enfoque usado es el cuantitativo porque busca recolectar datos numéricos para la comprobación de hipótesis por medio de instrumentos y el uso de análisis estadísticos para su interpretación (34).

3.3 Tipo de investigación

Esta investigación es de tipo Básica ya que su objetivo es ampliar el conocimiento teórico y general con respecto al efecto antimicrobiano de algunas pastas dentales sobre el *Streptococcus mutans* (34).

3.4. Diseño de la investigación

El diseño de la investigación es experimental puro *in vitro*, debido a que se realizó en un laboratorio microbiológico en condiciones controladas y reguladas, teniendo como objetivo analizar qué tanto una variable afecta a otra y por qué lo hace. Además, fue longitudinal, ya que se hicieron mediciones en dos momentos, a las 24 horas y a las 48 horas (33).

3.5 Población, muestra y muestreo

La población estuvo conformada por bacterias de la Cepa *Streptococcus mutans* (ATCC-25175). La fórmula que se emplea para calcular el tamaño de la muestra en este caso es:

$$n = \frac{2(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 * S^2}{d^2}$$

Donde:

n= elementos necesarios en cada muestra

Z_{α} es el valor Z correspondiente al riesgo α fijado, $\alpha = 0.05$

Z_{β} es el valor Z correspondiente al riesgo β fijado, $\beta = 0.20$

S es la desviación estándar = 1.825

d es el valor mínimo de la diferencia de medias que se desea detectar=1.68

$$n = \frac{2 (1.645 + 0.842)^2 * 3.33}{2.82}$$

$$n = \frac{12.15 * 3.33}{2.82} = 14.35$$

Se requieren como mínimo 15 elementos por cada grupo de pastas dentales que se van a estudiar. En este caso, se usaron 20 elementos por grupo.

3.6. Variables y operacionalización

VARIABLE	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN	ESCALA VALORATIVA
Pastas dentales remineralizantes	Dentífricos a los cuales se les ha adicionado compuestos con la capacidad de neutralizar la acidez de la biopelícula, reducir la sensibilidad dental y fortalecer y remineralizar el esmalte dental. Son usadas en pacientes con alto riesgo de caries (5).	Ingredientes activos de las pastas dentales	Nominal	- Pasta 1: Pasta dental con CPP-ACP - Pasta 2: Pasta dental con hidroxiapatita -Pasta 3: Pasta dental con 1.450 ppm de flúor
Efecto antimicrobiano	Acción de ciertas sustancias eficaces con capacidad de inhibir la proliferación de bacterias (efecto bacteriostático) o destruirlas (efecto bactericida) (35).	Diámetro del halo de inhibición	Continua	Milímetros (mm)
Tiempo	Magnitud física que permite ordenar la secuencia de sucesos	Tiempo de efecto antimicrobiano	Nominal	- 24 horas

	(36).			- 48 horas
--	-------	--	--	------------

3.7. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.7.1. Técnica

La técnica utilizada en esta investigación fue la *observación científica*, la cual consiste en observar o examinar de manera atenta, controlada y sistemática un fenómeno, en este caso particular, el experimento *in vitro*, para posteriormente medir, tomar y registrar los datos, analizarlos estadísticamente, discutirlos con la evidencia previa y elaborar conclusiones. Para la observación se utilizan los sentidos del investigador y en algunos casos, algunos aparatos técnicos. La observación científica utilizada en esta investigación es de tipo *Directa de Laboratorio* ya que se ha tenido contacto personal con el fenómeno a estudiar y se ha desarrollado en un laboratorio microbiológico; además es *Estructurada* y *Sistemática* porque se realizó con ayuda de una ficha de recolección de datos (37).

3.7.2. Descripción

Antes de iniciar la recolección de los datos, se solicitó el permiso correspondiente a la Escuela Académico Profesional de Odontología de la Universidad Privada Norbert Wiener para realizar esta investigación en el Laboratorio clínico y microbiológico PC –ABO SAC – MEDALAB de la ciudad de Lima (ver anexo 3). El Decano de la Facultad de Ciencias de la Salud emitió una carta de presentación dirigida al director del laboratorio para permitir el ingreso de la investigadora a las instalaciones y poder realizar el estudio experimental (ver anexo 4).

Como segundo paso, se coordinó con el laboratorio todo lo referente al préstamo de los diferentes equipos y materiales necesarios para el estudio. También se iniciaron los trámites para la compra de algunos insumos como la cepa ATCC 25175 de *Streptococcus mutans* (ver anexo 5). Durante todas las visitas al laboratorio microbiológico, se siguieron todas las normas de bioseguridad y control de infecciones requeridas, que incluyen la colocación de equipos de protección personal como uniforme, mandil descartable, lentes protectores, guantes, mascarilla, cubre calzado, gorro, etc. Estas medidas son necesarias para evitar el riesgo de contaminación al momento que se manipulan las cepas bacterianas.

Materiales y equipos:

Para la realización de esta investigación experimental, se necesitaron los siguientes materiales: cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), Agar sangre de cordero, Cajas de Petri, Agua destilada estéril, Regla de Vernier, micropipeta, discos de antibiograma, tubos de ensayo, hisopos estériles, pinza metálica estéril y pastas dentales a probar (MI Paste Plus® - GC América, Remin Pro® VOCO y VITIS Junior® DENTAID). Los equipos del laboratorio a utilizar son: Baño María, Incubadora, autoclave, centrífuga y balanza analítica (ver anexo 6).

Evaluación del efecto antimicrobiano:

Para la evaluación del efecto antimicrobiano de las pastas dentales sobre la cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), se realizaron los siguientes pasos: preparación del agar, activación de la cepa bacteriana, preparación del inóculo, preparación de sobrenadantes, colocación de los discos y pruebas del efecto antimicrobiano (técnica de difusión en agar).

1. Preparación del agar

La activación de la cepa se debe realizar sobre un medio de cultivo enriquecido, que sea preparado específicamente para el tipo de bacteria que se quiere activar. En este caso, se utilizó el agar sangre de cordero (sangre de ovino desfibrinada). Para la preparación de agar sangre de cordero, se llevó a la autoclave el agar base para tenerlo en líquido a 15 libras de presión por 30 minutos. Después, se colocó el agar base de 100 ml en un matraz y cuando alcanzó la temperatura de 37°C, se adicionaron 25 ml de la sangre de cordero por las paredes del matraz y se hizo la mezcla (por cada 100 ml de agar base, 25 ml de sangre). Una vez obtenido el agar sangre de cordero, se colocó en 30 cajas de Petri las cuales fueron llevadas a la estufa incubadora a 37° C de temperatura por 24 horas (ver anexo 7).

2. Activación de la cepa

Una vez preparados los medios de cultivo, se debe activar la cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175), para lo cual se llevó a baño María por 1 hora hasta obtener una temperatura de 37°C. Después se agregó 1 ml de suero fisiológico (NaCl 0.9%) y se agitó (ver anexo 8).

3. Preparación del inóculo

Una vez activada la cepa de *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) fue colocada en las 30 placas de agar sangre con la ayuda de hisopos estériles. La técnica utilizada para el inóculo fue el estriado. Las cajas de Petri se colocaron la incubadora por 24 horas a una temperatura de 37°C para observar el crecimiento de Unidades Formadoras de Colonias (UFC) (ver anexo 9).

4. Preparación de sobrenadantes:

Para la preparación de sobrenadantes de las tres pastas dentales a estudiar (VITIS Junior® DENTAID, Remin Pro® VOCO y MI Paste Plus® - GC), se procedió a mezclar 3 gramos de cada una con 10 ml de agua destilada en tubos estériles debidamente etiquetados, agitando la mezcla por un minuto. Después se centrifugaron por 20 minutos a 3500 rpm con el fin de precipitar las partículas sólidas de las pastas. Además de las pastas, se usaron dos controles, el control positivo (Clorhexidina al 2%) y el control negativo (agua destilada) (ver anexo 10). En la tabla 2 se observa el detalle de las pastas dentales usadas en el estudio, sus componentes y el número de elementos por cada una.

Tabla 2. Pastas dentales usadas en el experimento

Pasta dental	Componentes activos	No. de elementos
Grupo 1: MI Paste Plus® - GC Corporation, Tokio, Japón	CPP-ACP Xilitol Fluoruro de sodio :900 ppm	20
Grupo 2: Remin Pro® VOCO, Cuxhaven, Alemania.	Hidroxiapatita Xilitol Fluoruro de sodio :1450 ppm	20
Grupo 3: VITIS Junior® DENTAID, España	Fluoruro de sodio :1450 ppm Pantenol (Pro vitamina B5) 1.00% Xilitol	20

5. Colocación de los discos:

Posteriormente, con una micropipeta se tomaron 10 microlitros del sobrenadante de cada pasta, para empapar cada uno de los discos de papel esterilizados con un diámetro de 6 mm. En cada caja de Petri se colocaron, con la ayuda de una pinza estéril, 2 discos de la pasta a estudiar, 1 disco con el control positivo (Clorhexidina al 2%) y 1 disco con el control negativo (agua destilada). Fueron en total 20 discos de cada pasta en 10 placas. Este procedimiento se repitió con las otras dos pastas dentales a estudiar. En total entonces fueron 30 cajas de Petri, distribuidas de la siguiente manera: 10 cajas con 20 discos de la Pasta 1 (MI Paste Plus® - GC América), 10 cajas con 20 discos de la Pasta 2 (Remin Pro® VOCO) y 10 cajas con 20 discos de la Pasta 3 (VITIS Junior® DENTAID). Cada caja fue debidamente rotulada con nombre de pasta y número, y se colocaron en la incubadora a 37°C por 48 horas (ver anexo 11).

6. Pruebas de efecto antimicrobiano

La técnica utilizada para medir el efecto antimicrobiano es la de discos de difusión (método de Kirby-Bauer) la cual consiste en depositar en la superficie de una caja de Petri con un agar previamente inoculado con el microorganismo, discos de papel de filtro empapados con la sustancia a estudiar. Tan pronto como el disco toca la superficie húmeda del agar, el filtro absorbe agua, la sustancia se difunde por el agar y se forma un gradiente de concentración. Transcurridas las 24 horas o más de incubación, pueden observarse o no los discos rodeados por una zona de inhibición del crecimiento bacteriano, lo que se conoce como halo de inhibición (38).

Con la ayuda del calibrador de Vernier y manteniendo iluminada la parte posterior de la caja de Petri, se midieron los halos de inhibición de cada uno de los medios de cultivo a las 24 horas y 48 horas (ver anexo 12). Estos datos fueron plasmados en una ficha de recolección de

datos a las 24 horas y a las 48 horas (ver anexo 13). Si bien no existen valores estandarizados para determinar la sensibilidad de las bacterias en el método de difusión, varios investigadores han planteado que se requiere como mínimo un diámetro de halo de inhibición de 10 mm para intentar establecer que el agente testado tiene un efecto antimicrobiano. Barry (1991) afirmó que un agente contenido en un disco debe ser lo suficientemente potente para producir como mínimo halos de 10 mm, y no debe ser demasiado potente como para producir halos mayores a 40 mm (39). Con base en esta información, este estudio experimental consideró que las pastas dentales que produzcan halos de inhibición iguales o mayores a 10 mm, tendrán efectividad antibacteriana, medida que también ha sido usada en el estudio de Sanchez et al. (9), Neira (12), Gualli (16) y Alves (40).

Bioseguridad y eliminación de desechos:

Después de tomar todas las mediciones, se desecharon las cajas de Petri de acuerdo a los protocolos de bioseguridad con respecto a la eliminación de desechos. Esto se realizó colocando las cajas de Petri en bolsas de color rojo, debidamente selladas y rotuladas con la fecha de desecho (ver anexo 14). El laboratorio cuenta con un servicio de recojo y transporte de residuos sólidos biocontaminados (ver anexo 15).

Toda la investigación experimental *in vitro* estuvo supervisada en todo momento por un tecnólogo médico del laboratorio microbiológico quien estuvo monitoreando todo el proceso y verificando el correcto registro de los datos (ver anexo 16).

3.7.3. Validación

La validación de la ficha de recolección de datos se realizó mediante el juicio de 4 expertos, los cuales son cirujanos dentistas, con grado de maestría y con amplia experiencia científica. A cada experto se le envió un formato de validación a través del correo electrónico y sus respuestas fueron obtenidas por el mismo medio (Ver anexo 17). Todos los jueces aprobaron la ficha de recolección por unanimidad.

3.8. Procesamiento y análisis de datos

Se utilizó el programa Word para la redacción del proyecto y el documento final de tesis. Para la tabulación y el procesamiento inicial de los datos, se usó el programa Excel, en el cual se colocaron todos los datos escritos inicialmente en la ficha de recolección. Posteriormente, se realizó la estadística descriptiva e inferencial utilizando el programa estadístico SPSS 24.

3.9. Aspectos éticos

La presente investigación tuvo en cuenta las normas internacionales y nacionales sobre investigación *in vitro* con microorganismos, así como las disposiciones vigentes en bioseguridad y control de infecciones en el laboratorio microbiológico. Se solicitaron todos los permisos necesarios a las instituciones involucradas para llevar a cabo la experimentación y recolección de los datos. Se siguió el procedimiento metodológico y las técnicas de laboratorio que mejor se adaptaron a las circunstancias del estudio, así como el uso de un instrumento de recolección de datos con validación suficiente para lograr los objetivos.

CAPÍTULO IV. PRESENTACIÓN Y DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

4.1. Resultados descriptivos

A continuación, se presentan los resultados de este estudio a través de estadísticas descriptivas e inferenciales. En total, se registraron 20 elementos por cada pasta dental estudiada y sus resultados se detallan de acuerdo al orden de los objetivos planteados.

4.1.1 Efecto antimicrobiano a las 24 horas

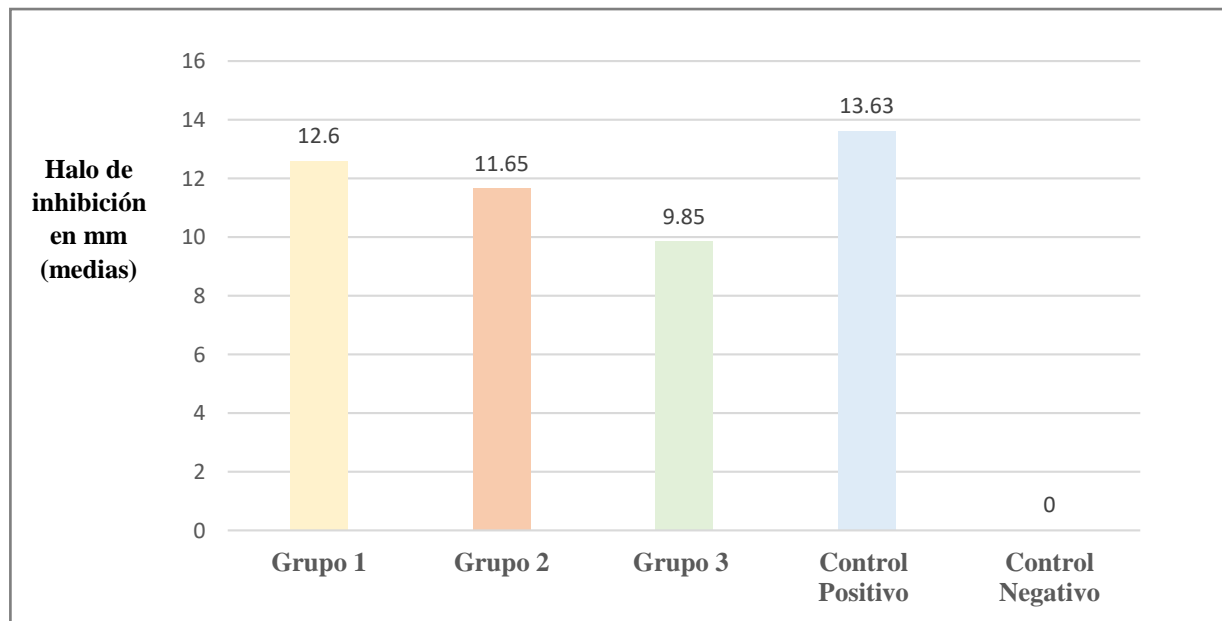
En la **Tabla 3** y el **Gráfico 1**, se pueden observar las medias de los halos de inhibición que se obtuvieron a las 24 horas. El Grupo 1 obtuvo el mayor puntaje con una media de 12,60 mm con una desviación estándar de 1,69, seguido por el Grupo 2 con una media de 11,65 y una desviación estándar de 1,53. El tercer lugar, lo obtuvo el Grupo 3 con una media de 9,85 y una desviación estándar de 0,98. Al compararse con el control positivo, el resultado del Grupo 1 estuvo bien cercano ya que la Clorhexidina al 2% obtuvo una media de 13,63 con una desviación estándar de 1,03. El resultado del control negativo fue de 0 mm como era esperado.

Tabla 3. Efecto antimicrobiano de dos pastas dentales remineralizantes y una pasta con flúor frente a la cepa ATTCC 25175 de *Streptococcus mutans* a las 24 horas

		Halos de inhibición en mm				
		Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Control	Control
		MI Paste Plus®	Remin Pro®	VITIS Junior®	Positivo	Negativo
		GC América	VOCO	DENTAID	CHX	H ₂ O
N	Válido	20	20	20	30	30
	Perdidos	10	10	10	0	0
Media		12,60	11,65	9,85	13,63	0
Desviación estándar		1,698	1,531	,988	1,033	0
Mínimo		10	9	8	12	0
Máximo		16	15	11	16	0

Fuente: Elaboración propia

Figura 1. Efecto antimicrobiano de dos pastas dentales remineralizantes y una pasta con flúor frente a la cepa ATTCC 25175 de *Streptococcus mutans* a las 24 horas



Fuente: Elaboración propia

4.1.2 Efecto antimicrobiano a las 48 horas

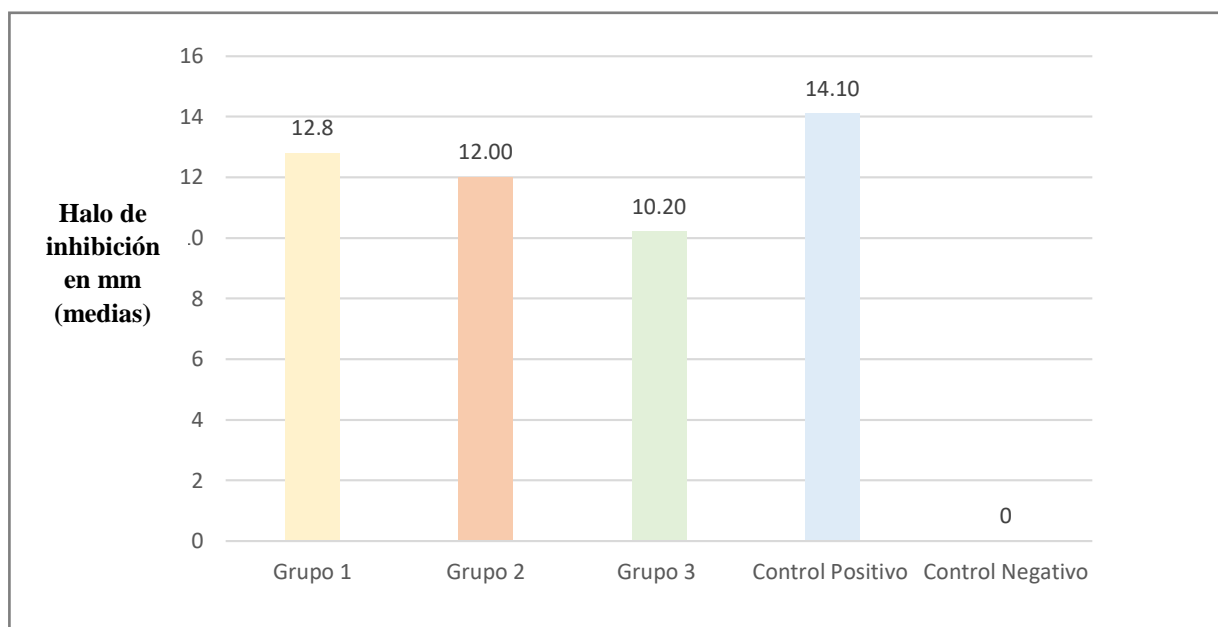
Con respecto a los resultados obtenidos a las 48 horas, en la **Tabla 4** y **Figura 2** se puede observar que se encontró una ligera mejoría en todos los grupos, permaneciendo en primer lugar el Grupo 1 con una media de 12,80 y una desviación estándar de 1,54, seguido por el Grupo 2 con una media de 12,0 y una desviación estándar de 1,45. En tercer lugar, se encontró el grupo 3 con una media de 10,20 y una desviación estándar de 0,89. El grupo del control positivo aumentó ligeramente como era esperado, con una media de 14,10 y desviación estándar de 0,84. Nuevamente, como era esperado, no hubo ningún efecto antimicrobiano en el grupo del control negativo.

Tabla 4. Efecto antimicrobiano de dos pastas dentales remineralizantes y una pasta con flúor frente a la cepa ATTCC 25175 de *Streptococcus mutans* a las 48 horas

		Halos de inhibición en mm				
		Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Control	Control
		MI Paste Plus®	Remin Pro®	VITIS Junior®	Positivo	Negativo
		GC América	VOCO	DENTAID	CHX	H ₂ O
N	Válido	20	20	20	30	30
	Perdidos	10	10	10	0	0
Media		12,80	12,00	10,20	14,10	0
Desviación estándar		1,542	1,451	,894	,845	0
Mínimo		11	10	8	13	0
Máximo		16	15	11	16	0

Fuente: Elaboración propia

Figura 2. Efecto antimicrobiano de dos pastas dentales remineralizantes y una pasta con flúor frente a la cepa ATCC 25175 de *Streptococcus mutans* a las 24 horas



Fuente: Elaboración propia

4.1.3 Comparación del efecto antimicrobiano de las pastas dentales

Al hacer la comparación de los resultados de las tres pastas dentales estudiadas, se puede observar en la **Tabla 5** que, si bien todas las pastas tuvieron un efecto antimicrobiano, el Grupo 1 tuvo las medias más altas tanto a las 24 horas como a las 48 horas (12,6 y 12,80), seguido por el Grupo 2 (11,65 y 12,0) y el Grupo 3 (9,85 y 10,20). Los tres grupos mejoraron entre la primera y segunda medición. En la **Figura 3**, se puede observar la mejoría de cada Grupo entre las 24 y 48 horas.

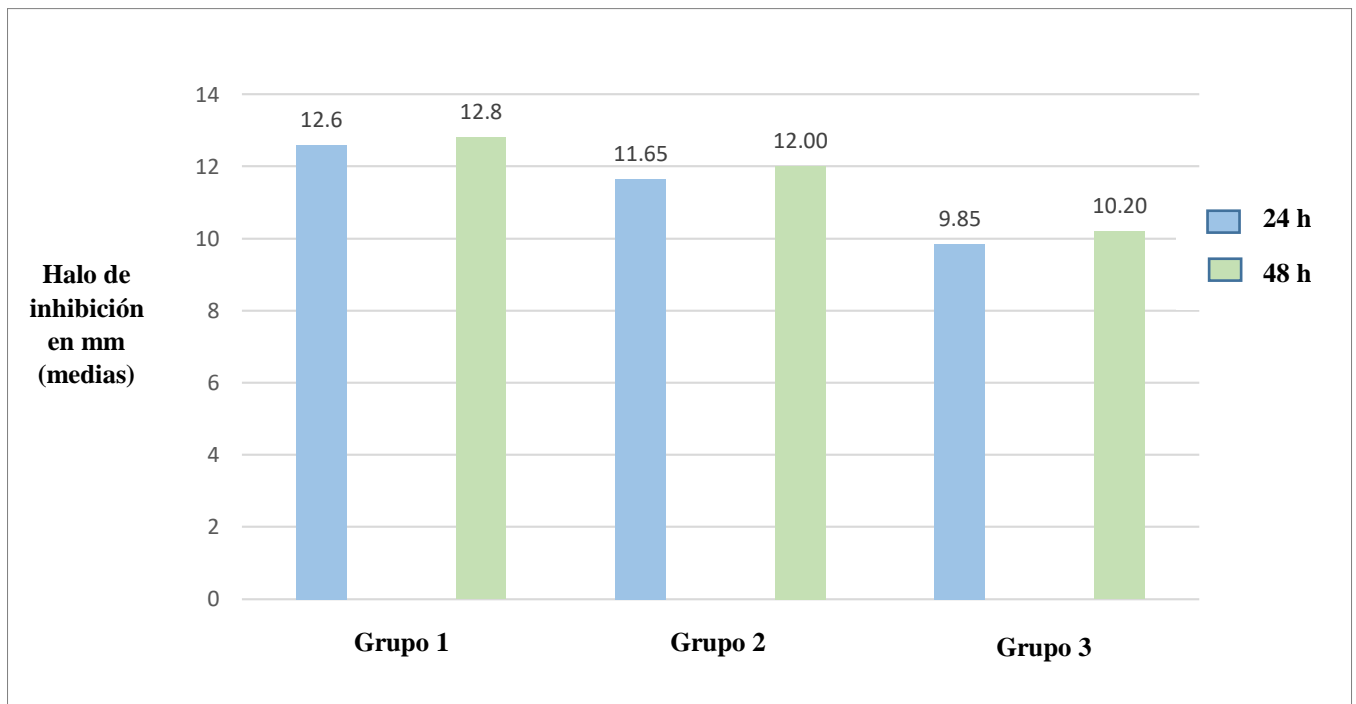
Tabla 5. Comparación del efecto antimicrobiano dos pastas dentales remineralizantes y una pasta con flúor frente a la cepa ATTCC 25175 de *Streptococcus mutans*.

Halos de inhibición en mm

	Grupo 1 MI Paste Plus® GC América 24 horas	Grupo 1 MI Paste Plus® GC América 48 horas	Grupo 2 Remin Pro® VOCO 24 horas	Grupo 2 Remin Pro® VOCO 48 horas	Grupo 3 VITIS Junior® DENTAID 24 horas	Pasta 3 - VITIS Junior® DENTAID 48 horas
Media	12,60	12,80	11,65	12,00	9,85	10,20
Desviación estándar	1,698	1,542	1,531	1,451	,988	,894
Media de error estándar	,380	,345	,342	,324	,221	,200

Fuente: Elaboración propia

Figura 3. Comparación del efecto antimicrobiano dos pastas dentales remineralizantes y una pasta con flúor frente a la cepa ATTCC 25175 de *Streptococcus mutans*.



Fuente: Elaboración propia

Con el fin de analizar si existe correlación entre las mediciones a las 24 horas y 48 horas de cada grupo estudiado, se realizó una prueba de comparación de medias entre los grupos. En la **Tabla 6** se puede observar que existe una muy alta correlación entre los resultados de cada grupo, con una correlación muy cercana a 1 (Grupo 1= 0,972, Grupo 2 = 0,924, Grupo 3=0,869) y un nivel de significancia de 0,000 para todos los grupos ($p < 0,05$), lo que indica que el aumento en el efecto antimicrobiano entre las dos mediciones a las 24 y 48 horas es significativo para todos los grupos.

Tabla 6. Comparación de medias entre los grupos

		N	Correlación	Sig.
Grupo 1	MI Paste Plus® - GC- 24 horas & MI Paste Plus® - GC- 48 horas	20	,972	,000
Grupo 2	Remin Pro® VOCO - 24 horas & Remin Pro® VOCO - 48 horas	20	,924	,000
Grupo 3	VITIS Junior® DENTAID - 24 horas & VITIS Junior® DENTAID - 48 horas	20	,869	,000

Fuente: Elaboración propia

4.2 Comprobación de Hipótesis

Hipótesis general:

Las pastas dentales remineralizantes tendrán un mayor efecto antimicrobiano que la pasta con flúor frente a la cepa ATCC 25175 de *Streptococcus mutans*.

Tabla 7. Prueba T Student para muestras emparejadas

		Prueba de muestras emparejadas								
		Diferencias emparejadas								
		Media	Desviación estándar	Media de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia		t	gl	Sig. (bilateral)	
					Inferior	Superior				
Par 1	Grupo 1 MI Paste Plus® - GC- 24 h MI Paste Plus® - GC- 48 h	,200	,410	,092	,392	,008	2,179	19	,042	
Par 2	Grupo 2 Remin Pro® VOCO - 24 h Remin Pro® VOCO - 48 h	,350	,587	,131	,625	,075	2,666	19	,015	
Par 3	Grupo 3 VITIS Junior® DENTAID- 24 h VITIS Junior® DENTAID- 48 h	,350	,489	,109	,579	,121	3,199	19	,005	

Conclusión: En la **Tabla 7** se observa la Prueba de T Student para muestras emparejadas que tiene como propósito analizar si las diferencias entre los puntajes a las 24 horas y las 48 horas son significativas y si se puede establecer cuál de los grupos de pastas dentales estudiados tiene significativamente el mayor efecto antimicrobiano con el paso del tiempo. En la estadística descriptiva presentada previamente, se observa que los tres grupos presentan un efecto antimicrobiano alto, siendo las pastas remineralizantes (Grupo 1 -MI Paste Plus® y Grupo 2 -Remin Pro® VOCO), las que producen halos de inhibición más amplios en comparación a la pasta con flúor.

En la prueba T se observa que la diferencia entre las medias de los puntajes obtenidos a las 24 y 48 horas es de 0,200 para el Grupo 1 y de 0,350 para los Grupos 2 y 3 ($\neq 0$) lo que indica que las tres pastas dentales tienen un efecto antimicrobiano frente a la cepa ATCC 25175 de

Streptococcus mutans y además, hubo un incremento con una significancia bilateral menor a 0,05 ($p < 0,05$) en todos los grupos (Grupo 1: $p = 0,042$, Grupo 2: $p = 0,015$ y Grupo 3: $p = 0,005$). De esta manera, se concluye que, si bien las pastas dentales remineralizantes tienen un mayor efecto antimicrobiano que la pasta con flúor frente a la cepa ATCC 25175 de *Streptococcus mutans*, todas demostraron un efecto antimicrobiano que aumenta significativamente entre las 24 y 48 horas.

4.3 Discusión de resultados

El objetivo de esta investigación fue evaluar el efecto antimicrobiano de dos pastas dentales remineralizantes en comparación a una pasta con flúor frente a la cepa ATCC 25175 de *Streptococcus mutans*. Para lograr este objetivo, se utilizó un diseño experimental in vitro, en el cual se observó el efecto antimicrobiano de las pastas escogidas mediante la medición de los halos de inhibición que se formaban en los agares previamente cultivados con la cepa bacteriana a las 24 y 48 horas. Con respecto a la metodología y a la recolección de los datos, todo el procedimiento se realizó mediante la técnica de discos de difusión (método de Kirby-Bauer) la cual ha sido ampliamente usada y presenta la ventaja de que sus resultados son altamente reproducibles. Este método de difusión en disco ha sido estandarizado y es recomendado por el Instituto de Estándares de Laboratorio Clínico de Estados Unidos para determinar cuantitativamente la sensibilidad de las bacterias a diversas sustancias, sobre todo a los antibióticos (35, 38). En cuanto a investigación odontológica, se han realizado múltiples estudios con esta técnica, que evalúan el efecto antimicrobiano de dentífricos con diversos compuestos activos como flúor, enzimas, alcoholes de amina, productos herbales o naturales, compuestos de amonio cuaternario como el cloruro de cetilpiridinio, triclosán, clorhexidina,

sales de zinc, probióticos y como en este caso, partículas con potencidiferentes sales metálicas (sales de zinc), diversos fluoruros y otros compuestos con potencial remineralizante como el CPP-ACP y la hidroxiapatita (7-16, 40).

En cuanto a la interpretación de los resultados, no se encontraron valores estandarizados para determinar la sensibilidad de las bacterias en el método de difusión. Sin embargo, después de buscar en diversas fuentes, se observó que varios investigadores han planteado que se requiere como mínimo un diámetro de halo de inhibición de 10 mm para intentar establecer que el agente testado tiene un efecto antimicrobiano. Uno de los pioneros en dar sus apreciaciones al respecto fue Barry, quien afirmó en 1991 que un agente contenido en un disco debe ser lo suficientemente potente para producir como mínimo halos de 10 mm, y no debe ser demasiado potente como para producir halos mayores a 40 mm (39). Con base en esta información, este estudio experimental consideró que las pastas dentales que produzcan halos de inhibición iguales o mayores a 10 mm, tienen efecto antimicrobiano, medida que también ha sido usada en el estudio de Sanchez et al. (9), Neira (12), Gualli (16) y Alves (40).

El primer objetivo específico de esta investigación fue determinar el efecto antimicrobiano de dos pastas dentales remineralizantes y una pasta con flúor frente a la cepa ATCC 25175 de *Streptococcus mutans* a las 24 horas. Los resultados indican que el Grupo 1 (MI Paste Plus® GC América) obtuvo el mayor puntaje con una media de 12,60 mm con una desviación estándar de 1,69, seguido por el Grupo 2 (Remin Pro® VOCO) con una media de 11,65 y una desviación estándar de 1,53. El tercer lugar, lo obtuvo el Grupo 3 (VITIS Junior® DENTAID) con una media de 9,85 y una desviación estándar de 0,98. Según estos valores, las pastas del Grupo 1 y Grupo 2, tuvieron halos de inhibición por encima de 10 mm, por lo que se considera

que a las 24 horas, obtuvieron un efecto antimicrobiano. Mientras que, la pasta del Grupo 3, tuvo una media de halos de inhibición de 9,85, muy cercano a 10 mm, resultado que no es totalmente concluyente ya que igual se observó un halo de inhibición que sugiere actividad antimicrobiana.

El segundo objetivo específico fue determinar el efecto antimicrobiano de dos pastas dentales remineralizantes y una pasta con flúor frente a la cepa ATCC 25175 de *Streptococcus mutans* a las 48 horas. Los resultados indican que se encontró una ligera mejoría en todos los grupos, permaneciendo en primer lugar el Grupo 1 con una media de 12,80 y una desviación estándar de 1,54, seguido por el Grupo 2 con una media de 12,0 y una desviación estándar de 1,45. En tercer lugar, se encontró el grupo 3 con una media de 10,20 y una desviación estándar de 0,89. Según estos valores, con el paso del tiempo, el efecto antimicrobiano aumenta en todos los grupos, e incluso en el Grupo 3, ya que se observan valores mayores a 10 mm. De esta manera, se puede interpretar que la pasta dental estudiada en el Grupo 3 que contiene Fluoruro de sodio (1450 ppm), xilitol y pantenol como componentes activos, alcanza un efecto antimicrobiano a las 48 horas; mientras que las pastas remineralizantes estudiadas del Grupo 1 (que contiene CPP-ACP, xilitol y 900 ppm de fluoruro de sodio) y del Grupo 2 (que contiene Hidroxiapatita, xilitol y 1450 ppm de fluoruro de sodio), alcanzan un efecto antimicrobiano desde las 24 horas y va aumentando hasta las 48 horas.

Los resultados de esta investigación son similares a los presentados por Elgamily et al. quienes realizaron un estudio con el objetivo de evaluar el potencial antibacteriano de pastas experimentales con fosfopéptidos de nanocaseína (nCPP) y fosfato de calcio nano amorfo (nACP) frente al *Streptococcus mutans*, encontrando que el grupo de la pasta que contenía

CPP-ACP tuvo un efecto antimicrobiano a las 24 horas con una media de 10,4 y desviación estándar de 2,7 (8). Igualmente, Attiguppe et al. encontraron en su estudio que el complejo CPP-ACP incluido en el barniz fluorado MI varnish® GC América, además de inhibir la desmineralización del esmalte dental, también tiene un efecto antimicrobiano frente al *Streptococcus mutans*, encontrando una media en los halos de inhibición de 24,75 con una desviación estándar de 1,76. De esta manera, concluye que la combinación del CPP-ACP y el flúor mejora la actividad preventiva de caries (5).

Durante varios años, con la ayuda de los avances tecnológicos, se han desarrollado materiales novedosos que puedan superar el desafío de controlar y prevenir la caries dental. Un claro ejemplo ha sido la creación de varios compuestos que tienen un gran potencial de remineralización como es el caso del complejo CPP-ACP, una forma amorfa de fosfato de calcio (ACP) estabilizado por un fosfopéptido de la caseína de la proteína de la leche (CPP) que puede usarse para localizar la ACP en la biopelícula, con el propósito de amortiguar la actividad libre de los iones calcio y fosfato, manteniendo un estado de sobresaturación con respecto al esmalte dental. Esto se traduce en la disminución de la desmineralización y en la promoción de la remineralización, durante los desafíos acidogénicos. La incorporación de CPP en la película salival reduce sustancialmente la adhesión de *Streptococcus mutans*, y esta inhibición podría promover la formación de una biopelícula no cariogénica (32). Al respecto, Rose indicó en su estudio que la mayor ventaja de usar el complejo CPP-ACP es que se une muy bien a la biopelícula, proporcionando un gran reservorio de calcio, que probablemente restrinja la pérdida de minerales durante un episodio cariogénico (disminución del pH por consumo de dieta rica en carbohidratos fermentables) y proporcione una fuente potencial de calcio para la remineralización posterior (41).

Con respecto a los resultados alcanzados por el Grupo 2 que contiene como ingrediente activo principal la hidroxiapatita, se puede decir se está usando con mayor frecuencia para la prevención de la caries dental, en forma de nanocristales incluidos en dentífricos y enjuagues bucales en concentraciones variables. Los nanocristales de hidroxiapatita carbonatada son compatibles en tamaño, morfología, composición química y estructura cristalina con el esmalte y la dentina, y pueden penetrar al esmalte dental y túbulos dentinarios expuestos, obliterándolos y mejorando la continuidad superficial (6). En algunos estudios, incluso se ha comprobado que su eficacia en remineralizar lesiones de caries iniciales es similar a la de los dentífricos que contienen alrededor de 1400 ppm de fluoruro (28). Con respecto a su potencial antimicrobiano, se ha comprobado que la hidroxiapatita tiene como función neutralizar los ácidos de la biopelícula y evitar su adhesión al esmalte ya que rellena las lesiones superficiales para mantener una superficie lisa y resistente (6, 27).

En el estudio de Rifada et al., que tenía como objetivo identificar la relación entre el cambio de pH del microambiente oral y su papel en la viabilidad de *Streptococcus mutans*, considerando que el cambio en el pH está estrechamente relacionado con el número de *Streptococcus mutans* como principal organismo cariogénico y bacteria productora de ácido. Los resultados de su estudio indican que al agregar nanopartículas de Hidroxiapatita en la pasta dental, hay un efecto en el pH y en la actividad antimicrobiana. Los resultados de su estudio muestran que la hidroxiapatita adicionada a la pasta dental, mejora la habilidad de recuperación del pH en los primeros 60 minutos, llegando a 7, lo que se correlaciona con el número de *Streptococcus mutans* el cual se observa que es menor en los dientes tratados con hidroxiapatita (42). De esta manera, otro mecanismo de acción de la hidroxiapatita sobre el

Streptococcus mutans, puede ser su potencial de aumentar el pH local y, por lo tanto, la disminución de la desmineralización del esmalte.

El tercer objetivo específico de este estudio fue comparar el efecto antimicrobiano dos pastas dentales remineralizantes y una pasta con flúor frente a la cepa ATCC 25175 de *Streptococcus mutans*. Al hacer la comparación de los resultados de las tres pastas dentales estudiadas, se puede observar que las pastas remineralizantes (Grupo 1 con CPP-ACP y Grupo 2 con hidroxiapatita) fueron superiores a la pasta con flúor en cuanto al efecto antimicrobiano sobre el *Streptococcus mutans* tanto a las 24 como a las 48 horas. Se encontró que los tres grupos mejoraron entre la primera y segunda medición, existiendo una muy alta correlación entre los resultados de cada grupo con un nivel de significancia de $p=0,000$ ($p<0,05$) lo que indica que el aumento en el efecto antimicrobiano entre las dos mediciones a las 24 y 48 horas es significativo para todos los grupos. Con respecto al resultado obtenido por la pasta con flúor, la media a las 24 horas fue de 9,85 y a las 48 horas fue de 10,20. Este dato es similar al descrito por Neira, quien en su estudio encontró que en el grupo de pasta que contenía flúor (Monofluorofosfato de Sodio en la dilución 1:2) hubo un efecto antimicrobiano a las 24 horas con una media de 10,8 y desviación estándar de 1.0 (12). De la misma manera, Gualli realizó un estudio comparando la actividad antimicrobiana frente al *Streptococcus mutans* de 6 pastas dentales infantiles, encontrando que la pasta con 1450 ppm de flúor tuvo un efecto antimicrobiano a las 24 horas con un halo de inhibición de 16,3 (16).

Las tres pastas dentales estudiadas tenían como componente el xilitol, un endulzante de origen natural ampliamente usado en dentífricos, enjuagues bucales y gomas de mascar como coadyuvante en el control de la caries dental. La adición del xilitol a los dentífricos mejora la

remineralización al igual que concentraciones por encima de 1400 ppm (27). Marghalani et al., en su revisión sistemática sobre la efectividad del xilitol en la reducción de la caries dental de niños, reportan que al analizar cinco ensayos controlados aleatorios se observó que el xilitol tuvo un pequeño efecto en la reducción de la caries dental, pero estos resultados no son concluyentes (29). Con respecto al efecto antimicrobiano del xilitol, Sánchez et al. en su estudio que buscaba determinar la actividad antibacteriana de tres pastas dentales sin flúor, encontraron que la única pasta dental que tuvo efecto antimicrobiano fue la que contenía como componente activo el xilitol con un diámetro medio de 22,93 y desviación estándar de 3,93 (9). De la misma manera, en el estudio realizado por Tovar que tuvo como objetivo comparar la actividad antimicrobiana de la Stevia y el Xilitol frente al *Streptococcus mutans*, encontró que el xilitol presenta actividad antimicrobiana ya que los halos encontrados fueron de 8.6 mm (con desviación estándar de 1,09) a las 24 horas y de 9.51 (desviación estándar de 0,51) a las 48 horas, con una significancia de $p=0,008$ (10).

CAPÍTULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

Las tres pastas dentales evaluadas, Grupo 1 con CPP-ACP, Grupo 2 con Hidroxiapatita y Grupo 3 con Flúor, mediante pruebas microbiológicas *in vitro* por medio del medio de difusión, tuvieron un efecto antimicrobiano frente a la cepa ATCC 25175 de *Streptococcus mutans* a las 48 horas, siendo ligeramente superior el efecto de las pastas remineralizantes (con CPP-ACP y con Hidroxiapatita).

Las dos pastas dentales remineralizantes, Grupo 1 con CPP-ACP y Grupo 2 con Hidroxiapatita, tuvieron efecto antimicrobiano frente a la cepa ATCC 25175 de *Streptococcus mutans* a las 24 horas, con medias de halos de inhibición de 12,60 y 11,65 respectivamente. La pasta dental con Flúor tuvo una media de halo de inhibición de 9,85 y no se consideró que tuviera un efecto antimicrobiano a las 24 horas.

Las tres pastas dentales estudiadas, Grupo 1 con CPP-ACP, Grupo 2 con Hidroxiapatita y Grupo 3 con Flúor, tuvieron efecto antimicrobiano frente a la cepa ATCC 25175 de *Streptococcus mutans* a las 48 horas, aumentando ligeramente los valores en los tres grupos, con medias de halos de inhibición de 12,80, 12,0 y 10,20 respectivamente.

Al comparar el efecto antimicrobiano de las tres pastas dentales frente a la cepa ATCC 25175 de *Streptococcus mutans* se encontró el efecto de las pastas remineralizantes, Grupo 1 con CPP-ACP y Grupo 2 con Hidroxiapatita, fue superior a la pasta del Grupo 3 con Flúor tanto a las 24 como a las 48 horas. Se encontró que los tres grupos mejoraron entre la primera y segunda medición, existiendo una muy alta correlación entre los resultados de todos los grupos y diferencias significativas con un nivel de significancia de $p=0,000$ ($p<0,05$).

5.2 Recomendaciones

Se recomienda a la comunidad científica odontológica, realizar más investigaciones usando diversos métodos para medir el efecto antimicrobiano de dentífricos disponibles en el mercado frente al *Streptococcus mutans* y otras bacterias asociadas a la aparición de caries dental. De esta manera, se puede aumentar la cantidad y calidad de conocimientos científicos sobre el tema y buscar las mejores alternativas de pastas dentales que se pueden recomendar a los pacientes según su riesgo de caries.

De la misma manera, se recomienda a los estudiantes de odontología de los últimos ciclos que realicen más investigaciones de tipo experimental microbiológica, analizando el efecto antimicrobiano de múltiples componentes adicionados comercialmente a productos de higiene bucal como dentífricos, enjuagues bucales o hilos dentales, así como aquellos agregados a algunos biomateriales de última generación.

A la comunidad odontológica , se recomienda el uso de las tres pastas dentales estudiadas, ya que además de tener potencial remineralizante, también tienen efecto antimicrobiano frente al *Streptococcus mutans*, bacteria asociada a la aparición de caries dental.

REFERENCIAS

1. Kidd E, Fejerskov O. Essentials of dental caries. Oxford University Press, United Kingdom, 2016. Pp: 6 – 7.
2. Flemming HC, Wingender J. The biofilm matrix. *Nat Rev Microbiol* 2010;8(9):623–633. doi: <https://doi.org/10.1038/nrmicro2415>
3. Jafer M, Patil S, Hosmani J, Bhandi SH, Chalisserry EP, Anil S. Chemical plaque control strategies in the prevention of biofilm-associated oral diseases. *J Contemp Dent Pract* 2016;17(4):337–343. doi: 10.5005/jp-journals-10024-1851
4. Ullah R, Zafar MS. Oral and dental delivery of fluoride: a review. *Fluoride* 2015;48:195-204.
5. Attiguppe P, Malik N, et al. CPP–ACP and Fluoride: A Synergism to Combat Caries. *Int J Clin Pediatr Dent* 2019;12(2):120–125. doi:10.5005/jp-journals-10005-1608
6. Meyer F, Enax J. Hydroxyapatite in Oral Biofilm Management. *Eur J Dent.* 2019;13(2):287-290. doi:10.1055/s-0039-1695657
7. Guven Y, Ustun N, Tuna E, Aktoren O. Antimicrobial effect of newly formulated toothpastes and a mouthrinse on specific microorganisms: An in vitro study. *European journal of dentistry*, 2019; 13(2): 172. doi: <https://doi.org/10.1055/s-0039-1695655>
8. Elgamily H, Safwat E, Soliman Z, Salama H, El-Sayed H, Anwar M. Antibacterial and Remineralization Efficacy of Casein Phosphopeptide, Glycomacropeptide Nanocomplex, and Probiotics in Experimental Toothpastes: An In Vitro Comparative Study. *Eur J Dent.* 2019 Jul;13(3):391-398. doi: 10.1055/s-0039-1693748.

9. Sanchez S, Elías M, Arellano C, Diéguez M. Acción antibacteriana in vitro de dentífricos sin flúor frente a cepas de *Streptococcus mutans*. *Revista Cubana de Estomatología*, 2019; 56(3): 1-11. Consultado el 04-10-2020 en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0034-75072019000300005&script=sci_abstract&tlng=en
10. Trujillo S. Actividad antimicrobiana de las pastas dentales con y sin triclosán sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC 25175. Estudio comparativo in vitro. Tesis para optar por el título de Cirujano-dentista. Lima, 2018. Consultado el 03-10-2020 en: <http://repositorio.uwiener.edu.pe/handle/123456789/2363>
11. Eskandarian T, Motamedifar M, Arasteh P, Eghbali S, Adib A, Abdoli Z. Comparison of antimicrobial effects of titanium tetrafluoride, chlorhexidine, xylitol and sodium fluoride on *Streptococcus mutans*: an in-vitro study. *Electronic Physician*, 2017; 9(3), 4042 – 4047. doi: <http://dx.doi.org/10.19082/4042>
12. Neira K. Análisis in vitro de tres dentífricos con agentes antibacterianos y su eficacia frente a *Streptococcus mutans* (ATCC 25175) y *Lactobacillus acidophilus* (ATCC 4356). Tesis para optar por el Título de Odontóloga, Quito, 2016. Consultado el 04-10-2020 en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/5697>
13. Tovar G. Actividad antimicrobiana de la Stevia en comparación con el xilitol, frente a los *Streptococcus mutans*—un estudio in vitro. *Odontología Activa Revista Científica*, 2016: 1(2), 51-54. doi: <https://doi.org/10.31984/oactiva.v1i2.134>
14. Randall J, Seow W, Walsh L. Antibacterial activity of fluoride compounds and herbal toothpastes on *Streptococcus mutans*: An in vitro study. *Australian dental journal*, 2015; 60(3): 368-374. doi: 10.1111/adj.12247

15. De Lama M. Evaluación in vitro del efecto antimicrobiano de los probióticos lactobacillus rhamnosus GG (ATCC 53103) y bifidobacterium bifidum (ATCC 11863) contra Streptococcus mutans (ATCC 25175) y Streptococcus sanguinis (ATCC 10556). Tesis para optar por el título de Cirujano Dentista, Universidad Peruana de Ciencias. Lima, 2015. Consultado el 05-10-2020 en: <http://repositorioacademico.upc.edu.pe/upc/handle/10757/582435>
16. Gualli M. Estudio in vitro de la eficacia en la inhibición del Streptococcus mutans de seis pastas dentales de uso pediátrico. Tesis para optar por el Título de Especialista en Odontopediatría, Quito, 2014. Consultado el 05-10-2020 en: <http://repositorio.usfq.edu.ec/handle/23000/3000>
17. Fejerskov O, Kidd E. Dental Caries. The disease and its clinical management. Blackwell Munksgaard, United Kingdom, 2008, 2nd Ed. Pp:4-6.
18. Marsh PD, Zaura E. Dental biofilm: ecological interactions in health and disease. JClin Periodontol 2017; 44 (Suppl. 18): S12–S22. doi: 10.1111/jcpe.12679.
19. Matsumoto M. Role of Streptococcus mutans surface proteins for biofilm formation. Japanese Dental Science Review, 2018; 54(1): 22-29. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jdsr.2017.08.002>
20. Lemos J, Palmer S, Zeng L, Wen Z, Kajfasz J, Freires I, Brady L. The biology of Streptococcus mutans. Gram-Positive Pathogens, 2019: 435-448. doi: <https://doi.org/10.1128/9781683670131.ch27>
21. Banas J. Virulence properties of Streptococcus mutans. Frontiers in Bioscience, 2004; 9: 1267-1277. Consultado el 02-12-2020 en: https://www.researchgate.net/profile/Jeffrey_Banas/publication/5242097_Virulenc

e_properties_of_Streptococcus_Mutans/links/09e4151015ce265ded000000/Virulence-properties-of-Streptococcus-Mutans.pdf

22. Larsen T, Nils-Erik F. Dental biofilm infections—an update. *Apmis* (2017); 125(4): 376-384. doi:10.1111/apm.12688
23. Patil S, Vidya G, Baeshen H, Sumayli M, AlShahrani M, Najmi A, Khan S. Current trends and future prospects of chemical management of oral biofilms. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, 2020; 10(4): 660-664. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jobcr.2020.08.017>
24. Fernandes T, Bhavsar C, Sawarkar S, D'souza A. Current and novel approaches for control of dental biofilm. *International Journal of Pharmaceutics*, 2018; 536(1): 199-210. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2017.11.019>
25. Valkenburg C, Van der Weijden F, Slot D. Plaque control and reduction of gingivitis: The evidence for dentifrices. *Periodontology 2000*, 2019; 79(1), 221-232. doi: 10.1111/prd.12257
26. Jiao Y, Tay F, Niu L. Advancing antimicrobial strategies for managing oral biofilm infections. *Int J Oral Sci*, 2019; 11(28). doi:<https://doi.org/10.1038/s41368-019-0062-1>
27. Rao A, Malhotra N. The role of remineralizing agents in dentistry: a review. *Compend Contin Educ Dent*. 2011; 32:26–33. Consultado el 10-12-2020 en: <https://eprints.manipal.edu/2081/1/21.pdf>
28. Amaechi B, AbdulAzees P, Alshareif D. Comparative efficacy of a hydroxyapatite and a fluoride toothpaste for prevention and remineralization of dental caries in children. *BDJ Open*, 2019; 5 (18). <https://doi.org/10.1038/s41405-019-0026-8>

29. Marghalani AA, Guinto E, Phan M, Dhar V, Tinanoff N. Effectiveness of Xylitol in Reducing Dental Caries in Children. *Pediatr Dent*. 2017 Mar 15;39(2):103-110. PMID: 28390459.
30. Elkassas D, Arafa A. The innovative applications of therapeutic nanostructures in dentistry. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 2017;13 (4): 1543-1562. doi: <https://doi.org/10.1016/j.nano.2017.01.018>
31. Kamath U, Sheth H, Mullur D, Soubhagya M. The effect of Remin Pro® on bleached enamel hardness: An in-vitro study. *Indian J Dent Res* 2013; 24: 690-3. Consultado el 11-12-2020 en: <https://www.ijdr.in/text.asp?2013/24/6/690/127612>
32. Farooq I, Moheet I, Imran Z, Farooq U. A review of novel dental caries preventive material: Casein phosphopeptide–amorphous calcium phosphate (CPP–ACP) complex. *King Saud University Journal of Dental Sciences*, 2013; 4: 47-51. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ksujds.2013.03.004>
33. Hernández-Sampieri R, Torres C. *Metodología de la investigación*. 4ta edición México, Ed. McGraw-Hill Interamericana, 2018
34. Bisquerra R. *Metodología de la investigación educativa*. 2ª ed. Madrid: La Muralla; 2004.
35. Ramirez L, Castaño D. Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Scientia et Technica*, 2009; 15(42), 263-268. Consultado el 22-10-2020 en: <https://www.redalyc.org/pdf/849/84916714049.pdf>
36. Real Academia Española (RAE). *Diccionario de la lengua española*. Consultado el 10-12-2020 en <https://dle.rae.es/tiempo>

37. Díaz-Sanjuán L. La observación. Facultad de Psicología de la Universidad Autónoma de México, 2010. Pp: 7-9. Consultado el 10-12-2020 en: http://www.psicologia.unam.mx/documentos/pdf/publicaciones/La_observacion_Lidia_Diaz_Sanjuan_Texto_Apoyo_Didactico_Metodo_Clinico_3_Sem.pdf
38. Taroco R, Seija V, Vignoli R. Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. Temas de Bacteriología y Virología Médica, Oficina del libro FEFMUR, Uruguay, 2006; 36(1): 665-668. Consultado el 08-12-2020 en: <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/BacteCEFA36.pdf>
39. Barry A, Thornsberry C. Susceptibility Tests: Difussion Test Procedures. En Balows A. et al. Ed. Manual of Clinical Microbiology. 5th Ed. Washington DC, ASM Press, 1991. Pp 117-1125.
40. Alves R. Estudo in vitro da eficácia anti-bacteriana de seis dentífricos em *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus acidophilus*. (Tesis de grado). 2009. Consultada el 10-12-2020 en: <https://bdigital.ufp.pt/handle/10284/1931>
41. Rose R. Binding characteristics of *Streptococcus mutans* for calcium and casein phosphopeptide. *Caries Research*, 2000; 34(5): 427-431.
42. Rifada A, Af'idah B, Aufia W, Vibriani A, Maghdalena M, Saputro K, Rochman N. Effect of Nano Hydroxyapatite in Toothpaste on Controlling Oral Microbial Viability. In IOP Conference Series: Materials Science and Engineering, 2020; 924 (1): 012010. Consultado el 12-12-2020 en: <https://iopscience.iop.org/article/10.1088/1757-899X/924/1/012010/pdf>

ANEXOS

Anexo 1: Matriz de consistencia

Título: “EFECTO ANTIMICROBIANO DE PASTAS DENTALES REMINERALIZANTES FRENTE AL STREPTOCOCCUS MUTANS – ESTUDIO IN VITRO, LIMA 2020”

Formulación del Problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Diseño metodológico
<p><u>Problema general:</u></p> <p>¿Cuál será el efecto antimicrobiano de dos pastas dentales remineralizantes en comparación a una pasta con flúor frente a la cepa ATTCC 25175 de Streptococcus mutans mediante pruebas microbiológicas, Lima 2020?</p>	<p><u>Objetivo general:</u></p> <p>Evaluar el efecto antimicrobiano de dos pastas dentales remineralizantes en comparación a una pasta con flúor frente a la cepa ATTCC 25175 de Streptococcus mutans mediante pruebas microbiológicas, Lima 2020.</p>	<p><u>Hipótesis general:</u></p> <p>Las pastas dentales remineralizantes tendrán un mayor efecto antimicrobiano que la pasta con flúor frente a la cepa ATTCC 25175 de Streptococcus mutans.</p>	<p><u>Variable 1:</u></p> <p>Efecto antimicrobiano</p> <ul style="list-style-type: none"> - Halo de inhibición 	<p><u>Tipo de Investigación:</u></p> <p>experimental <i>in vitro</i></p> <p><u>Método y diseño de la investigación:</u></p> <p>Cuantitativo, longitudinal, explicativo</p>
<p><u>Problemas Específicos:</u></p> <p>¿Cuál será el efecto antimicrobiano de dos pastas dentales remineralizantes y una pasta con flúor frente a la cepa ATTCC 25175 de Streptococcus mutans a las 24 horas?</p>	<p><u>Objetivos específicos:</u></p> <p>Determinar el efecto antimicrobiano de dos pastas dentales remineralizantes y una pasta con flúor frente a la cepa ATTCC 25175 de Streptococcus mutans a las 24 horas.</p>		<p><u>Variable 2:</u></p> <p>Pastas dentales</p> <ul style="list-style-type: none"> -Pasta 1: Pasta dental con CPP-ACP -Pasta 2: Pasta dental con hidroxilapatita -Pasta 3: Pasta 	<p><u>Población y muestra:</u></p> <p><u>Población:</u></p> <p>Streptococcus mutans</p> <p><u>Muestra:</u> 30 placas de Petri, con 20 elementos por cada pasta dental.</p>

<p>¿Cuál será el efecto antimicrobiano de dos pastas dentales remineralizantes y una pasta con flúor frente a la cepa ATTCC 25175 de Streptococcus mutans a las 48 horas?</p> <p>¿Cuál pasta dental tendrá el mayor efecto antimicrobiano frente a la cepa ATTCC 25175 de Streptococcus mutans?</p>	<p>Determinar el efecto antimicrobiano de dos pastas dentales remineralizantes y una pasta con flúor frente a la cepa ATTCC 25175 de Streptococcus mutans a las 48 horas.</p> <p>Comparar el efecto antimicrobiano de dos pastas dentales remineralizantes y una pasta con flúor frente a la cepa ATTCC 25175 de Streptococcus mutans.</p>		<p>dental con 1.450 ppm de flúor</p> <p><u>Variable 3:</u></p> <p>Tiempo:</p> <ul style="list-style-type: none"> - 24 horas - 8 horas 	
---	--	--	---	--

Anexo 2: Matriz de Operacionalización de variables

Variable 1: Efecto antimicrobiano

Definición operacional: Acción de ciertas sustancias eficaces con capacidad de inhibir la proliferación de bacterias (efecto bacteriostático) o destruirlas (efecto bactericida) (31).

Dimensión	Escala de medición	Escala valorativa
Halo de inhibición antimicrobiano	Continua	Efecto antimicrobiano alto: > 10 mm Efecto antimicrobiano bajo: < 10 mm No efecto antimicrobiano : 0 mm

Variable 2: Pastas dentales remineralizantes

Dimensión	Escala de medición	Escala valorativa
Ingredientes activos de las pastas dentales	Nominal	-Pasta 1: Pasta dental con CPP-ACP -Pasta 2: Pasta dental con hidroxilapatita -Pasta 3: Pasta dental con 1.450 ppm de flúor

Definición operacional: Dentífricos a los cuales se les ha adicionado compuestos con la capacidad de neutralizar la acidez de la biopelícula, reducir la sensibilidad dental y fortalecer y remineralizar el esmalte dental. Son usadas en pacientes con alto riesgo de caries (5).

Variable 3: Tiempo

Definición operacional: Magnitud física que permite ordenar la secuencia de sucesos (32).

Dimensión	Escala de medición	Nivel y Rango
Tiempo de efecto antimicrobiano	Nominal	24 horas 48 horas

Anexo 3: Carta de solicitud de permiso para la recolección de datos

Lima, 11 de noviembre del 2020

Solicito: Carta de presentación para
recolectar datos (tesis de pregrado)

Dra.
Brenda Vergara Pinto
DIRECTORA
E.A.P de Odontología
Universidad Norbert Wiener

Presente.-

De mi mayor consideración:

Yo, Miriam Luz Lázaro Diego, estudiante de la Escuela Académico Profesional de Odontología de la Universidad Norbert Wiener, con código n°2013200044 solicito una carta de presentación dirigida al Lic. Miguel Pezet Coronado Tecnólogo Medico en el Laboratorio clínico PC –ABO SAC – MEDALAB de la ciudad de Lima, con la finalidad de acceder un estudio *in vitro* para recolectar datos de mi proyecto de tesis titulado “Efecto antimicrobiano de pastas dentales remineralizantes frente al *Streptococcus mutans* – estudio *in vitro*, lima 2020”y con ello obtener el título de Cirujano Dentista cuyo objetivo general es evaluar el efecto antimicrobiano de dos pastas dentales remineralizantes en comparación a una pasta con flúor frente a la cepa ATTCC 25175 de *Streptococcus mutans* mediante pruebas microbiológicas, Lima 2020.

El asesor de la respectiva investigación es la Dra. Esp. Céspedes Porras, Jacqueline.

Atentamente,



Miriam Luz Lázaro Diego
DNI 10072305
Estudiante de la E.A.P. de Odontología
Universidad Norbert Wiener

Anexo 4: Carta de presentación dirigida al laboratorio



Lima, 19 de noviembre de 2020

Carta N°235-027-11-2020-DFCS-UPNW

Lic. Miguel Pezet Coronado
Tecnólogo Médico
Laboratorio clínico PC – ABO SAC – MEDALAB
Lima

Presente.-

De mi consideración

Es grato dirigirme a Usted para expresarle mi cordial saludo y a la vez presentarle a la señorita Miriam Luz Lázaro Diego, con DNI N° 10072305, con código a2013200044, Bachiller de la EAP de Odontología de la Universidad Norbert Wiener, quien solicita acceder a un estudio *in vitro* con la finalidad de recolectar sus datos para desarrollar su proyecto de investigación titulado “EFECTO ANTIMICROBIANO DE PASTAS DENTALES REMINERALIZANTES FRENTE AL STREPTOCOCCUS MUTANS – ESTUDIO IN VITRO, LIMA 2020”, por lo que le agradeceré su gentil atención al presente.

Sin otro en particular, me despido.

Atentamente,

Enrique Deza Soria
Docente
Facultad de Ciencias de la Salud
Universidad Privada Norbert Wiener S.A.

Anexo 5: Solicitud y compra de la cepa bacteriana



COTIZACION GL - 20 / 045290

FECHA: Jueves, 08 de octubre de 2020
CLIENTE: LABORATORIO CLINICO PC-ABO S.A.C.
ATENCIÓN: LIC. MIRIAM LAZARO

REFERENCIA: CEPA DE REFERENCIA
Los Precios Incluyen I.G.V. (18%) de Ley

PRECIO: NUEVOS SOLES
ENTREGA: A 45 DIAS

VALIDEZ: 03 DIAS
PAGO: PAGO ADELANTADO

CODIGO	PRODUCTO	PRECIO UNITARIO S/.	CANT	PRECIO TOTAL S/.
H05666-A	KWIK-STIK Streptococcus mutans derived from ATCC® 25175™ Marca: Microbiologics Cod. Proveedor: 0266P Marca: Microbiologics, Procedencia: USA Descripción: Cepa S. mutans ATCC25175 Presentación: KWIK-STIK: Pack de 2 cepas liofilizadas no mayor al 3er. pasaje + Certificado de Análisis. Producto sujeto a disponibilidad del proveedor y a la política de fechas de expira de Microbiologics. Fecha de expira: no menor a 6 meses	404.57	1	404.57
TOTAL				404.57

BLGA. FLAVIA V. CASTRO BASURTO
Asesor Comercial
fcastro@genlabperu.com

Realice el pago con cheque a nombre de GEN LAB DEL PERU S.A.C., en caso de Depósito Bancario, realice el abono en nuestra Cuenta Bancaria:
Banco Continental - Soles 0011-0139-0100024183-34 ó Banco BCP - Soles 193-1440607-0-84
CCI Continental - Soles 011-139-000100024183-34 ó CCI Banco BCP - Soles 002-193-001440607084-18

Jr. Capac Yupanqui N° 2434 - (Alt. Cdra. 8 Av. 2 de Mayo) - Lince - Lima 14 PERU
Telf.: 2037500 / 2037504 TeleFax: (51-1) 2037501
e-mail: ventas@genlabperu.com

Anexo 6: Equipos de laboratorio utilizados



Autoclave



Baño María



Balanza



Incubadora



Centrífuga

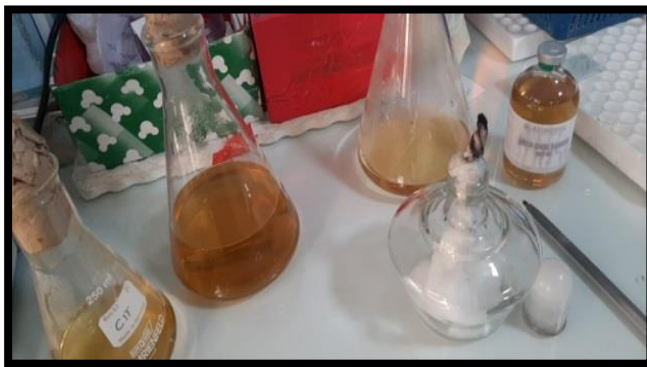
Anexo 7: Preparación del agar



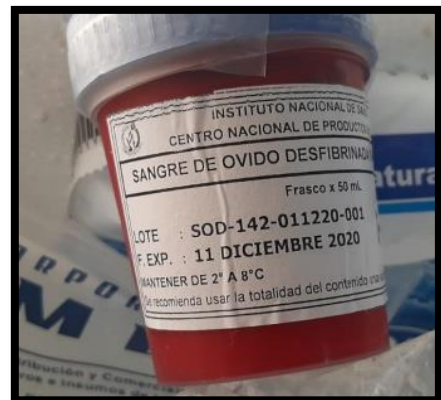
Agar base



Agar base en autoclave



Agar base en matraz



Sangre de cordero



Agar sangre de cordero



Cajas de Petri en incubadora

Ane:

1



Cepa en baño María

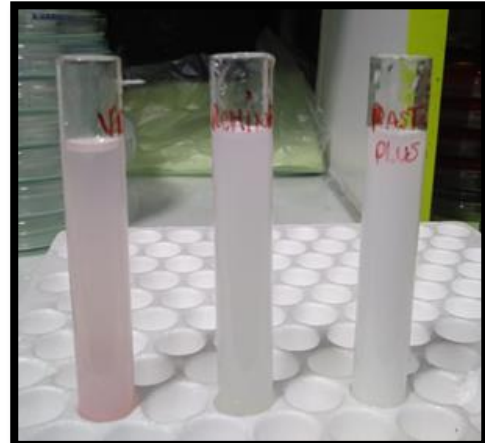
Anexo 9: Preparación del inóculo



Anexo 10: Preparación de sobrenadantes de las pastas dentales



Pesaje de pastas dentales

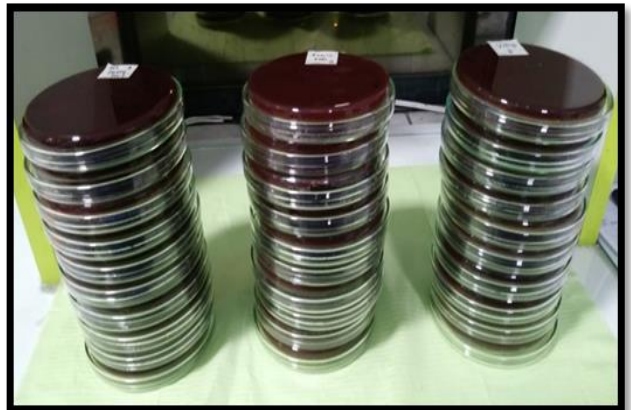
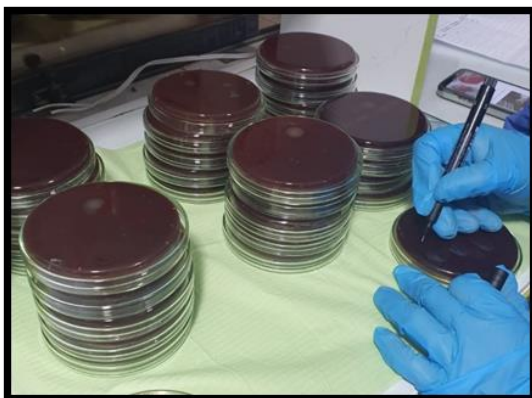
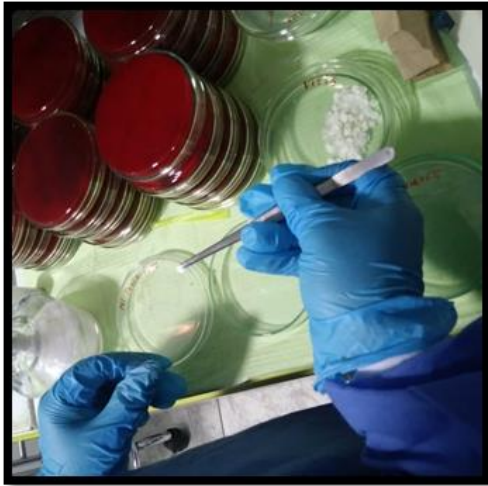
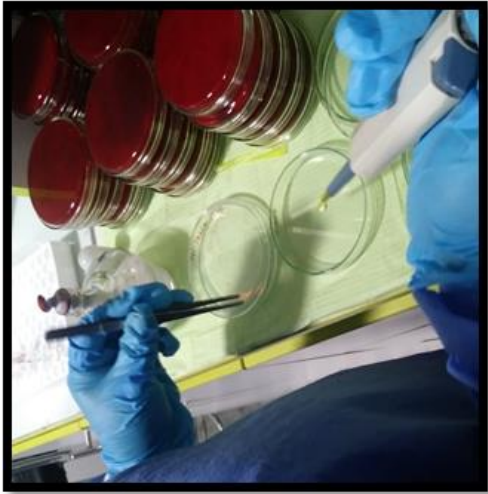


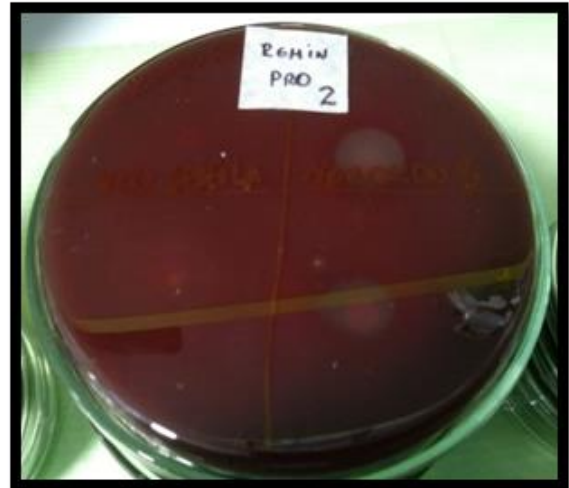
Mezcla de pastas con agua destilada



Anexo 11: Colocación de los discos en las cajas de Petri

Centrifugado y obtención de sobrenadantes





Cajas de Petri preparadas y debidamente rotuladas

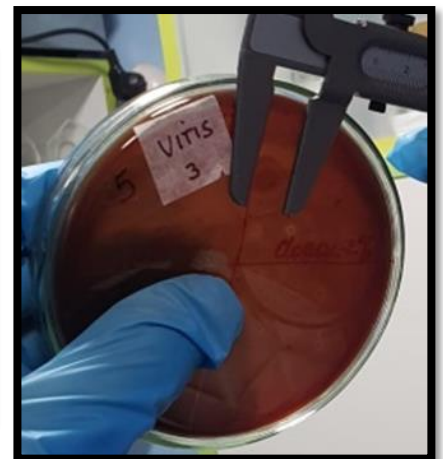
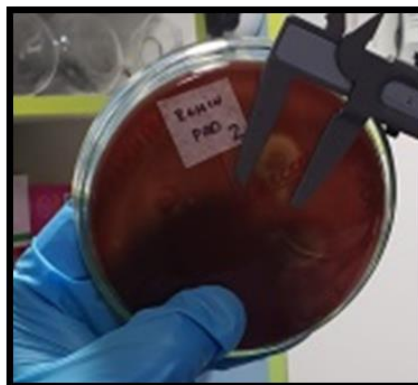


Colocación de las cajas en la incubadora

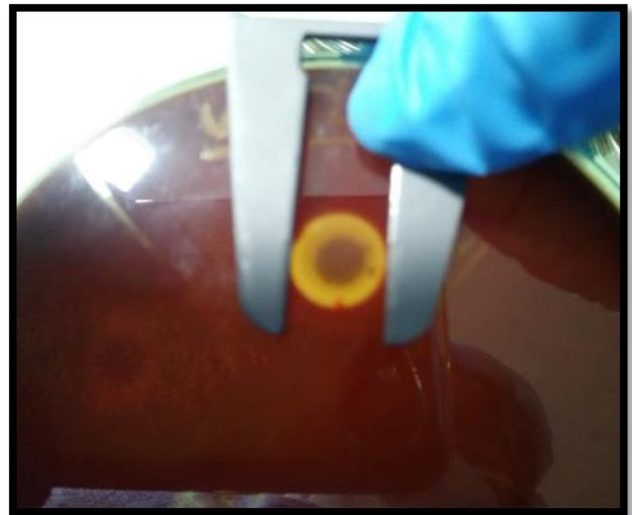
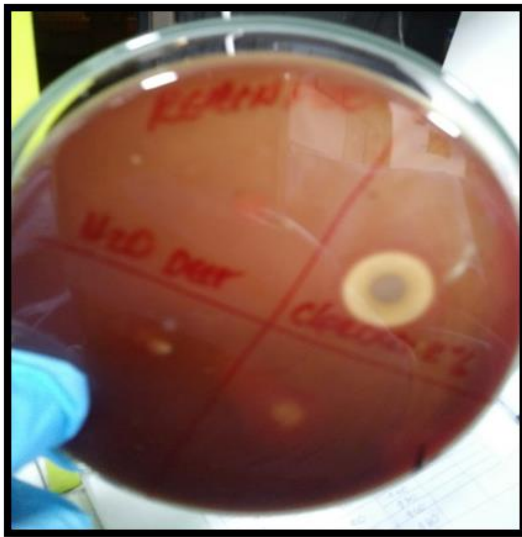
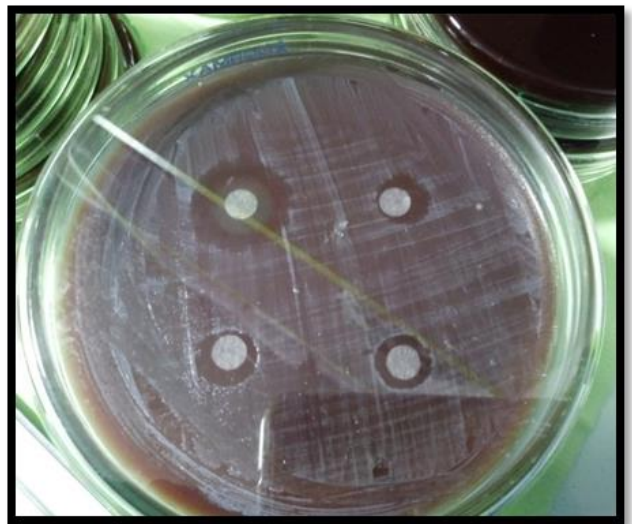
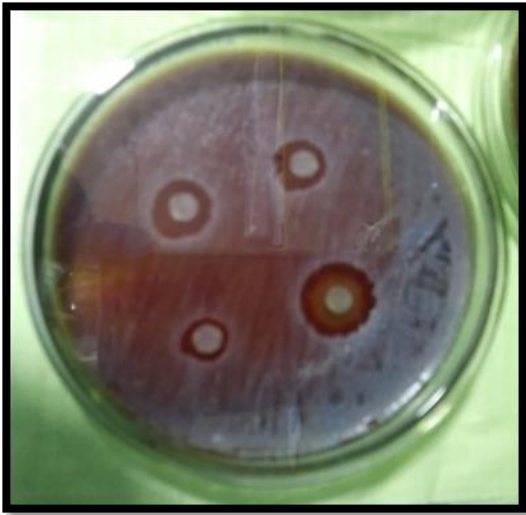
Anexo 12: Pruebas del efecto antimicrobiano



Calibrador de Vernier



Medición de los halos de inhibición



Halos de inhibición observados

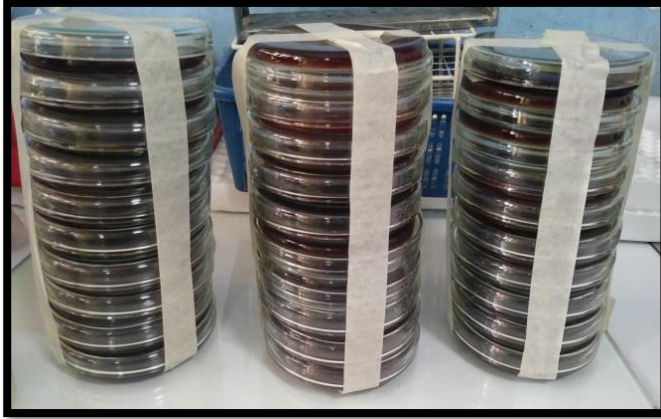
Anexo 13: Ficha de recolección de datos

Efecto antimicrobiano de pastas dentales remineralizantes frente al *Streptococcus mutans* – estudio in vitro, Lima 2020

Caja de Petri.	Discos	Control Positivo Clorhexidina 2% Halo en mm		Control Negativo Agua destilada Halo en mm		Pasta 1 MI Paste Plus® Halo en mm		Pasta 2 Remin Pro® VOCO Halo en mm		Pasta 3 VITIS Junior® DENTAID Halo en mm	
		24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
1	1										
	2										
2	3										
	4										
3	5										
	6										
4	7										
	8										
5	9										
	10										
6	11										
	12										
7	13										
	14										
8	15										
	16										
9	17										
	18										
10	19										
	20										

Anexo 14: Bioseguridad y eliminación de desechos

Protocolo de Bioseguridad y de
eliminación de los Medios de Cultivo y Material contaminante



Anexo 15: Constancia de servicio de recojo de residuos sólidos del laboratorio

GOLDEN
CONSULTING

CONSTANCIA

La Empresa Operadora de Residuos Sólidos – EO-RS, Golden Consulting S.A.C. hace constar que desarrolla el servicio de recojo y transporte de residuos No Municipales del establecimiento:

“MEDALAB”
Domingo Sarmiento, N° 121 2do piso, - Puente Piedra - Lima
Representado por LABORATORIO CLINICO PC-ABO S.A.C.
con RUC 20517021823

Como Generador de Residuos Sólidos del ámbito No Municipal, según detalle:

N° MANIFIESTO	PERIODO	TIPO DE RESIDUO	CANTIDAD (TM)	EO-RS RECOJO Y TRANSPORTE	EP-RS DISPOSICIÓN FINAL
14131	OCTUBRE - 2020	BIOCONTAMINADOS	0.001	GOLDEN CONSULTING S.A.C.	INNOVA* AMBIENTAL S.A.

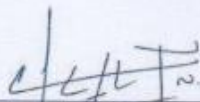
**La disposición final de los residuos se realiza en el Relleno Sanitario El Zapallal.*

Asimismo, detallamos nuestros números de registros:

RAZÓN SOCIAL: GOLDEN CONSULTING SAC
N° DE REGISTRO (MINAM): EO-RS-0046-19-150110
AUTORIZACIÓN MUNICIPAL: N° 077-2020-MML/GSCGA-SGA
APROBACIÓN DE RUTA (MML): N° 820-2019-MML/GTU-SRT
APROBACIÓN DE RUTA (MTC): N° 5706-2018-MTC/15
APROBACIÓN DE RUTA (MPC): N° 001456-2019-MPC/GGTU

El servicio y la entrega del Manifiesto se realizaron con el fin de dar cumplimiento a los dispositivos de la normativa vigente, comprendidos dentro del Decreto Legislativo N° 1278, Ley de Gestión Integral de Residuos Sólidos y su reglamento Decreto Supremo N° 014-2017-MINAM.

Lima, 3 de Noviembre de 2020


Nils Freddy Canales Hinojosa
Gerente General
Golden Consulting S.A.C.

Anexo 16: Carta de constancia de recolección de datos



Anexo 17: Formatos de validación del instrumento



VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO A TRAVÉS DE JUICIO DE EXPERTOS CARTA DE PRESENTACIÓN

Lima, XX de noviembre de 2020

Dr. XXXXXXX

Presente.-

Asunto: VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO A TRAVÉS DE JUICIO DE EXPERTO.

Es muy grato comunicarme con usted para expresarle mi saludo y así mismo, hacer de su conocimiento que siendo bachiller de la EAP de Odontología de la Universidad Norbert Wiener, me encuentro desarrollando mi tesis y requiero validar el instrumento que he diseñado para recolectar los datos de mi investigación, con la cual optaré por el título de Cirujano Dentista.

El título de mi proyecto de investigación es: "Efecto antimicrobiano de pastas dentales remineralizantes frente al Streptococcus mutans – estudio in vitro, Lima 2020" y siendo imprescindible contar con la aprobación de docentes especializados para aplicar el instrumento en mención, he considerado conveniente recurrir a Usted, ante su connotada experiencia en temas de la línea de investigación.

El expediente de juicio de expertos que le hacemos llegar contiene:

- Carta de presentación.
- Matriz de consistencia
- Formato de validación por juicio de expertos

Expresándole los sentimientos de respeto y consideración me despido de usted, no sin antes agradecerle por la atención que dispense a la presente.

Atentamente,

Miriam Luz Lázaro Diego
DNI 10072305

Resultados de la validación de los jueces



VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

I. DATOS GENERALES

- 1.1 Apellidos y Nombres del Experto: Bamonde Segura Leyla
 1.2 Cargo e Institución donde labora: Docente- Universidad Norbert Wiener
 1.3 Nombre del Instrumento motivo de evaluación: Ficha de recolección de datos
 1.4 Autor del Instrumento: Miriam Luz Lázaro Diego
 1.5 Título de la Investigación: "Efecto antimicrobiano de pastas dentales remineralizantes frente al *Streptococcus mutans* – estudio *in vitro*, lima 2020"

II. ASPECTO DE LA VALIDACIÓN

	CRITERIOS	Deficiente 1	Baja 2	Regular 3	Buena 4	Muy buena 5
1. CLARIDAD	Está formulado con lenguaje apropiado.					x
2. OBJETIVIDAD	Está expresado en conductas observables.					x
3. ACTUALIDAD	Adecuado al avance de la ciencia y tecnología				x	
4. ORGANIZACION	Existe una organización lógica.					x
5. SUFICIENCIA	Comprende los aspectos de cantidad y calidad en sus ítems.					x
6. INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos del desarrollo de capacidades cognoscitivas.					x
7. CONSISTENCIA	Alineado a los objetivos de la investigación y metodología.					x
8. COHERENCIA	Entre los índices, indicadores y las dimensiones.					x
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde al propósito del estudio					x
10. PERTINENCIA	El instrumento es adecuado al tipo de Investigación.					x
CONTEO TOTAL DE MARCAS (realice el conteo en cada una de las categorías de la escala)					1	9
		A	B	C	D	E

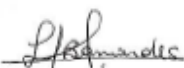
$$\text{Coeficiente de Validez} = \frac{(1 \times A) + (2 \times B) + (3 \times C) + (4 \times D) + (5 \times E)}{50} = \frac{49}{50} = 0,98$$

III. CALIFICACIÓN GLOBAL (Ubique el coeficiente de validez obtenido en el intervalo respectivo y marque con un aspa en el círculo asociado)

Categoría	Intervalo
Desaprobado	[0,00 – 0,60]
Observado	<0,60 – 0,70]
Aprobado x	<0,70 – 1,00]

IV. OPINIÓN DE APLICABILIDAD: es aplicable

Lima, 1 de diciembre del 2020


 Leyla Bamonde Segura
 Cirujano Dentista
 COP: 12733

VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

I. DATOS GENERALES

- 1.1 Apellidos y Nombres del Experto: Antonieta Mercedes Castro Pérez Vargas.
 1.2 Cargo e Institución donde labora: Docente, Universidad Nacional Federico Villarreal
 1.3 Nombre del Instrumento motivo de evaluación: Ficha de recolección de datos
 1.4 Autor del Instrumento: Elaboración propia
 1.5 Título de la Investigación: "Efecto antimicrobiano de pastas dentales remineralizantes frente al *Streptococcus mutans* – estudio *in vitro*, lima 2020"

II. ASPECTO DE LA VALIDACIÓN

	CRITERIOS	Deficiente 1	Baja 2	Regular 3	Buena 4	Muy buena 5
1. CLARIDAD	Está formulado con lenguaje apropiado.				X	
2. OBJETIVIDAD	Está expresado en conductas observables.					X
3. ACTUALIDAD	Adecuado al avance de la ciencia y tecnología					X
4. ORGANIZACION	Existe una organización lógica.				X	
5. SUFICIENCIA	Comprende los aspectos de cantidad y calidad en sus ítems.					X
6. INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos del desarrollo de capacidades cognoscitivas.					X
7. CONSISTENCIA	Alineado a los objetivos de la investigación y metodología.					X
8. COHERENCIA	Entre los índices, indicadores y las dimensiones.					X
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde al propósito del estudio					X
10. PERTINENCIA	El instrumento es adecuado al tipo de Investigación.					X
CONTEO TOTAL DE MARCAS (realice el conteo en cada una de las categorías de la escala)					2	8
		A	B	C	D	E

$$\text{Coeficiente de Validez} = \frac{(1 \times A) + (2 \times B) + (3 \times C) + (4 \times D) + (5 \times E)}{50} = \frac{48}{50} = 0,96$$

III. CALIFICACIÓN GLOBAL (Ubique el coeficiente de validez obtenido en el intervalo respectivo y marque con un aspa en el círculo asociado)

Categoría	Intervalo
Desaprobado <input type="radio"/>	[0,00 – 0,60]
Observado <input type="radio"/>	<0,60 – 0,70]
Aprobado <input checked="" type="radio"/>	<0,70 – 1,00]

IV. OPINIÓN DE APLICABILIDAD: Aprobado

Lima, 28 de noviembre del 2020


 Mg. C.D. Antonieta Castro Pérez V.
 E.S.P. EN ODONTOPEDIATRÍA
 C.O.P. 4612 - R.N.E. 377

VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

I. DATOS GENERALES

1.1 Apellidos y Nombres del Experto: Echeverri Junca, Luz Helena

1.2 Cargo e Institución donde labora: Docente- Universidad Alas Peruanas

1.3 Nombre del Instrumento motivo de evaluación: Ficha de recolección de datos

1.4 Autor del Instrumento: Miriam Luz Lázaro Diego

1.5 Título de la Investigación: "Efecto antimicrobiano de pastas dentales remineralizantes frente al Streptococcus mutans – estudio in vitro, lima 2020"

II. ASPECTO DE LA VALIDACIÓN

	CRITERIOS	Deficiente 1	Baja 2	Regular 3	Buena 4	Muy buena 5
1. CLARIDAD	Está formulado con lenguaje apropiado.					X
2. OBJETIVIDAD	Está expresado en conductas observables.					X
3. ACTUALIDAD	Adecuado al avance de la ciencia y tecnología				X	
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.					X
5. SUFICIENCIA	Comprende los aspectos de cantidad y calidad en sus ítems.				X	
6. INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos del desarrollo de capacidades cognitivas.					X
7. CONSISTENCIA	Alineado a los objetivos de la investigación y metodología.					X
8. COHERENCIA	Entre los índices, indicadores y las dimensiones.					X
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde al propósito del estudio					X
10. PERTINENCIA	El instrumento es adecuado al tipo de Investigación.					X
CONTEO TOTAL DE MARCAS (realice el conteo en cada una de las categorías de la escala)					2	8
		A	B	C	D	E

$$\text{Coeficiente de Validez} = \frac{(1xA) + (2xB) + (3xC) + (4xD) + (5xE)}{50} = \frac{48}{50} = 0,96$$

III. CALIFICACIÓN GLOBAL (Ubique el coeficiente de validez obtenido en el intervalo respectivo y marque con un aspa en el círculo asociado)

Categoría	Intervalo
Desaprobado <input type="radio"/>	[0,00 – 0,60]
Observado <input type="radio"/>	<0,60 – 0,70]
Aprobado <input checked="" type="radio"/>	<0,70 – 1,00]

IV. OPINIÓN DE APLICABILIDAD:

Lima, 2 de diciembre del 2020


Mg. Esp. Luz Helena Echeverri J.
CIRUJANO DENTISTA
ESP. ODONTOPEDIATRIA
COP: 16830

VALIDACIÓN DE INSTRUMENTO

I. DATOS GENERALES

1.1 Apellidos y Nombres del Experto: Jessica Hamamoto Ichikawa

1.2 Cargo e Institución donde labora: Docente- Universidad Norbert Wiener

1.3 Nombre del Instrumento motivo de evaluación: Ficha de recolección de datos

1.4 Autor del Instrumento: Miriam Luz Lázaro Diego

1.5 Título de la Investigación: "Efecto antimicrobiano de pastas dentales remineralizantes frente al *Streptococcus mutans* – estudio in vitro, lima 2020"

II. ASPECTO DE LA VALIDACIÓN

	CRITERIOS	Deficiente 1	Baja 2	Regular 3	Buena 4	Muy buena 5
1. CLARIDAD	Está formulado con lenguaje apropiado.				X	
2. OBJETIVIDAD	Está expresado en conductas observables.				X	
3. ACTUALIDAD	Adecuado al avance de la ciencia y tecnología				X	
4. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.				X	
5. SUFICIENCIA	Comprende los aspectos de cantidad y calidad en sus ítems.				X	
6. INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos del desarrollo de capacidades cognitivas.				X	
7. CONSISTENCIA	Alineado a los objetivos de la investigación y metodología.				X	
8. COHERENCIA	Entre los índices, indicadores y las dimensiones.				X	
9. METODOLOGÍA	La estrategia responde al propósito del estudio				X	
10. PERTINENCIA	El instrumento es adecuado al tipo de Investigación.				X	
CONTEO TOTAL DE MARCAS (realice el conteo en cada una de las categorías de la escala)					10	
		A	B	C	D	E

$$\text{Coeficiente de Validez} = \frac{(1 \times A) + (2 \times B) + (3 \times C) + (4 \times D) + (5 \times E)}{50} = \frac{40}{50} = 0,80$$

III. CALIFICACIÓN GLOBAL (Ubique el coeficiente de validez obtenido en el intervalo respectivo y marque con un aspa en el círculo asociado)

Categoría	Intervalo
Desaprobado	[0,00 – 0,60]
Observado	<0,60 – 0,70]
Aprobado	<0,70 – 1,00]

IV. OPINIÓN DE APLICABILIDAD: Aplicable

Lima, 3 de diciembre del 2020



.....
Firma y sello